LESLIE AVILA DO BRASIL ALMEIDA

AVALIAÇÃO DE TRATAMENTO HOMEOPÁTICO COM
Phytolacca decandra 30CH DURANTE A
LACTAÇÃO DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA

**São Paulo
2009**

LESLIE AVILA DO BRASIL ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DE TRATAMENTO HOMEOPÁTICO COM *Phytolacca decandra* 30CH
DURANTE A LACTAÇÃO DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Nilson Roberti Benites

São Paulo
2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2128
FMVZ

Almeida, Leslie Avila do Brasil

Avaliação de tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH durante a lactação de vacas com mastite subclínica / Leslie Avila do Brasil Almeida. – São Paulo : L. A. B. Almeida, 2009.
94 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Nilson Roberti Benites.

1. Homeopatia veterinária. 2. Mastite bovina subclínica. 3. PMN. 4. CMT. 5. CCS. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação do tratamento homeopático de vacas com mastite subclínica utilizando métodos indicadores da saúde da glândula mamária", protocolado sob o nº1374/2008, utilizando 30 (trinta) vacas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Nilson Roberti Benites, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado na reunião do dia 18 de junho de 2008.

We certify that the Research "Evaluation of homeopathic treatment of dairy cows with subclinical mastitis applying indicator methods of mammary gland health", utilizing 30 (thirty) cows, protocol number 1374/2008, under the responsibility Prof. Dr. Nilson Roberti Benites, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 06/18/08.

São Paulo, 19 de junho de 2008

Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: ALMEIDA, Leslie Avila do Brasil

Título: Avaliação de tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH
durante a lactação de vacas com mastite subclínica

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico o fruto deste trabalho a todos os seres presentes na teia de meu destino, que fazem de minha vida uma viagem mágica e sem os quais eu teria uma jornada solitária e sem sentido.

Reverencio e honro meu filho Ossamu, a quem o Grande Espírito me confiou e com quem amorosamente compartilho a jornada e os aprendizados da vida.

Reverencio e honro meus pais, Feliciano e Norma, a quem o Grande Espírito confiou para que me criassem com amor, coragem, sabedoria, ética e compaixão.

Reverencio e honro meu adorado e amado Milton Luiz, estrela que trouxe um novo sentido, luz, colorido e alegria ao meu viver.

Reverencio e honro minhas irmãs, Julie e Susie, companheiras oriundas do mesmo amor e cúmplices de toda uma vida.

Reverencio e honro todos meus familiares e amigos, com quem muito já foi compartilhado e ainda o será.

Reverencio e honro a Natureza e aos animais em especial, por sua profunda beleza, magnificência e generosidade.

Reverencio e honro todos momentos difíceis que tive no caminho porque eles foram grandes mestres.

Reverencio e honro todos os meus antepassados porque graças a eles eu sou.

Reverencio e honro todos os meus descendentes porque neles continuarei existindo.

Meu nome é Leslie, e falei! Ahow!

Mitakuye Oyassim! In Lak'ech!

Por todas as minhas relações! Eu sou o outro você!

AGRADECIMENTOS

Ao olhar para trás, parece inacreditável que havia tantos obstáculos no caminho...

De onde vem essa força que nos faz seguir sempre em frente, mesmo quando tudo parece difícil ou mesmo humanamente impossível?

Vem exclusivamente de dentro de nós! De nosso coração, que é a morada da valentia, da determinação, da esperança, da coragem e do amor.

Mesmo conscientes disto, às vezes precisamos que os outros mostrem o que existe em nós e que não conseguimos perceber. Minha gratidão a todos que de uma maneira ou de outra me ajudaram a levantar a cabeça, abrir os olhos e enxergar.

Agradeço inicialmente ao meu orientador e responsável pelo Laboratório de Bacteriologia e Micologia do VPS/FMVZ/USP, Prof. Dr. Nilson Roberti Benites, pelos anos de convívio, dos ensinamentos profissionais e pessoais que serão muito valiosos para o restante de minha vida.

Minha enorme gratidão à Prof^a Dr^a Alice Maria Melville Paiva Della Libera que sempre teve uma palavra amorosa de incentivo, conforto e amizade, especialmente nos momentos em que parecia não haver saída.

Agradeço ao Dr. Luiz Francisco Zafalon pela oportunidade de desenvolver o trabalho de campo nas instalações da Embrapa Pecuária Sudeste, situada no município de São Carlos/SP.

Jamais poderia esquecer minha profunda gratidão e carinho aos funcionários da Embrapa Pecuária Sudeste: Benedito Aparecido da Silva (Cidinho), José Cosme Machado, Aurélio Chagas Afonso, Leni Rosendo Pinto e Enilva Barbosa Machado, pela ajuda plena, incansável e desinteressada, sem os quais não teria sido possível a execução do trabalho de campo.

Sou profunda e eternamente grata a minha querida e amada amiga Débora Tieko Parlato Sakiyama, sem a qual certamente tudo teria sido muito árduo e a quem levarei em meu coração para sempre.

Aos meus amigos da pós-graduação, em particular a Tatiana Reis do Rosário e Carlos Augusto Scacchetti Almeida, que estiveram comigo nos piores e principalmente nos melhores momentos desta jornada que chega ao fim.

Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – VPS: Danival Lopes Moreira, Ana Virgínia P. Almeida Prado, Maria Cristina Paick e Tânia Delonero, sempre atentos e gentis a todas minhas solicitações e necessidades acadêmicas.

Aos demais professores, alunos, colegas e funcionários do VPS e demais departamentos, que não cito nominalmente mas com quem tive felizes momentos de convívio, aprendizado e enriquecedoras trocas de experiências.

Às funcionárias da Biblioteca Virginie Buff D'Ápice - FMVZ/USP, especialmente Elza Maria Faquim a quem, com muita gratidão, devo a revisão deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida durante o transcurso da pós-graduação.

Aos meus queridos amigos fora do meio acadêmico e que mesmo à distância, foram igualmente fundamentais na construção e sustentação desta etapa de minha jornada.

Honro e agradeço muito ao meu bem-amado amigo, companheiro de estrada e mestre Gabriel Martinez, que com rara sabedoria e sua *Suave Medicina* possibilitou um grande milagre em minha vida.

Finalmente, sou grata ao Grande Espírito que habita e permeia a tudo e a todos, e sem o qual nada seria possível.

Obrigada! Para sempre obrigada!

Gracias a la Vida, que me ha dado tanto...

GUERREIRO

“Todo guerreiro já ficou com medo de entrar em combate.

Todo guerreiro já traiu e mentiu no passado.

Todo guerreiro já perdeu a fé no futuro.

Todo guerreiro já trilhou um caminho que não era o dele.

Todo guerreiro já sofreu por coisas sem importância.

Todo guerreiro já falhou em suas obrigações.

Todo guerreiro já achou que não era um guerreiro.

Todo guerreiro já disse sim,

quando seu coração pedia que dissesse não.

Todo guerreiro já disse não,

quando seu coração pedia que dissesse sim.

Todo guerreiro já feriu profundamente alguém que amava.

Todo guerreiro sabe que a vida não é feita somente de vitórias.

Muitas vezes o guerreiro precisa passar pelas derrotas

para aprender alguma lição e fortacer-se,

sem contudo deixar-se abater pela derrota .

Por isso é que é um guerreiro.

Porque passou por esses desafios

e não perdeu a esperança de se tornar melhor do que era.”

Paulo Coelho

NOSSOS MEDOS

Nosso medo mais profundo
não é o de sermos inadequados.
Nosso medo mais profundo
é que somos poderosos
além de qualquer medida.

É a nossa Luz, não as nossas trevas,
o que mais nos apavora.

Nós nos perguntamos:
“Quem sou eu para ser Brilhante, Alegre,
Maravilhoso, Talentoso e Fabuloso?”

Na realidade,
quem é você para não ser?

Você é filho do Universo.
Você se fazer de pequeno
não ajuda o mundo.

Não há iluminação em se encolher,
para que os outros não se sintam inseguros
quando estão perto de você.

Nascemos para manifestar
a glória e a abundância do Universo
que está dentro de nós.

Não está apenas em um de nós:
Está em todos Nós!

E conforme deixamos nossa própria Luz brilhar,
inconscientemente damos às outras pessoas,
permissão para fazer o mesmo.

E conforme nos libertamos dos nossos medos,
nossa presença, automaticamente,
liberta os outros.

Nelson Mandela

Ó SENHOR DA VIDA!

Ó, Senhor da Vida, abençoe aos desvalidos de todos os lugares e condições.
Seque as lágrimas dos que padecem de dores e infortúnios diversos.
Acalente as crianças famintas de pão e de amor.
Ilumine os que estão nas trevas; ilumine a razão dos homens...

Ó, Pai Amantíssimo, verte do Alto as bênçãos sobre a humanidade tão triste...
Envie os seus emissários celestes com os cântaros cheios de cura.
Que eles tragam a luz das estrelas e as inspirações benéficas.
Que eles cantem lindas canções, no idioma do Amor Universal.

Ó, Criador de todos os seres, nós somos seus filhos da Terra
e irmãos de todas as coisas.
Respiramos o sopro vital do Universo, que é o Seu Sopro Eterno.
Às vezes, nos esquecemos de quem somos verdadeiramente.
E, por isso, também nos esquecemos do Senhor...
Esquecemos do respeito à Vida e acabamos por desrespeitar a nós mesmos.

Ó, Grande Doador de Luz, não nos deixe nas trevas da ignorância e do medo.
A humanidade padece de falta de amor e de espiritualidade.
Ajude nossa jornada, iluminando nossos corações.
Envie os anjos da música para embalar os nossos sonhos.
Guie nossos passos, para não cairmos em tentação e erros descabidos.
Ilumine nossa razão; toque em nossos corações... Bem de mansinho.

Ó, Grande Mentor de todos nós, não nos deixe esquecer quem somos verdadeiramente.
Que possamos agradecer o dom da vida, todos os dias.
Que nossas risadas sejam curativas; que nossas vidas sejam justas.
Que nossas lágrimas sejam de admiração, não de tristeza.
Não nos deixe esquecer: de nós mesmos, da Vida, e do Senhor.

Ó, Grande Amor que ama sem nome,
derrame sobre todos nós as luzes secretas da cura e do equilíbrio.
Que Sua sabedoria preencha nossas consciências, para que haja compreensão...
Não nos deixe esquecer de sermos gratos, por tudo.

Ó, Grande Espírito, Fonte da Vida,
Ilumine nossa razão, para não sermos traidores de nossos próprios pensamentos.
Não permita que neguemos os nossos sentimentos verdadeiros em nome do orgulho.
Não permita que nossos intelectos esmaguem nossos sonhos e nossas alegrias.
Não deixe que nossas emoções mal resolvidas destruam nosso equilíbrio.
Não nos deixe esquecer as coisas do espírito, que são nossa essência real.

Ó, Pai Altíssimo, que todas as preces fluam de nossos corações,
com verdade e admiração.
Que todos sejam abençoados pelo Seu Amor Incondicional...
Não nos deixe esquecer: de nós mesmos, da Vida, e do Senhor.

Que assim seja! Paz e Luz!

Wagner Borges

RESUMO

ALMEIDA, L. A. B. **Avaliação de tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH durante a lactação de vacas com mastite subclínica.** [Evaluation of homeopathic treatment with *Phytolacca decandra* 30CH during the lactation of cows with subclinical mastitis]. 2009. 94 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

O elevado custo dos tratamentos tradicionais da mastite bovina, associado à redução de produção e inviabilidade de tratamento das mastites subclínicas durante a lactação, bem como a exigência cada vez mais rigorosa da ausência de resíduos de antimicrobianos por parte de instituições nacionais e internacionais, impulsiona o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas que visem minimizar o impacto das medidas tradicionais de tratamento. A homeopatia surge como importante alternativa, sendo aceita nacional e internacionalmente. O objetivo do trabalho foi avaliar o tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH durante a lactação de vacas com mastite subclínica, utilizando parâmetros de qualidade do leite como Califórnia Mastitis Test (CMT), contagem de células somáticas (CCS) totais, porcentagens de polimorfonucleares (PMN) e de mononucleares (MN), teores de proteína, lactose, gordura, sólidos totais (ST) e extrato seco desengordurado (ESD), além da mensuração da produção leiteira. Foram selecionadas 26 vacas, CMT 2+ e 3+ sem sinais de mastite clínica, entre o terceiro e sexto mês de lactação, pluríparas e divididas em dois grupos, um com tratamentos medicamentosos mensais e outro com tratamentos quinzenais. Mensalmente foram colhidas duas amostras de leite de cada glândula mamária (teto) que apresentava mastite subclínica. Uma das amostras foi utilizada para CCS e análise dos componentes do leite, e a outra para identificação microbiológica. Nos grupos tratados, foi administrado o medicamento homeopático *Phytolacca decandra* 30CH diluído em água e aspergido nas mucosas oro-nasais e vaginais, enquanto que nos grupos denominados controle foi administrado placebo da mesma maneira. A pesagem da produção láctea de ambos os grupos foi realizada quinzenalmente até o final do experimento. Verificou-se então que não houve diferença significativa entre a produção láctea, CCS e a presença de microrganismos na secreção láctea das

glândulas quando comparadas antes e depois do tratamento homeopático, dentro de cada grupo, bem como quando comparados os grupos entre si. As medianas de CMT e porcentagens de PMN foram compatíveis com infecções mamárias agudas, embora os animais tenham sido diagnosticados como portadores de mastites crônicas e em nenhum momento desenvolveram sinais clínicos.

Palavras-chave: Homeopatia veterinária. Mastite bovina subclínica. PMN. CMT. CCS.

ABSTRACT

ALMEIDA, L. A. B. **Evaluation of homeopathic treatment with *Phytolacca decandra* 30CH during the lactation of cows with subclinical mastitis.** [Avaliação de tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH durante a lactação de vacas com mastite subclínica]. 2009. 94 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

The high cost of traditional treatments of bovine mastitis, with the reduction of production and impracticable treatment of subclinical mastitis during lactation, as well as the requirement of an increased demand for absence of antimicrobial agents residues by national and international institutions, drives the development of new therapeutic alternatives in order to minimizing the impact of traditional treatment measures. The homeopathy appears as an important alternative, accepted domestically and internationally. The objective of this work was to evaluate homeopathic treatment with *Phytolacca decandra* 30CH during the lactation of cows with subclinical mastitis, using some milk quality parameters as California Mastitis Test (CMT), total somatic cell count (SCC), percentages of polymorphonuclear (PMN) and mononuclear (MN) cells, levels of protein, lactose, fat, total solids and dry defatted matter, in addition to the measurement of milk production. Twenty-six cows were selected with CMT 2 + and 3 + without any signs of clinical mastitis, between the third and sixth month of lactation, pluriparous and they were divided into two groups, with monthly or biweekly drug treatments. Monthly were collected two milk samples from each mammary gland (teat) that presented subclinical mastitis. One of the samples was used for analysis of SCC and milk components, and the other one for microbiological identification. In the treated groups, was given the homeopathic medicine *Phytolacca decandra* 30CH diluted in water and sprayed in the oral-nasal and vaginal mucosa, while to the control group was given placebo following the same method. The weighing of the milk production for both groups was performed fortnightly until the end of the experiment. There was no significant difference between milk production, SCC and the presence of microorganisms in milk gland secretion compared before and after homeopathic treatment, within each group as

well as comparing the groups together. The medians of CMT and percentages of PMN were compatible with acute mammary infection, in spite of they have been diagnosed as carriers of chronic mastitis, and at any time no clinical signs have been developed.

Key words: Veterinary homeopathy. Subclinical bovine mastitis. PMN. CMT. SCC.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVO	22
3	REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1	QUALIDADE DO LEITE E SAÚDE PÚBLICA	25
3.1.1	Parâmetros de Qualidade do Leite	25
3.1.2	Leite e Saúde Pública	26
3.2	MASTITE BOVINA	27
3.2.1	Mastite Clínica	27
3.2.2	Mastite Subclínica	28
3.2.2.1	Métodos de Diagnóstico	28
3.2.2.1.1	<i>Contagem de Células Somáticas (CCS)</i>	28
3.2.2.1.1.1	<i>California Mastitis Test (CMT)</i>	31
3.2.2.1.1.2	<i>CCS Eletrônica</i>	32
3.2.2.1.1.3	<i>CCS Óptica</i>	33
3.2.2.2	Principais Microrganismos Isolados	34
3.2.2.3	Tratamentos Convencionais	35
3.3	HOMEOPATIA	36
3.3.1	Aspectos Gerais	36
3.3.2	Homeopatia nas Mastites Bovinas	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.1	ETAPA I	43
4.2	ETAPA II	43

4.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	44
4.4	PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS	45
4.4.1	Exame Físico e Prova de Tamis	45
4.4.2	California Mastitis Test (CMT)	45
4.4.3	Contagem de Células Somáticas (CCS)	46
4.4.4	Composição do Leite	46
4.4.5	Exame Microbiológico	47
4.4.6	Mensuração da Produção Leiteira	47
4.5	ESCOLHA DO MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO	47
4.5.1	Repertorização	48
4.5.2	Matéria Médica	48
4.5.3	Tratamento Homeopático	49
4.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	50
5	RESULTADOS	51
5.1	ETAPA I.....	52
5.1.1	Contagem de Células Somáticas (CCS)	52
5.1.2	Composição do Leite e Produtividade Leiteira	53
5 1.2.1	Extrato Seco Desengordurado (ESD)	53
5 1.2.2	Gordura	54
5 1.2.3	Lactose.....	55
5 1.2.4	Proteína.....	56
5 1.2.5	Sólidos Totais (ST).....	57
5 1.2.6	Produtividade Leiteira.....	58
5.1.3	Avaliação Microbiológica	59
5.2	ETAPA II.....	62

5.2.1	Contagem de Células Somáticas (CCS)	62
5.2.2	Composição do Leite e Produtividade Leiteira	63
5 2.2.1	Extrato Seco Desengordurado (ESD)	63
5 2.2.2	Gordura	64
5 2.2.3	Lactose	65
5 2.2.4	Proteína.....	66
5 2.2.5	Sólidos Totais (ST).....	67
5 2.2.6	Produtividade Leiteira.....	68
5.2.3	Avaliação Microbiológica	69
6	DISCUSSÃO	71
7	CONCLUSÃO	81
	REFERÊNCIAS	83

1 INTRODUÇÃO

O elevado custo dos tratamentos convencionais da mastite bovina, associado à redução de produção e descarte de leite, bem como a exigência cada vez mais rigorosa da ausência de resíduos de antimicrobianos e de outras drogas por parte de instituições nacionais e internacionais e até mesmo dos consumidores mais conscientes, promove e estimula a busca de novas alternativas terapêuticas que visem minimizar o impacto das medidas tradicionalmente indicadas.

Sob este panorama, a homeopatia veterinária surge como uma importante alternativa, sendo aceita nacional e internacionalmente nas legislações de produção agroecológica, como por exemplo, a pecuária orgânica, além de ser reconhecida como Especialidade Médica Veterinária junto ao Conselho Federal de Medicina Veterinária no Brasil.

A prática homeopática, entre outras coisas, atende às questões do bem estar animal, uma vez que o medicamento pode ser fornecido na água, no sal mineral ou até mesmo na ração sem a necessidade de contenção dos animais, o que é, de modo geral, um fator altamente estressante para os mesmos.

Nesta modalidade terapêutica, tanto produtor quanto o profissional homeopata precisam ter um olhar mais atento, objetivando restabelecer a saúde e o equilíbrio do organismo como um todo. A abordagem dos casos a serem tratados segue uma dinâmica que exige uma observação individualizada de cada animal ou do rebanho como um todo, ao que se denomina de “Gênio Epidêmico”, e com isto proceder à escolha adequada do medicamento homeopático a ser administrado em cada caso.

Os estudos relativos às possibilidades de tratamento utilizando-se a homeopatia estão apenas no início, sendo esta área muito carente desse tipo de pesquisa bem como de profissionais capacitados, o que causa conseqüentemente a falta de acesso dos produtores a esta informação, e com isto a maior expansão dessa terapêutica.

Em relação ao *status* sanitário do rebanho bovino, a mastite constitui um dos fatores que mais compromete a qualidade do leite. É uma patologia de alta complexidade, caracterizada por um processo inflamatório decorrente de alterações fisiológicas e/ou metabólicas, traumas, alergias, ou da ação de microrganismos. Este processo prejudica a produção leiteira tanto no aspecto qualitativo quanto quantitativo, sendo capaz de promover alterações de natureza física, química e bacteriológica do leite e derivados lácteos, presença de antimicrobianos nos mesmos e alterações patológicas teciduais na glândula mamária.

As mastites são classificadas em clínica e subclínica. A mastite clínica caracteriza-se por modificações visíveis no leite e alterações na glândula mamária. Já a mastite subclínica não apresenta sintomatologia evidente, caracterizando-se pela diminuição da produção leiteira e alteração nos parâmetros de avaliação de qualidade do leite sem que sejam observados sinais clínicos de processo inflamatório ou fibrose da glândula mamária. Estima-se que para cada vaca com mastite clínica existam até nove, ou mais, com mastite subclínica, sendo esta última a causa dos maiores prejuízos para a pecuária leiteira devido à diminuição da produção de leite que acarreta.

Praticamente todos os casos de mastite bovina de importância econômica são causados por microrganismos como bactérias, fungos, algas e vírus, isoladamente ou em associações determinando, por exemplo, mastites bacterianas, mastites micóticas ou mistas. A mastite infecciosa também ocorre em maior quantidade em relação às demais e constitui um problema de saúde pública, pois muitos dos microrganismos presentes no

leite de vacas com mastite são capazes de ocasionar infecções e toxinfecções alimentares ao homem. Destacam-se como potencialmente zoonóticos: *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus*, determinados sorotipos de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, entre outros.

Embora com menor importância zoonótica, o *Corynebacterium bovis* também já foi relatado causando problemas na saúde humana. Isto passa a ser importante na medida em que é um microrganismo freqüentemente encontrado nas mastites subclínicas dos bovinos.

Atualmente a recomendação internacionalmente aceita no tratamento da mastite subclínica consiste na aplicação intramamária de antimicrobianos por ocasião da última ordenha, ao final da lactação do animal, no início do período seco. Deste modo, não há alternativa de tratamento alopático de mastite subclínica quando do diagnóstico da mesma, uma vez que gastos com tratamentos, descarte do leite, proporção do medicamento que será diluído e eliminado com o leite na ordenha subsequente e a taxa de cura bacteriológica fazem com que a terapia com antimicrobianos da mastite subclínica durante a lactação seja considerada antieconômica.

Além disso, a utilização contínua de um antimicrobiano no tratamento de mastites atua como um mecanismo de seleção dos microrganismos. Este processo faz com que a indústria farmacêutica necessite produzir novos produtos químicos, gerando uma constante dependência do produtor rural em relação a esses insumos externos, com conseqüências indesejáveis no custo de produção e na saúde pública. Um dos fatores responsáveis pelo aumento dos custos é o período de carência necessário para o aproveitamento do leite após a administração de antibióticos e, quando este não é respeitado, detectam-se resíduos de antimicrobianos nos produtos lácteos disponíveis no mercado, o que causa desclassificação e descarte do produto na indústria.

Neste contexto, a Homeopatia é uma opção importante uma vez que os medicamentos homeopáticos apresentam baixo custo, ausência de toxicidade, facilidade de administração e não atuam diretamente sobre o microrganismo, não gerando assim resistência microbiana, além de atuarem na promoção do aumento da capacidade de resposta do hospedeiro uma vez que estimulam a energia vital de maneira geral, proporcionando uma alternativa de tratamento assim que diagnosticada a mastite.

Todos os assuntos abordados anteriormente, envolvendo questões de viabilidade econômica, segurança dos alimentos e a carência de pesquisas sobre a homeopatia na área de produção animal, principalmente de acordo com os princípios estabelecidos por Hahnemann, justificam o estudo sobre a eficácia do protocolo homeopático para tratamento e controle da mastite subclínica bovina durante a lactação.

Estudos com a utilização de *Phytolacca decandra* 6CH administrada diariamente, demonstraram um aumento de produção de leite dos animais tratados, porém a utilização do medicamento diariamente dificulta a mão-de-obra e eleva o custo de produção. Desta forma, devem-se estudar protocolos que possibilitem e facilitem a utilização de medicamentos homeopáticos com menor frequência para facilitar a mão-de-obra e diminuir o custo.

Com isto, o estudo do efeito do medicamento homeopático *Phytolacca decandra* 30CH sobre os parâmetros de avaliação da mastite subclínica bovina, poderá trazer informações que contribuirão para melhor definir as condutas homeopáticas a serem empregadas nos rebanhos bovinos leiteiros nas mesmas condições.

2 OBJETIVO

Avaliar a eficácia do medicamento homeopático *Phytolacca decandra* 30CH administrado mensal e quinzenalmente no tratamento e controle da mastite subclínica em vacas leiteiras durante a lactação, classificada com 2+ (“duas cruze”) ou 3+ (“três cruze”) no California Mastitis Test (CMT), usando como parâmetros de avaliação: contagem de células somáticas (CCS) do leite por citometria de fluxo e por microscopia óptica, análise de sólidos totais, gordura, extrato seco desengordurado (ESD), proteína e lactose, exame microbiológico e mensuração da produtividade leiteira antes, durante e após a utilização do medicamento homeopático, comparando-o com os resultados obtidos no grupo de animais tratados com placebo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 QUALIDADE DO LEITE E SAÚDE PÚBLICA

3.1.1 Parâmetros de Qualidade do Leite

O leite é composto por diferentes substâncias, cuja função é fornecer nutrientes e proteção imunológica para o neonato. Além dessas funções biológicas, o leite fornece grandes probabilidades de processamento industrial para obtenção de diversos produtos para alimentação humana. A mudança em sua composição pode alterar significativamente o seu valor como matéria prima para fabricação de seus derivados (SANTOS; FONSECA, 2007).

A qualidade higiênica do leite é influenciada principalmente pelo estado sanitário do rebanho, manejo dos animais e dos equipamentos durante a ordenha e pela presença de microrganismos, resíduos de drogas e odores estranhos (BRITO; BRITO, 1998; CERQUEIRA; SENA, 1998).

Como características de qualidade, deve apresentar-se, segundo Brito e Brito (1998):

- Agradável – com preservação de suas propriedades de sabor, cor, odor e viscosidade;
- Limpo – livre de sujeiras, microrganismos e resíduos;
- Fresco – composição correta e conservação adequada;
- Seguro – não cause problemas à saúde.

A interferência da mastite determina a redução na produção de leite, e a qualidade do leite deve-se principalmente à redução dos teores de seus constituintes tais como: lactose, gordura, sólidos totais (ST) e caseína. Essa redução está ligada à intensidade e duração do processo inflamatório e tem como consequência prejuízos ao produtor, indústria e consumidor (BRITO; BRITO, 1998; COSTA, 1991; PEREIRA et al., 1997; PYORÄLA, 2003).

Os parâmetros dos componentes do leite são os seguintes de acordo com Yamaguchi et al. (2006): água (85,5%- 88,7%); gordura (2,4% - 5,5%); extrato seco desengordurado (ESD) (7,9% - 10,0%); proteína (2,8% - 4,5%); lactose (3,5% - 6,0%) e ST (11,58% - 13,82%).

3.1.2 Leite e Saúde Pública

O leite tem destacada importância sob o ponto de vista de saúde pública, uma vez que são freqüentes os casos de doenças associadas ao seu consumo ou de derivados lácteos contaminados com microrganismos patogênicos, tanto por suas toxinas ou pelos seus fatores de virulência, causando sérios transtornos aos consumidores que vão desde leves toxiinfecções alimentares até um choque letal (CARDOSO; CARMO; SILVA, 2000; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

Destacam-se como microrganismos potencialmente zoonóticos: *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus*, determinados sorotipos de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, entre outros (REBHUN, 1995; COSTA, 1998; LANGONI, 2007).

Embora com menor importância zoonótica, o *Corynebacterium bovis* também já foi relatado causando problemas na saúde humana (BERNARD et al., 2002; DALAL et al., 2008). Isto passa a ser importante na medida em que é um microrganismo freqüentemente encontrado nas mastites subclínicas dos bovinos.

Dulty et al. (2003) isolaram *Corynebacterium bovis* em um menino de quatorze meses apresentando conjuntivite purulenta, identificado através de provas bioquímicas e moleculares. Embora sem estabelecer a forma de contágio, ressaltou-se o fato de que o menino residia em uma granja leiteira.

O controle da mastite bovina e a cura dos animais infectados constituem um dos maiores problemas enfrentados pela pecuária leiteira (DEGRAVES; FETROW, 1993) e é a principal causa para o tratamento de vacas em lactação com antimicrobianos, trazendo riscos ao consumidor (COSTA, 1996; COELHO, 2003). Alguns estudos evidenciam a persistência de antibióticos após o período estabelecido pelos fabricantes dessas drogas, não só nos quartos tratados por via

intramamária, como também nos quartos não tratados adjacentes aos mesmos (COSTA et al., 1999b; COELHO, 2003).

A presença destes resíduos representa um problema de saúde pública por poder desencadear reações alérgicas em indivíduos sensíveis, e por participar da seleção de bactérias resistentes a esses antimicrobianos. É também um problema econômico, pois interfere nos processos industriais de produção e conservação de derivados do leite devido à persistência de resíduos no leite após tratamento térmico (FAGUNDES et al., 1982; COSTA et al., 1999a; RAIA et al., 1999; COSTA, 2002).

O crescimento do mercado consumidor que apresenta preocupações sobre este tema, além da expansão dos sistemas de produção pecuária orgânica, aumenta a necessidade de utilizar métodos diferentes daqueles conhecidos convencionalmente (FONSECA, 2000; MITIDIERO, 2002).

Naturalmente, essas novas abordagens devem cumprir o papel de atuar eficazmente nas diferentes patologias e serem economicamente viáveis. A homeopatia é uma terapêutica que tem sido cada vez mais utilizada em animais de produção com resultados bastante satisfatórios (ALMEIDA, 2004).

3.2 MASTITE BOVINA

A mastite pode manifestar-se sob as formas aguda, subaguda ou crônica (BLOOD; RADOSTITS, 1989). As denominações clínica e subclínica foram criadas para permitir melhor diferenciação da intensidade do processo inflamatório.

3.2.1 Mastite Clínica

A mastite clínica caracteriza-se por alterações na glândula mamária como aumento de volume, presença de dor, aumento de temperatura e rubor, e/ou pela ocorrência de alterações visíveis no leite como a presença de grumos de fibrina ou

pus. Esta forma pode ser diagnosticada por inspeção e palpação da glândula, bem como pela prova de Tamis ou caneca telada (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

3.2.2 Mastite Subclínica

Animais que apresentam mastites subclínicas não apresentam alterações visíveis na glândula. Entretanto, o leite apresenta alta CCS, que pode diagnosticada por contagens diretas através de microscopia ou aparelhos eletrônicos ou por provas indiretas como a do CMT, sendo que este é um dos critérios utilizados também empregado para avaliar a qualidade do leite e as perdas de produção decorrentes das infecções da glândula mamária (PHILPOT, 1984; BLOOD; RADOSTITS, 1991; ANDREWS, 1992; DU PREEZ; GIESECKE, 1994; SMITH, 1994; SILVA, 1999; COSTA et al., 1995; COSTA, 2002).

3.2.2.1 Métodos de Diagnóstico

3.2.2.1.1 *Contagem de Células Somáticas (CCS)*

Convencionou-se denominar as células presentes no leite como células somáticas, compostas por leucócitos (neutrófilos, macrófagos, linfócitos, eritrócitos) e células epiteliais, derivadas dos ductos e alvéolos (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971; BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

A quantificação de células somáticas tem como objetivo a detecção de anormalidades no leite como consequência de mastites ou outras causas, permitindo a padronização da qualidade do leite, auxiliando ainda nas pesquisas sobre mastite. Podem ser utilizados métodos diretos de contagem através de microscopia óptica ou contadores eletrônicos, ou por métodos indiretos como o CMT (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971; CULLEN, 1966; LANGONI, 2000). As contagens das células no leite, denominadas geralmente de contagem de células somáticas (CCS),

ao contrário das contagens bacterianas, têm sido usadas há muito tempo como marcadores da inflamação e um indicador de infecções intramamárias (RAINARD; RIOLLET, 2003) e sido aceitas como uma das ferramentas mais importantes na determinação da presença e intensidade do processo inflamatório da glândula mamária. A quantidade e os tipos celulares presentes variam sob condições fisiológicas e patológicas (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

A variedade e a proporção de células presentes estão relacionadas com diversos fatores como estágio da lactação, sanidade da glândula e a atividade secretora de leite (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971). De acordo com Pyörälä (2003), o leite de glândulas normais em lactação, com ausência de infecção ou inflamação contém de 66 a 88% de macrófagos, 1 a 11% de neutrófilos, 30% de linfócitos e 2% de células epiteliais (SCHUKKEN et al., 2001; PYÖRÄLÄ, 2003).

Segundo a Instrução Normativa do Nº 51 do MAPA (Ministérios da Agricultura Pecuária e Abastecimento), de 18/09/2002, a CCS máxima aceita para leite tipo B é de 6×10^5 (BRASIL, 2002).

Nas glândulas com infecções intramamárias a porcentagem de neutrófilos pode ultrapassar 90% (PYÖRÄLÄ, 2003). Em uma glândula infectada, as células de defesa correspondem de 98 a 99% das células encontradas no leite de acordo com Philpot e Nickerson (1991). Segundo Ribas (1996) esse número está entre 75% e 98% do total da CCS, e pelos estudos de Paape et al. (1979) na glândula mamária infectada predominam principalmente os neutrófilos ou polimorfonucleares (PMN). Segundo Schalm, Carroll e Jain (1971), o número de polimorfonucleares nos quadros de mastite fica entre 80% e 90%. Os linfócitos perfazem de 20 a 40% do total de células e o restante corresponde a macrófagos e células secretoras descamadas (DANIEL et al., 1991).

As contagens elevadas de polimorfonucleares indicam a presença de uma inflamação aguda, por outro lado contagens baixas como, por exemplo, 40% podem indicar uma lesão crônica (BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

Na secreção láctea de glândulas mamárias sadias as células predominantes são os macrófagos (LEE; WOODING; KEMP, 1980). Assume-se que este tipo celular permanente no interior da glândula é benéfico para as vacas leiteiras, uma vez que esses macrófagos do leite são, em princípio, capazes de iniciar uma resposta inflamatória (CRAVEN, 1983). No leite de quartos sadios, neutrófilos

compreendem de 5 a 20% da população celular (LEE; WOODING; KEMP, 1980; SORDILLO; SHAFER-WEAVER; DE ROSA, 1997).

A CCS no leite reflete a proporção de glândula mamária envolvida no processo inflamatório, enquanto que a contagem individual de neutrófilos reflete o estágio da inflamação. Conseqüentemente, uma elevada CCS (por exemplo, $10^6/\text{ml}$) e uma alta proporção de PMN neutrófilos ($\geq 90\%$), indicam a presença de uma inflamação aguda. Uma baixa CCS ($\leq 500.000/\text{mL}$) e uma baixa proporção de PMN neutrófilos ($< 40\%$) podem indicar uma lesão crônica (BLOOD; RADOSTITIS, 1991).

As células PMN constituem a primeira linha de defesa celular contra microrganismos invasores. Elas possuem muitos receptores que estão presentes em sua superfície e alguns deles são utilizados para detectar fatores químicos de atração, que permitem aos PMNs migrarem para as áreas da inflamação (PAAPE et al., 2003).

Existe uma importante relação inversa entre a capacidade de recrutamento de neutrófilos pela glândula mamária e as conseqüências da infecção. Animais que evoluem para a cura espontânea demonstram rápida e intensa resposta neutrofílica no leite, enquanto que animais com baixas ou ausência de resposta neutrofílica desenvolvem as formas agudas de mastite. Além disto, o funcionamento apropriado do sistema neutrofílico bovino é essencial para a prevenção dos efeitos sistêmicos e locais de infecção na glândula mamária (BURTON; ERSKINE, 2003).

Nos animais em que a glândula mamária é considerada saudável, a quantidade de células é inferior a 10^5 células/mL (SORDILLO et al., 1997). Durante uma infecção intramamária, entretanto, a CCS pode elevar-se para valores acima de 10^6 células/mL em apenas poucas horas (SORDILLO et al., 1997). O leite de glândulas mamárias infectadas e que apresentam mastite subclínica contém acima de $7,5 \times 10^5$ células/mL, enquanto a secreção de quartos infectados no período seco contém milhões de células/mL, sendo que em ambas o tipo celular predominante é o PMN, encontrado em porcentagem que pode chegar a 100% (REITER, 1978; NORCROSS et al., 1991).

A gravidade e o tempo de transcurso dos quadros de mastite estão diretamente relacionados à eficiência da resposta neutrofílica e atividade microbiana das células no local da infecção com fatores bacterianos que atuam direta ou indiretamente como fatores químicos de atração para leucócitos. No caso dos leucócitos moverem-se rapidamente da corrente sanguínea para o leite e serem

capazes de eliminar os patógenos, cessa o recrutamento dos mesmos, mas se os microrganismos forem capazes de sobreviver a inflamação continua resultando em migração celular entre células secretoras mamárias adjacentes em direção ao lúmen alveolar. A diapedese prolongada de células neutrofilicas causa danos ao parênquima mamário, comprometendo a produção de leite. Desta forma, a duração e severidade da resposta inflamatória na glândula mamária têm um impacto determinante na quantidade e qualidade de leite produzido (SORDILLO et al., 1997).

3.2.2.1.1.1 *California Mastitis Test (CMT)*

O CMT é capaz de detectar a ocorrência de mastite subclínica pelo aumento de células somáticas, principalmente PMN por mililitros de leite. De cada glândula mamária colhe-se uma amostra de 2,0 ml de leite, à qual é adicionado , na mesma proporção, um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsificar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, com conseqüente liberação de material nucléico, sendo que o DNA liberado produz uma viscosidade que caracteriza esta reação. A gelificação da mistura descrita acima, proporcional à quantidade de células presentes, é classificada em distintos escores, conforme as intensidades do processo inflamatório (RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994; THIERS et al., 1999). São dados escores de acordo com a ausência de reação (0) ou presença de traços, 1+ (“uma cruz”), 2+ (“duas cruzes”) ou 3+ (“três cruzes”) no referido teste, que correspondem à intensidade do processo inflamatório (RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994; THIERS et al., 1999), conforme observado no (Quadro 1).

CMT	Escore	Células/mL leite	Polimorfonucleares (PMN)
Negativo	0	0 – 200.000	25%
Traços	0,5	150.000 – 400.000	30 – 40%
1+	1	300.000 – 1.000.000	40 – 60%
2+	2	700.000 – 2.000.000	60 – 70%
3+	3	> 2.000.000	70 – 80%

Quadro 01 Escores de California Mastitis Test (CMT) comparados com contagem de células somáticas no leite e a respectiva porcentagem de células polimorfonucleares no leite.

3.2.2.1.1.2 CCS Eletrônica

A contagem eletrônica de células somáticas no leite é uma forma moderna de diagnóstico de mastite aceita internacionalmente como critério de avaliação da sanidade da glândula mamária da vaca e conseqüentemente da qualidade do leite, individualmente por ela produzido ou pelo rebanho, através do exame do tanque de expansão.

As amostras de leite são colhidas em frasco com o conservante dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 1% e enviadas ao laboratório, sob refrigeração, para contagem de células somáticas pelo método fluoro-opto-eletrônico, em equipamento Somacount 300® (BENTLEY INSTRUMENTS, 1995a). Esta metodologia segue as recomendações da Federação Internacional de Lácteos (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1995; LANGONI, 2000).

O aparelho é composto por cinco estruturas, que formam o sistema óptico de leitura, a saber:

1. Conjunto de fluidos, como o corante Brometo de Etídio ($C_{21}H_2OBrN_3$) e o de carreamento, que é o detergente RBS.
2. Computador.

3. Canhão de laser.
4. Leitor denominado “Flow Cell”.
5. Tubo fotomultiplicador, que faz a conversão de impulsos luminosos para impulsos elétricos.

Neste equipamento o leite é aspirado, misturado em uma solução que cora o núcleo das células somáticas. A contagem eletrônica das células é feita pelo exame de citometria de fluxo, no qual os impulsos luminosos (fluorescentes, sob luz ultravioleta) emitidos pelas células, decorrentes da associação DNA-corante (brometo de etídio), após sua conversão em impulsos elétricos no tubo fotomultiplicador, são lidos pelo aparelho. As células fluorescentes, ao passarem pelo fluxo, carregadas por uma pequena corrente do fluido (RBS), ao serem bombardeadas por um feixe de laser produzem uma explosão luminosa, de curta refração, que atravessa uma série de filtros ópticos e lentes, sendo focada em um comprimento de luz apropriado. Esses pulsos de luz são convertidos em pulsos elétricos, amplificados, eletronicamente filtrados e ordenados por tamanho para que se especifiquem as células somáticas. O computador acoplado conta os pulsos elétricos, traduzindo a contagem de leucócitos.

3.2.2.1.1.3 CCS Óptica

Este método tem importância pela capacidade de diferenciar e quantificar a presença de PMNs e mononucleares (MN) presentes na secreção láctea, e não na determinação do número absoluto das mesmas (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Essa metodologia ainda é mais acessível, servindo para calibrar os equipamentos de contagem eletrônica, no entanto deve ser realizada por um profissional especializado (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Prescott e Breed (1910) desenvolveram um método para determinar o número de células no leite, utilizando-se esfregaços de leite fixados e corados em lâminas e avaliados por microscopia óptica comum. Benites, Melville e Costa (2001) modificaram a técnica de coloração de Prescott e Breed (1910), empregando a coloração de hematoxilina e eosina, para melhor visualização das células.

Segundo a técnica, um volume de 10µl de cada amostra são distribuídos em uma área de 1cm² em lâmina de vidro previamente higienizada e desengordurada. Após a secagem durante 24 horas, os esfregaços são fixados em metanol por 15 minutos e colocadas novamente para secar em temperatura ambiente, sendo posteriormente corados com hematoxilina-eosina (HE).

As contagens de células somáticas são feitas usando-se microscopia óptica comum, com objetiva de imersão 100x e ocular 10x.

3.2.2.2 Principais Microrganismos Isolados

O exame microbiológico de amostras de leite coletadas assepticamente é considerado o método padrão para determinação da saúde do úbere e para o diagnóstico da mastite bovina, de modo que medidas de controle possam ser adotadas com maior eficiência. (RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994; BRITO et al., 2000). Com esse objetivo, procedimentos padronizados são conhecidos e adotados em diversos países do mundo, destacando-se os publicados pela Federação Internacional de Laticínios e Conselho Nacional de Mastite (HARMON; EBERHART; JASPER, 1990).

Diversos microrganismos podem estar implicados na etiologia das infecções intramamárias em bovinos leiteiros, e estes podem ocorrer isoladamente ou em associações – bactérias, fungos, algas e vírus (WATTS, 1988; BLOOD; RADOSTITS, 1991).

Mangiéri et al. (2007) encontraram em três rebanhos diagnosticados com mastite subclínica os seguintes microrganismos: *Corynebacterium* spp., dentre os quais se identificou *Corynebacterium bovis* e *Corynebacterium ulcerans*; *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus kloosi*, *Staphylococcus hycus* e, *Staphylococcus sciuri ssp sciuri*, *Staphylococcus warneri* e *Streptococcus* spp., *Streptococcus dysgalactia* e *Streptococcus uberis*.

De acordo com Brito e Brito (1998), as mastites subclínicas ocorrem em aproximadamente 70-90% dos casos por bactérias gram positivas em forma de cocos, especialmente *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus agalactiae*

Estudando 51 quartos mamários de vacas com mastite subclínica, Zafalon et al. (1999) isolaram bactérias do gênero *Corynebacterium*, estafilococos coagulase positivos e coagulase negativos com frequências de 39,22%, 41,18% e 19,60% respectivamente.

De acordo com Zani (2005) o *Corynebacterium bovis* é um dos principais agentes etiológicos de mastite em bovinos leiteiros, tendo sido isolado em 37,3% de 2.946 quartos. Segundo Watts et al. (2000), o *Corynebacterium bovis* é a espécie mais isolada do gênero *Corynebacterium* pode ser isolado em até 60% de amostras de leite oriundas de quartos mamários. Costa et al. (2000) fizeram um levantamento microbiológico em 31.861 amostras de leite provenientes de vacas com mastite nas sete principais bacias leiteiras do estado de São Paulo, que de acordo com a sazonalidade sua frequência etiológica estava assim distribuída: *Staphylococcus* sp (24,15% - 26,55%), *Streptococcus* sp (12,79% - 18,78%), *Corynebacterium* sp (40,67% - 55,10%), fungos (0,36% - 0,91%), leveduras (0,31% - 0,91%), fungos micelianos (0,03% - 0,05%), *Prototheca* sp (0,13% - 2,99%) e Enterobacteriaceae (0,30% - 0,61%).

3.2.2.3 Tratamentos Convencionais

Um programa efetivo de controle da mastite deve basear-se principalmente nas medidas de prevenção. Mas é importante a utilização da terapia, com o objetivo de auxiliar as defesas específicas e inespecíficas do animal na eliminação do microrganismo invasor (COSTA, 2002). O tratamento medicamentoso ideal da mastite seria aquele que pudesse controlar todos os processos infecciosos do úbere e não deixasse resíduos no leite (COSTA, 2002).

A descoberta e o amplo uso dos agentes antimicrobianos tiveram um reconhecimento e um impacto profundo sobre a vida e a saúde dos seres humanos

e animais. A terapia com antibióticos está em uso no manejo da saúde dos animais de produção há mais de 40 anos (FRANCO; WEBB; TAYLOR, 1990).

3.3 HOMEOPATIA

3.3.1 Aspectos Gerais

Foi Hipócrates (460-350 A.C.) quem primeiro descreveu a *Lei dos Semelhantes* através do aforismo: *Simillia Similibus Curantur*, ou seja, “O Semelhante cura o semelhante” (BENITES, 1999).

Somente no século XVIII, Hahnemann (1755-1843) conseguiu aplicar a “Lei dos Semelhantes”, através de amplos e exaustivos estudos que publicou em sua obra: “O Organon da Arte de Curar” e “Doenças Crônicas”. Ele provocava intoxicações experimentais com medicamentos homeopáticos em indivíduos sadios e observava os sintomas apresentados pelos mesmos. Posteriormente, ele utilizava estes mesmos medicamentos para o tratamento de doenças cujos sintomas clínicos se assemelhavam àqueles observados nas experimentações. Assim, o medicamento homeopático utilizado em cada caso clínico era escolhido quando o quadro sintomatológico que provocava em indivíduos sãos era semelhante àquele apresentado pelo indivíduo doente (BENITES, 1999).

A primeira pessoa a tratar animais com homeopatia foi o próprio Hahnemann. Posteriormente Böenninghausen, que era advogado, botânico e discípulo de Hahnemann, realizou muitos tratamentos individuais em animais. O primeiro médico veterinário homeopata de quem se tem notícia teria sido Joseph Wilhem Lux (1776-1848), que introduziu tratamentos homeopáticos em animais por volta de 1823 (BENITES, 1999).

A doutrina homeopática difundida por Hahnemann em sua obra *Exposição da Doutrina Homeopática ou Organon da Arte de Curar* (HAHNEMANN, 1995), segue os seguintes princípios:

- Estímulo vital contra a doença pela reação vital (curativa) a um medicamento capaz de produzir no indivíduo sadio uma doença (artificial) “semelhante”.

- Experimento das substâncias medicamentosas para determinar seus efeitos no organismo.
- Experimento de medicamentos somente em indivíduos sãos, para evitar o aparecimento de sintomatologia não produzida pelo medicamento.
- Registro cuidadoso das doenças artificiais, doenças estas produzidas por instalações deficientes, alimentação inadequada e hábitos indesejáveis.
- Retratação do caso, não somente com o propósito de diagnóstico, como também para a obtenção de sintomas próprios do paciente e suas reações anormais.
- Seleção do remédio por cuidadosa comparação entre o complexo sintomático característico do paciente e do medicamento, até que se descubra aquele que provoca os sintomas mais semelhantes aos da doença em questão.
- Administração de um medicamento de cada vez, pois não existe experimentação de associações de medicamentos e, portanto, não se conhecem destas associações, se há efeitos aditivos, antagônicos, etc.

Para tratar os animais com medicamentos homeopáticos é necessário (DAY,1992) :

- Conhecer os medicamentos através do estudo das Matérias Médicas Puras, onde estão minuciosamente descritos os resultados das experimentações realizadas por Hahnemann e seus colaboradores.
- Conhecer a afecção e examinar bem o paciente para poder escolher os sinais característicos e importantes que serão usados na escolha do medicamento mais adequado.
- Selecionar o medicamento estudado na experimentação que mais se assemelhe ao quadro de doença natural. Para essa tarefa além do cumprimento das etapas anteriores, utiliza-se o auxílio do Repertório. Este se trata de um livro que cataloga os sintomas por capítulos e classifica os medicamentos que cobrem as rubricas selecionadas para cada caso.
- Remoção dos obstáculos à cura, que na pecuária moderna podem ser considerados com tais: o mau manejo, instalações e nutrição inadequadas, raças mal adaptadas ao meio, etc.

Além dos medicamentos obtidos diretamente dos três reinos da natureza e de outras fontes, a Homeopatia compreende igualmente outros medicamentos denominados bioterápicos, também chamados de isoterápicos ou nosódios feitos a partir de secreções, tecidos, parasitas ou mesmo microrganismos (ALMEIDA, 2001).

Segundo Day (2001), os sinais clínicos e/ou sintomas que surgem nos organismos são simplesmente o resultado da expressão da reação do corpo aos estímulos internos da intensidade da doença e esta nada mais é do que o resultado da ação de qualquer tipo de agente como: fatores ambientais, estresse climático, estresse na dieta, estímulos bacterianos, fúngicos ou virais, substâncias tóxicas, traumatismos, estresse emocional ou psicológico, estresse por excesso de produção, etc.

De acordo com a intensidade da doença ocorrem estímulos internos e os organismos podem responder de diversas maneiras. Inicialmente pode não haver demonstração do efeito, que é devido ao poder de manutenção do equilíbrio pelo organismo, absorvendo e anulando o estímulo. Isto é o que ocorre diariamente em um organismo saudável. A segunda alternativa é o surgimento da doença aguda, ou seja, é o efeito inicial de um distúrbio do equilíbrio do organismo. Trata-se de uma fase natural e transitória limitada por três possíveis consequências: (1) restauração completa do equilíbrio inicial; (2) óbito devido ao desequilíbrio irreversível; (3) doença crônica. Quando o distúrbio do equilíbrio ocorre de tal forma que o organismo não consegue recuperar a harmonia inicial, um novo equilíbrio é produzido que, se não tratado, freqüentemente evolui para óbito embora seguindo um curso muito prolongado e este processo é denominado de doença crônica. Este terceiro e último tipo de processo pode ocorrer quando a força vital está muito fraca para reverter o estímulo original ou é incapaz de resistir às ações contínuas dos estímulos desencadeantes (DAY, 2001).

Deve-se procurar estudar todos os estímulos que apresentam capacidade de produzir doenças, não somente no indivíduo, mas também no rebanho. A esta abordagem homeopática de um grupo ou população sendo tratada como uma única entidade, com uma única imagem com todos os sinais clínicos presentes, tratando todos os indivíduos acometidos como se fosse um único ser vivo, denomina-se “gênio epidêmico” e ao medicamento selecionado para este caso, de “gênio medicamentoso” (BENEZ, 2002).

O gênio epidêmico pode ser utilizado quando um homeopata está atendendo uma população ou quando está atendendo apenas um indivíduo que apresente sinais e/ou sintomas da doença de um surto.

O medicamento do gênio epidêmico pode ser prescrito para todos os indivíduos que se encontram nas áreas com risco de contaminação, e que ainda não apresentam o quadro clínico. Desta forma ele age preventivamente. Medicando todos os indivíduos suscetíveis, deve-se observar a redução do número de doentes, redução na gravidade dos sinais e/ou sintomas dos indivíduos contaminados e redução do número de mortes (BENEZ, 2002).

Alguns parágrafos do Organon da Arte de Curar (HAHNEMANN, 1995) também aqui podem ser úteis para melhor compreensão do assunto:

§ 100 “Na investigação da essência sintomática das doenças epidêmicas ou esporádicas, é indiferente que tenha ocorrido algo semelhante no mundo sob este ou aquele nome. A novidade ou a peculiaridade de uma tal epidemia não faz diferença, quer no exame, quer no tratamento, visto que o médico, mesmo assim, deve pressupor o quadro puro de cada doença atual dominante, como algo novo e desconhecido e investiga-lo pela base, se pretender ser um genuíno e criterioso artista da cura, não podendo nunca colocar a suposição no lugar da observação, nem supor, total ou parcialmente. Conhecido um caso de doença que estiver encarregado de tratar, sem explorar cuidadosamente todas as suas manifestações, tanto mais que, em muitos aspectos, cada doença dominante é um fenômeno com suas próprias características e, num exame meticoloso, é identificado como completamente diferente de todas as epidemias anteriores, erroneamente documentadas sob certos nomes, excetuando-se as epidemias resultantes do princípio contagioso, que sempre é o mesmo, como a varíola, o sarampo, etc.”. (p.141).

§ 101 “É bem provável, ao se lhe apresentar o primeiro caso de um mal epidêmico, que o medico não obtenha, de imediato, o quadro completo do mesmo, visto que cada uma destas doenças coletivas apresenta o conjunto característico de seus sintomas e sinais somente ao longo de observação precisa de vários casos. No entanto, o médico investigador criterioso, logo ao primeiro ou Segundo doente, pode chegar, muitas vezes, tão perto de sua verdadeira situação que apreende daí um quadro característico – e encontra logo um medicamento adequado e homeopaticamente conveniente”. (p.142)

§ 102 “Ao tomar nota dos sintomas de diversos casos desta espécie, o esboço da doença se torna cada vez mais completo, não no sentido de extensão ou riqueza de vocabulário, porém se torna mais significativo (mais característico), abrangendo mais particularidades desta doença coletiva. Os sintomas gerais (p.ex. perda de apetite, insônia, etc.) encontram suas próprias e exatas definições; por outro lado, surgem os sintomas mais notáveis e especiais que são peculiares somente a poucas doenças e mais raros – ao menos nesta combinação formam o quadro característico desta epidemia*. É certamente de uma mesma fonte que provém, conseqüentemente, a mesma doença de todos aqueles que contraíram a epidemia em curso, mas toda a extensão de tal epidemia e a totalidade de seus sintomas (cujo conhecimento faz parte da visão de conjunto do quadro

completo da doença, a fim de permitir a escolha do meio de cura homeopático mais adequado para este conjunto de sintomas) não pode ser percebida num único doente isoladamente, mas, ao contrário, somente será perfeitamente deduzida e descoberta (abstraída) através dos sofrimentos de vários doentes de diferentes constituições físicas. Ao médico que já tenha podido escolher nos primeiros casos o medicamento que se aproxima daquele que é especificamente homeopático, os casos subseqüentes ratificarão a conveniência do medicamento escolhido ou lhe indicarão um outro ainda mais adequado, o mais adequado meio de cura homeopático”. (p.142)

§ 103 “Da mesma forma como foi ensinado aqui a respeito dos males epidêmicos, geralmente de caráter agudo, os males miasmáticos crônicos, que sempre permanecem os mesmos – principalmente e especialmente a psora – tiveram que ser averiguados por mim, quanto à amplitude de seus sintomas, muito mais detalhadamente do que então. Enquanto um doente é portador de apenas uma parte dos sintomas, um segundo, um terceiro, etc., apresentam alguns outros dados que são, igualmente, apenas uma parte como que fragmentada da totalidade dos sintomas que constituem toda a extensão da única e mesma doença, de modo que o conjunto característico de todos estes sintomas que pertencem a tais doenças crônicas pode ser averiguado isoladamente em numerosos doentes portadores da mesma doença crônica, sem cuja completa visão do conjunto e um quadro integral não é possível descobrir os medicamentos capazes de curar homeopaticamente todo o mal (isto é, antipsórico) e que são, ao mesmo tempo, os verdadeiros meios de cura dos doentes que sofrem individualmente desse mesmo mal crônico”. (p. 143)

§ 241 “As epidemias de febre em lugares em que não são endêmicas, são de natureza das doenças crônicas e compostas de crises agudas isoladas; cada epidemia isolada é de caráter peculiar, uniforme e particular, comum a todos os indivíduos afetados e, quando este caráter se encontra no conjunto característico dos sintomas comuns a todos, aponta-nos o caminho para a descoberta do medicamento homeopático (específico) adequado para todos os casos, o qual, então, é praticamente eficaz em todos os doentes que gozavam de saúde razoável antes da epidemia, isto é, que não sofriam cronicamente de psora desenvolvida”. (p. 210)

Esta é a base dos conceitos de medicina homeopática preventiva, que é tão importante quanto o tratamento individual (DAY, 2001).

3.3.2 Homeopatia nas Mastites Bovinas

Nos rebanhos leiteiros, a mastite é a consequência do desequilíbrio de vários fatores tais como manejo inadequado, infecções bacterianas, alergias e traumatismos (MACLEOD, 1997).

De acordo com Day (2001) vários fatores devem ser considerados quando se verifica uma doença infecto-contagiosa, tais como: dieta (que está diretamente

relacionada com imunidade, produtividade etc.); instalações dos animais, uma vez que o desconforto pode ocasionar comprometimento ao bem estar e estresse como consequência; traumatismos; situação de confinamento, pois o animal completamente confinado está sujeito a estresse pela falta de exercícios; manutenção dos equipamentos de ordenha, pela probabilidade dos mesmos causarem traumatismos ou mesmo contaminações de forma contínua.

Além das condições predisponentes da mastite, é importante o diagnóstico da própria doença, sendo que as contagens de células somáticas no leite podem indicar a presença de mastites subclínicas ou clínicas, de acordo com a concentração celular observada, assim como a cultura do leite revela qual microrganismo está associado ao processo, o que pode auxiliar tanto no tratamento quanto na profilaxia do processo devido ao conhecimento patogenia das mastites pelos diferentes agentes, e que tipo de medicamento pode-se utilizar preventivamente, seja homeopático ou bioterápico (HUNTER, 2004).

Em um estudo feito na Irlanda por Egan (1998), verificou-se que de 234 propriedades leiteiras analisadas, 22,2% (52) utilizavam bioterápicos para controle de mastite clínica e destes 43,8% (21) informaram ter obtido sucesso no tratamento.

Já Krutzinna, Boehncke e Herrmann (1996), estudando a produção de leite orgânico em 268 fazendas na Alemanha, observaram que a mastite era a afecção de maior incidência (56%) e 27% das propriedades empregam homeopatia nos tratamentos de saúde dos animais.

Estudando a terapia de mastite em fazendas orgânicas de leite no Reino Unido, Hovi e Roderick (2000) observaram que a homeopatia era utilizada para controle de mastite em 49,8% das propriedades.

Searcy, Reyes e Guajardo (1995), estudando mastite subclínica empregaram um complexo homeopático composto de *Phytolacca decandra* 200CH, *Phosphorus* 200CH e *Conium maculatum* 200CH.

Em um estudo conduzido em 10 propriedades leiteiras da região de Vermont/EUA por Barlow et al. (2001), foi empregado um nosódio a partir de leite contaminado com alguns microrganismos comumente presentes em casos de mastites: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no período de seis meses, dividido em duas etapas de três meses cada uma, de modo a permitir a avaliação e comparação dos tratamentos homeopáticos em quadros de mastite subclínica utilizando *Phytolacca decandra* 30CH (Centesimal Hahnemanniana) em frequências diferentes.

No primeiro estudo foi realizado um tratamento homeopático com *Phytolacca decandra* 30CH em doses mensais, em fêmeas bovinas com mastite subclínica e no segundo estudo foi administrada *Phytolacca decandra* 30CH em doses quinzenais em vacas com mastite subclínica.

4.1 ETAPA I

Nesta etapa o primeiro grupo de animais foi medicado mensalmente com uma única dose administrada, por um período de três meses, com *Phytolacca decandra* 30CH.

Foram coletadas 48 amostras de leite provenientes de 15 vacas com mastite subclínica. Vinte e cinco amostras eram provenientes de sete vacas que receberam o medicamento homeopático por aspersão oronasal ou vaginal uma vez ao mês e 23 amostras eram provenientes de oito vacas que receberam uma solução placebo no mesmo intervalo e vias de administração do grupo tratado.

4.2 ETAPA II

Nesta etapa, um segundo grupo de vacas foi medicado com *Phytolacca decandra* 30 CH administrada quinzenalmente com uma única dose, por um período de três meses.

Foram coletadas 23 amostras de leite provenientes de 11 vacas com mastite subclínica. Quatorze amostras eram provenientes de seis vacas que foram tratadas com o medicamento homeopático por aspersão oronasal ou vaginal e nove amostras eram de

cinco vacas que receberam uma solução placebo no mesmo intervalo e vias de administração do grupo tratado.

4.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas vacas Holandesas PC (Pura por Cruzamento) e 7/8 do rebanho de bovinos leiteiros da Fazenda Canchim da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Os animais escolhidos estavam entre o terceiro e o sexto mês de lactação e entre a segunda e quinta crias para minimizar variações observadas nas contagens de células somáticas no início e final de lactação, o que também é observado para vacas primíparas e pluríparas. Nesses animais foram feitos exames de CMT (e selecionados aqueles que apresentaram 2+ e 3+.

Cada grupo foi formado para garantir a homogeneidade em relação à produtividade leiteira e à composição racial.

Os animais tratados continuaram com o manejo de rotina da propriedade com regime de pastoreio em pastagens de alfafa, aveia e azevém, recebendo suplemento no cocho composto de caroço de algodão, silagem de milho ou sorgo e concentrado de farelos de milho e soja, sal e uréia, de acordo com a produção leiteira.

O sistema de ordenha empregado na propriedade é mecânico com ordenhas realizadas de duas a três vezes ao dia, de acordo com a produtividade de cada vaca.

As avaliações para cada grupo foram realizadas em três momentos com um intervalo mensal entre cada uma, ou seja, antes, durante e após os tratamentos, de acordo com os métodos descritos a seguir.

As análises microbiológicas e as contagens de células somáticas (CCS) por microscopia óptica foram realizadas utilizando-se as instalações do Laboratório de Microbiologia e Micologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VPS-FMVZ/USP), São Paulo/SP.

As CCS por citometria de fluxo, análise de sólidos totais (ST), gordura, extrato seco desengordurado (ESD), proteína e lactose foram realizadas na Clínica do Leite – ESALQ/USP, em Piracicaba/SP.

O trabalho foi executado em duplo cego para eliminar qualquer interferência por parte dos envolvidos.

4.4 PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DOS TRATAMENTOS

4.4.1 Exame Físico e Prova de Tamis

Depois de avaliar o estado geral dos animais que apresentavam escores corporais entre 3,5 e 4,0, foi realizada a avaliação das glândulas mamárias das fêmeas lactantes, a qual teve início com inspeção e palpação minuciosas a fim de detectar possíveis casos de mastites clínicas. A seguir, com os primeiros jatos de leite de cada teto, foi realizada a Prova de Tamis ou *strip cup* (BLOOD; RADOSTITS, 1991) para a avaliação da secreção glandular. Apenas foram utilizadas as vacas sem sinais clínicos de mastite e com resultado negativo na Prova de Tamis.

4.4.2 California Mastitis Test (CMT)

Para a detecção de mastites subclínicas, após o teste da caneca telada, foram ordenhados de 2,0 a 3,0 mL de leite de cada glândula mamária diretamente na placa do CMT (SCHALM; NOORLANDER, 1957) e adicionado na mesma proporção um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsificar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, com conseqüente liberação de material nucléico, sendo que o DNA liberado produz uma viscosidade que caracteriza esta reação. A gelificação da mistura descrita acima é proporcional à quantidade de células presentes. As reações foram classificadas como negativa, traços, 1+, 2+ e 3+ e para as avaliações seguintes somente foram utilizadas as fêmeas cujas amostras de leite das glândulas mamárias apresentaram escores 2+ ou 3+ ao exame de CMT.

Os exames de CMT continuaram a ser realizados antes de todas as coletas realizadas durante todas as etapas do experimento.

4.4.3 Contagem de Células Somáticas (CCS)

Procedeu-se à CCS por citometria de fluxo e por microscopia óptica com o objetivo de distinguir as proporções de polimorfonucleares (PMN) e mononucleares (MN) das amostras.

Após a higienização dos tetos com algodão embebido em álcool iodado, amostras de leite foram colhidas e acondicionadas em frascos plásticos com capacidade para 50 mL contendo duas pastilhas de bronopol. As mesmas foram enviadas à Clínica do Leite – ESALQ/USP, Piracicaba/SP, onde foi realizada a contagem de células somáticas por citometria de fluxo, utilizando-se o equipamento Somacount 300® (BENTLEY INSTRUMENTS, 1995a).

A contagem de células somáticas pela observação microscópica foi feita no laboratório de Doenças Infecciosas do Departamento de Epidemiologia e Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo/SP, segundo o método de Prescott e Breed (1910), modificado com a coloração de hematoxilina-eosina (HE) segundo Benites, Melville e Costa (2001).

De acordo com a técnica, um volume de 10 μ L de cada amostra foi distribuído em uma área de 1cm² em lâmina de vidro previamente higienizada e desengordurada. Após a secagem durante 24 horas, os esfregaços foram fixados em metanol por 15 minutos e colocadas novamente para secar em temperatura ambiente sendo posteriormente corados com a técnica de HE. As contagens de células somáticas foram feitas usando-se microscopia óptica comum, com objetiva de imersão 100x e ocular 10x. Foram contadas 100 células e anotadas as frequências de PMN e MN.

Obteve-se o número absoluto de PMN e MN multiplicado-se a porcentagem de cada tipo celular pela contagem total de células somáticas obtida por citometria de fluxo.

4.4.4 Composição do Leite

As análises da composição das amostras de leite, com determinação das proporções de proteína, lactose, gordura, ST e ESD, também foram realizadas pela

Clínica do Leite – ESALQ/USP, Piracicaba/SP, utilizando-se o equipamento Bentley 200® (BENTLEY INSTRUMENTS, 1995b).

4.4.5 Exame Microbiológico

Primeiramente foi feita higienização dos tetos com solução de formaldeído (Lisoform®), em seguida secados com papel toalha e posteriormente cada teto foi desinfetado com algodão embebido em álcool iodado. Foram obtidas amostras de aproximadamente 10 mL de leite, as quais foram acondicionadas em frascos de vidro estéreis e permanecendo sob refrigeração até a chegada ao laboratório, onde foram submetidas aos exames microbiológicos.

De cada amostra, 10 µL de leite foram semeados na superfície de placas de Petri contendo o meio de ágar-sangue ovino a 5% e incubadas em aerobiose a 37°C para pesquisa bacteriana, com leitura às 24, 48 e 72 horas. Os microrganismos isolados foram identificados de acordo com Lennette *et al.* (1985) e classificados segundo Kreeger-Van-Rig (1984); Krieg e Holt (1994) e Murray *et al.* (1999).

4.4.6 Mensuração da Produção Leiteira

A produção leiteira de ambos os grupos foi mensurada quinzenalmente, sendo que os lotes em estudo não sofreram modificações na dieta.

4.5 ESCOLHA DO MEDICAMENTO HOMEOPÁTICO

A seleção do medicamento homeopático necessita de um critério estabelecido para ser efetuada. Há duas etapas importantes a serem realizadas: a repertorização dos sinais clínicos e o estudo da Matéria Médica Pura.

4.5.1 Repertorização

Para a seleção do medicamento homeopático empregado no tratamento das vacas, os sintomas foram modalizados e repertorizados de acordo com Kent (2004).

Os sinais repertorizados foram encontrados no capítulo Chest (Peito), onde estão os sintomas e sinais relativos à glândula mamária, conforme visto no Quadro 2.

Sintoma	Apis	Bell	Bor	Bry	Calc	Con	Merc	Phos	Phyt	Sil	Sulph
Pain, mammae, 845/l	01	03	02	02	02	03	03	02	02	03	02
Pain, sore 862/l	01	02	--	02	02	02	02	01	02	03	--
Swelling, mammae, 881/l	01	02	--	02	02	02	02	02	02	03	02
Swelling, mammae, hot 881/l	--	02	--	01	02	--	02	02	--	--	--
Hypertrophy, mammae, 835/l	--	--	--	--	02	02	--	--	02	--	--
Induration, mammae, 835/l	01	02	--	02	02	03	02	02	02	03	02
Inflammation, mammae 836/l	02	03	--	03	01	02	02	02	03	03	03
Nodules, mammae 838/l	--	02	--	02	--	03	--	02	03	03	02
Milk, yellow, 838/l	--	--	--	--	--	--	--	--	01	--	--
Milk, absent, 837/l	01	02	01	02	03	--	01	--	--	--	01
Milk, disappearing, 837/l	--	--	02	01	02	--	01	01	01	--	01
Milk, cheesy, 837/l	--	--	02	--	--	--	--	--	02	--	--
Milk, thick and tastes bad 838/l	--	--	02	--	--	--	--	--	02	--	--
Milk, stringy, 838/l	--	--	01	--	--	--	--	--	02	--	--
Milk, bad 837/l	--	--	02	--	03	--	02	--	--	01	--
TOTAL	07/6	18/8	10/7	17/9	19/10	17/7	17/8	14/8	24/12	19/7	15/7

Quadro 2 – Seleção das rubricas para escolha do medicamento homeopático a ser administrado às vacas com mastite subclínica. Adaptado do Repertório de Kent (2004) - Capítulo Chest

4.5.2 Matéria Médica

A seleção do medicamento baseou-se na repertorização e pelo estudo das Matérias Médicas Puras de Hering (1994).

Os sintomas descritos do medicamento *Phytolacca decandra* foram os que mais se assemelharam ao quadro de mastite que as vacas do presente trabalho apresentariam, de acordo com os relatos dos encarregados pelo rebanho.

Os sinais e sintomas importantes para este estudo estão relacionadas a seguir:

Phytolacca decandra:

- Sensibilidade na mama: ausência de inchaço, induração ou tumoração; durante a lactação.
- Mastite.
- Inflamação, inchaço e supuração da mama.
- Abscessos ou úlceras fistulosas da mama.
- Tumorações, fibroses e câncer de mama.
- Hipertrofia das mamas e útero.
- Mama esquerda ligeiramente tumefacta.
- Tetos rachados e escoriados.
- Endurecimento da glândula mamária; mamas duras como pedras após o desmame.
- Mama quente, dolorida, inchada; três semanas depois do parto.
- Mama inflamada, macia, muito inchada, dura, dolorida; leite espesso e filamentoso.
- Glândula mamária cheia de nodosidades duras e doloridas.
- Vermelhidão, sensibilidade, e indurações nodulares das mamas.
- Poucos dias após o parto as mamas tornaram-se subitamente duras e inflamadas e o fluxo de leite cessou; mama esquerda muito edemaciada; dores agudas e lancinantes.
- As mamas apresentam uma tendência forte a endurecer, especialmente quando a supuração é inevitável.
- Inflamação da glândula mamária: o pus formado foi lancetado; aparecimento de fístulas.
- Abscessos mamários; diversos nódulos doloridos e três fístulas com secreção sero-purulenta.
- Glândula mamária aumentada.
- Úlceras fistulosas e granulações insalubres com descargas fétidas.
- Mamas endurecidas; tetos fissurados e escoriados.

4.5.3 Tratamento Homeopático

Levando-se em consideração o conceito de “Gênio Medicamentoso” (HAHNEMANN, 1995; BENEZ, 2002) o grupo tratado recebeu o medicamento *Phytolacca decandra* 30CH, escolhido de acordo com a repertorização segundo Kent (2004) e pelos estudos das Matérias Médicas de Hering (2004). Este medicamento demonstrou ter grande ação sobre afecções das glândulas mamárias, particularmente nas mastites tanto clínicas (ALMEIDA, 2004) como subclínicas (MANGIÉRI et. al., 2007), que utilizaram a *Phytolacca decandra* 6CH.

O medicamento homeopático foi adquirido em glóbulos e administrado a cada trinta dias no primeiro grupo de animais e a cada 15 dias no segundo grupo, durante um período de três meses para cada grupo. Para ambos, os glóbulos foram diluídos em água e a solução foi aspergida nas mucosas oro-nasal ou vaginal dos animais. Este método é denominado de *plus* de acordo com descrição de Hahnemann (1995).

A administração do medicamento feita por essas vias confere maior praticidade de execução em nível de campo e, as aplicações foram realizadas sempre no período que antecedia a uma das ordenhas, quando os animais deveriam necessariamente estar contidos para o manejo rotineiro da ordenha.

No tratamento placebo, houve aspersão da solução preparada com glóbulos de lactose inertes diluídos em água com as mesmas frequências e vias de administração dos dois grupos tratados com medicamento homeopático.

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o “software” GRAPHPAD INSTAT 1990-93 e os testes estatísticos empregados nas diversas análises foram: Friedman para comparar os dados de gordura, proteína, lactose, ST, ESD, CMT, CCS log, PMN log e MN log dentro de cada grupo; Kruskal-Wallis para as mesmas análises além da produção leiteira, entre os diferentes grupos; análise de variância para a produção leiteira dentro do mesmo grupo; Teste T Pareado para análise de PMN e MN dentro dos mesmos grupos e Qui-Quadrado para análises das frequências de microrganismos.

5 RESULTADOS

5.1 ETAPA I

5.1.1 Contagem de Células Somáticas (CCS)

As contagens absolutas e relativas de PMN foram estatisticamente maiores ($P < 0,0001$) que as contagens de MN, em todos os meses do experimento, tanto para o grupo tratado mensalmente com *Phytolacca decandra* 30CH quanto com placebo (Tabela 1).

Tabela 1 Comparações das medianas das avaliações de CMT, contagens totais de células somáticas (CCS), contagens totais e porcentagens de células polimorfonucleares (PMN) e de mononucleares (MN) dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

			CMT	CCS x10 ³	PMN		MN	
					x10 ³	%	x10 ³	%
Phyt 30CH	Mês 01	Mín	2	202	144	62	26	10
		Mediana	3	467	354 ^a	73	121	27
		Máx	3	2.587	1.940	90	646	14
	Mês 02	Mín	1	171	147	52	135	38
		Mediana	3	618	444 ^b	72	157	28
		Máx	3	3.980	2.985	86	995	48
	Mês 03	Mín	0	115	86	41	44	13
		Mediana	3	486	373 ^c	70	152	30
		Máx	3	5.053	3.126	87	881	59
Placebo	Mês 01	Mín	2	206	150	55	25	12
		Mediana	3	628	357 ^d	75	163	25
		Máx	3	1.310	995	88	434	45
	Mês 02	Mín	1	72	59	54	12	15
		Mediana	2	652	391 ^e	74	173	26
		Máx	3	4.943	3.460	85	1.482	46
	Mês 03	Mín	0	26	18	51	7	11
		Mediana	2	344	259 ^f	72	137	28
		Máx	3	3.856	3.431	89	1.016	49

a,b,c,d,e,f = Mediana de porcentagens de PMN estatisticamente significativa (P<0,0001) quando comparada à de mediana de MN

5.1.2 Composição do Leite e Produtividade Leiteira

5.1.2.1 Extrato Seco Desengordurado (ESD)

Houve aumento significativo de ESD ao longo do tratamento dentro do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30 CH em doses mensais, enquanto o grupo Placebo não apresentou mudanças significantes no mesmo período (Tabela 2).

Tabela 2 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de extrato seco desengordurado (ESD) dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	7,53	8,01	6,92
	Mediana	8,23 ^{ab}	8,48 ^a	8,41 ^b
	Máx	9,02	9,12	9,24
Placebo	Mín	7,95	6,49	7,71
	Mediana	8,47	8,73	8,69
	Máx	9,22	9,31	9,36

a = Mediana de teor de ESD no mês 01 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,0001$) quando comparada à de mediana do mês 02

b = Mediana de teor de ESD no mês 02 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada à de mediana do mês 03

5.1.2.2 Gordura

Houve aumento estatisticamente significativo ($P < 0,01$ e $P < 0,001$) de gordura ao longo do tratamento dentro dos grupos tratado com *Phytolacca decandra* 30 CH e um aumento estatisticamente significativo ($P < 0,01$ e $P < 0,05$) no grupo placebo administrados em doses mensais (Tabela 3).

Tabela 3 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de gordura dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos -, Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	0,57	0,82	1,15
	Mediana	1,33 ^{ab}	1,74 ^a	1,98 ^b
	Máx	1,85	2,68	2,95
Placebo	Mín	0,76	0,66	1,04
	Mediana	1,40 ^c	1,45 ^d	1,73 ^{cd}
	Máx	2,80	3,27	4,78

a = Mediana de teor de gordura no mês 01 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,01$) quando comparada à de mediana do mês 02

b = Mediana de teor de gordura no mês 02 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,001$) quando comparada à de mediana do mês 03

c = Mediana de teor de gordura no mês 01 do tratamento mensal com Placebo estatisticamente significativa ($P < 0,01$) quando comparada à de mediana do mês 03.

d = Mediana de teor de gordura no mês 02 do tratamento mensal com Placebo estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada à de mediana do mês 03

5.1.2.3 Lactose

Não houve alteração significativa de Lactose ao longo do tratamento dentro do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH nem dentro do grupo Placebo administrados em doses mensais, nem tampouco houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos para porcentagem de lactose nas amostras de leite colhidas (Tabela 4).

Tabela 4 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de lactose dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	3,7	3,92	3,27
	Mediana	4,37	4,37	4,54
	Máx	4,85	4,85	5,05
	Mín	4,16	2,93	3,98
Placebo	Mediana	4,58	4,58	4,63
	Máx	4,92	5,03	5,1

5.1.2.4 Proteína

Houve um aumento estatisticamente significativo ($P < 0,001$) de proteína entre o primeiro e o segundo mês de tratamento e um aumento estatisticamente significativo ($P < 0,05$) entre o primeiro e o terceiro mês de tratamento dentro do grupo tratado em doses mensais com *Phytolacca decandra* 30CH.

Ocorreu um aumento estatisticamente significativo ($P < 0,01$) entre o primeiro mês e o segundo e terceiro meses no grupo Placebo administrados em doses mensais.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos para porcentagem de proteína nas amostras de leite colhidas (Tabela 5).

Tabela 5 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de proteína dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	2,59	2,84	2,80
	Mediana	2,86 ^{ab}	3,20 ^a	3,11 ^b
	Máx	3,53	3,47	3,55
Placebo	Mín	2,57	2,70	2,74
	Mediana	2,92 ^{cd}	3,17 ^c	3,11 ^d
	Máx	3,53	3,52	3,55

a = Mediana de teor de proteína no mês 01 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,001$) quando comparada à de mediana do mês 02

b = Mediana de teor de proteína no mês 02 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada à de mediana do mês 03

c = Mediana de teor de proteína no mês 01 do tratamento mensal com Placebo estatisticamente significativa ($P < 0,01$) quando comparada à de mediana do mês 02.

d = Mediana de teor de proteína no mês 01 do tratamento mensal com Placebo estatisticamente significativa ($P < 0,01$) quando comparada à de mediana do mês 03

5.1.2.5 Sólidos Totais (ST)

Houve incremento estatisticamente significativo ($P < 0,001$) tanto nas porcentagens de sólidos totais ao longo dos meses de tratamento dentro do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH, assim como dentro do grupo Placebo administrados em doses mensais. Ambos tiveram um aumento das concentrações desse parâmetro.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos para porcentagem de lactose nas amostras de leite colhidas (Tabela 6).

Tabela 6 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de sólidos totais (ST) dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	8,57	9,29	8,96
	Mediana	9,56 ^{ab}	10,30 ^a	10,58 ^b
	Máx	10,43	11,56	11,08
Placebo	Mín	9,00	7,74	8,75
	Mediana	9,79 ^c	10,05	10,36 ^c
	Máx	11,91	12,19	13,53

a = Mediana de teor de ST no mês 01 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,001$) quando comparada à de mediana do mês 02

b = Mediana de teor de ST no mês 02 do tratamento mensal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,001$) quando comparada à de mediana do mês 03

c = Mediana de teor de ST no mês 01 do tratamento mensal com Placebo estatisticamente significativa ($P < 0,001$) quando comparada à de mediana do mês 03.

5.1.2.6 Produtividade Leiteira

Não foi observada nenhuma alteração estatisticamente significativa nos índices de produção leiteira nos animais de ambos os grupos (Quadro 3).

		11 dias antes 1 ^a medicação	3 dias depois 1 ^a medicação	16 dias depois 1 ^a medicação	3 dias depois 2 ^a medicação	17 dias depois 2 ^a medicação
Phyt 30 CH	Mín	10.8	13.0	13.0	9.8	9.4
	Mediana	28.0	31.6	29.6	27.2	26.8
	Máx	39.8	40.2	40.8	39.8	41.6
Placebo	Mín	16,8	14,6	16,6	7,0	16,2
	Mediana	24,8	23,8	23,2	24	23
	Máx	38,0	32,4	44,8	30,8	30,2

Quadro 3 Medianas, Mínimas e Máximas da produção leiteira (L/dia) das vacas tratadas com *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo mensalmente. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

5.1.3 Avaliação Microbiológica

Dos isolamentos microbiológicos no grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH mensalmente, antes do início da medicação, o *Corynebacterium bovis* foi mais freqüente com diferença estatisticamente significativa do que *Staphylococcus intermedius* e *Streptococcus dysgalactiae* no primeiro mês do experimento e mais freqüente que *Streptococcus agalactiae* no segundo mês do experimento. Ao final do tratamento não havia diferença significativa entre os microrganismos isolados (Tabela 7).

Tabela 7 Frequência de isolamento de microrganismos nas amostras de leite do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH em administrações mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

MICRORGANISMO	ETAPA I					
	Mês 01		Mês 02		Mês 03	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	12	52,2 ^a	11	47,8 ^b	11	52,2
<i>Staphylococcus intermedius</i>	2	8,7	7	30,4	7	26,1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0,0	1	4,4	1	0,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	3	13,0	0	0,0	0	0,0
Negativo	6	26,1	4	17,4	4	21,7
TOTAL	23	100	23	100	23	100

a = Frequência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada a *Staphylococcus intermedius* e *Streptococcus dysgalactiae*

b = Frequência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada a *Streptococcus agalactiae*

Dos isolamentos microbiológicos no grupo placebo administrado mensalmente, antes do início da medicação no primeiro mês do experimento, o *Corynebacterium bovis* foi mais freqüente com diferença estatisticamente significativa do que *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus lutrae* e *Staphylococcus intermedius*; no segundo mês de experimento o *Corynebacterium bovis* foi mais freqüente com diferença estatisticamente significativa do que *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus uberis*; no terceiro mês de experimento o *Corynebacterium bovis* foi mais freqüente com diferença estatisticamente significativa do que *Staphylococcus intermedius* e *Streptococcus uberis*. Não houve diferença significativa entre os microrganismos isolados no decorrer dos meses (Tabela 8).

Tabela 8 Frequência de isolamento de microrganismos nas amostras de leite do grupo tratado com Placebo em administrações mensais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

MICRORGANISMO	ETAPA I					
	Mês 01		Mês 02		Mês 03	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	11	44,0 ^a	10	40,0 ^b	14	56,0 ^c
<i>Staphylococcus intermedius</i>	3	12,0	1	4,0	4	16,0
<i>Staphylococcus lutrae</i>	2	8,0	3	12,0	0	0,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	4,0	2	8,0	0	0,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	4,0	2	8,0	0	0,0
<i>Streptococcus uberis</i>	0	0,0	0	0,0	1	4,0
Negativo	7	28,0	7	28,0	6	24,0
TOTAL	23	100	23	100	23	100

a = Frequência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada a *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus lutrae* e *Staphylococcus intermedius*.

b = Frequência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada a *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Staphylococcus intermedius*.

c = Frequência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada a *Streptococcus uberis* e *Staphylococcus intermedius*.

A única diferença estatisticamente significativa entre os grupos no primeiro mês desta etapa foi a maior frequência de *Staphylococcus intermedius* no grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH mensalmente, quando comparado com o grupo placebo (Tabela 9).

Tabela 9 Comparação da frequência de isolamento de microrganismos nas amostras de leite do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH e com Placebo em administrações mensais, no segundo mês do experimento. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

MICRORGANISMOS	<i>Phytolacca</i> 30CH		Placebo	
	N	(%)	n	(%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	11	47,8	10	40,0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	7	30,4 ^a	1	4,0
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	0,0	0	0,0
<i>Staphylococcus lutrae</i>	0	0,0	3	12,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	4,4	2	8,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	0	0,0	2	8,0
<i>Streptococcus uberis</i>	0	0,0	0	0,0
Negativo	4	17,4	7	28,0
TOTAL	23	100	25	100

a = Frequência de *Staphylococcus intermedius* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) no grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH quando comparada ao grupo tratado com Placebo em administrações mensais.

5.2 ETAPA II

5.2.1 Contagem de Células Somáticas (CCS)

As contagens absolutas e relativas de PMN foram maiores que as contagens de MN com significância estatística de $P < 0,0001$ em todos os meses do tratamento quinzenal, tanto para o grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH como o grupo tratado com placebo (Tabela 10).

Tabela 10 Comparações das medianas das avaliações de CMT, contagens de células somáticas (CCS), contagens totais e porcentagens de células polimorfonucleares (PMN) e de mononucleares (MN) dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo- 2008

			CMT	CCS x10 ³	PMN		MN	
					x10 ³	%	x10 ³	%
Phytolacca 30CH	Mês 01	Mín	1	400	241	35	5	6
		Mediana	3	982	456 ^a	61	23 ^a	39
		Máx	3	2.900	2.73	94	24	65
	Mês 02	Mín	2	263	205	55	8	9
		Mediana	3	580	345 ^b	62	23 ^b	38
		Máx	3	2.880	2.563	91	24	45
	Mês 03	Mín	0	129	77	42	8	5
		Mediana	3	584	339 ^c	65	22 ^c	35
		Máx	3	2.549	1.656	95	25	58
Placebo	Mês 01	Mín	1	245	88	35	17	22
		Mediana	3	994	636 ^d	60	23 ^d	40
		Máx	3	5.147	4.014	78	24	65
	Mês 02	Mín	0	77	30	40	21	30
		Mediana	2	630	415 ^e	65	22 ^e	35
		Máx	3	1.548	835	70	24	60
	Mês 03	Mín	0	42	31	58	15	19
		Mediana	2	421	273 ^f	65	22 ^f	35
		Máx	3	1.691	1.031	81	24	42

a,b,c = Mediana de porcentagens de PMN estatisticamente significativa (P<0,0001) quando comparada à de mediana de MN

d,e,f = Mediana de porcentagens de PMN estatisticamente significativa (P<0,005) quando comparada à de mediana de MN

5.2.2 Composição do Leite e Produtividade Leiteira

5.2.2.1 Extrato Seco Desengordurado (ESD)

Não houve alteração significativa de ESD ao longo do tratamento dentro do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30 CH e nem do grupo tratado com placebo em doses quinzenais, nem tampouco entre os dois grupos (Tabela 11).

Tabela 11 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de extrato seco desengordurado (ESD) dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, Estado de São Paulo, 2008 Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	7,1	7,44	7,82
	Mediana	8,09	8,36	8,16
	Máx	9,47	9,89	9,92
Placebo	Mín	4,59	4,34	6,58
	Mediana	8,52	8,56	8,59
	Máx	9,04	9,28	9,14

5.2.2.2 Gordura

Não houve alteração estatisticamente significativa de gordura ao longo do tratamento dentro dos grupos tratado com *Phytolacca decandra* 30 CH e placebo, em doses quinzenais. Tampouco houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos (Tabela 12).

Tabela 12 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de gordura dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, Estado de São Paulo, 2008 Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	0,6	0,9	0,4
	Mediana	1,30	1,58	1,26
	Máx	4,64	2,15	3,83
Placebo	Mín	0,6	0,75	0,6
	Mediana	0,95	2,02	1,05
	Máx	2,84	2,61	1,98

5.2.2.3 Lactose

O grupo *Phytolacca decandra* 30CH administrada quinzenalmente não apresentou mudanças significantes no período.

Entretanto, no grupo que recebeu Placebo quinzenalmente houve aumento significativo ($P < 0,05$) no segundo mês do tratamento e não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos estudados nesse período (Tabela 13).

Tabela 13 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de lactose dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	3,36	3,60	3,63
	Mediana	4,46	4,56	4,34
	Máx	4,82	4,76	4,65
Placebo	Mín	1,53	1,19	2,34
	Mediana	4,44 ^a	4,73	4,60
	Máx	5,07	4,84	4,69

a = Mediana de teor de lactose no mês 02 do tratamento quinzenal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada à de mediana do mês 02

5.2.2.4 Proteína

Houve aumento significativo ($P < 0,05$) de proteína ao longo do tratamento dentro do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30 CH em doses quinzenais, entretanto o grupo Placebo não apresentou mudanças significantes no mesmo período e nem houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (Tabela 14).

Tabela 14 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de proteína dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	2,56	2,67	2,57
	Mediana	3,00 ^a	3,08 ^a	3,02
	Máx	4,28	4,37	4,33
Placebo	Mín	2,66	2,76	3,02
	Mediana	3,33	3,27	3,26
	Máx	3,39	3,53	3,51

a = Mediana de teor de lactose no mês 01 do tratamento quinzenal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada à de mediana do mês 02

5.2.2.5 Sólidos Totais (ST)

Não houve alteração estatisticamente significativa na porcentagem de sólidos totais ao longo do tratamento dentro dos grupos tratado com *Phytolacca decandra* 30 CH e placebo, em doses quinzenais e tampouco houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos (Tabela 15).

Tabela 15 Medianas, mínimas e máximas das porcentagens de sólidos totais (ST) dos grupos experimentais tratados com medicamento *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo em repetições quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

GRUPO	%	Mês		
		01	02	03
<i>Phytolacca</i> 30CH	Mín	8,40	9,11	8,39
	Mediana	9,54	9,98	9,52
	Máx	14,00	12,04	13,70
Placebo	Mín	5,47	5,09	7,38
	Mediana	9,52	10,78	10,04
	Máx	11,36	11,85	10,57

5.2.2.6 Produtividade Leiteira

No grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH quinzenalmente ocorreu uma diminuição estatisticamente significativa ($P<0,05$) dois dias após a terceira medicação, entretanto, ao final do experimento a produção havia retornado aos níveis iniciais.

No grupo tratado Placebo quinzenalmente ocorreu uma diminuição estatisticamente significativa ($P<0,05$ e $P<0,01$) três dias após a primeira medicação e quatro dias após a segunda medicação respectivamente, entretanto, ao final do experimento a produção havia retornado aos níveis iniciais.

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos de tratamentos (Quadro 4).

		12 dias antes da 1ª medicação	3 dias depois da 1ª medicação	4 dias depois da 2ª medicação	2 dias depois da 3ª medicação	16 dias depois da 3ª medicação
Phyt 30CH	Mín	6,20	10,00	7,80	6,80	8,80
	Mediana	34,60 ^a	32,10	30,40	28,70 ^a	29,10
	Máx	39,40	36,40	35,40	32,40	32,40
Placebo	Mín	28,40	26,40	17,40	14,40	26,60
	Mediana	32,20 ^{bc}	30,40 ^b	25,60 ^c	28,00	29,20
	Máx	37,00	34,60	27,00	29,80	30,40

a = Mediana de produtividade leiteira 12 dias antes da 1ª medicação no tratamento quinzenal com *Phytolacca decandra* 30CH estatisticamente significativa ($P<0,05$) quando comparada à de mediana de 2 dias depois da 3ª medicação

b = Mediana de produtividade leiteira 12 dias antes da 1ª medicação no tratamento quinzenal com Placebo estatisticamente significativa ($P<0,05$) quando comparada à de mediana de 3 dias depois da 1ª medicação

c = Mediana de produtividade leiteira 12 dias antes da 1ª medicação no tratamento quinzenal com Placebo estatisticamente significativa ($P<0,01$) quando comparada à de mediana de 4 dias depois da 2ª medicação

Quadro 4 Medianas, Mínimas e Máximas da produção leiteira (L/dia) das vacas tratadas com *Phytolacca decandra* 30CH e placebo quinzenalmente. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

5.2.3 Avaliação Microbiológica

No grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH quinzenalmente, no primeiro mês do experimento, o *Corynebacterium bovis* foi mais freqüente com diferença estatisticamente significativa, do que *Staphylococcus intermedius* e *Streptococcus dysgalactiae*. Ao final do tratamento não havia diferença significativa entre os microrganismos isolados (Tabela 16).

Tabela 16 Freqüência de isolamento de microrganismos nas amostras de leite do grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH em administrações quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, Estado de São Paulo, 2008.

MICRORGANISMO	ETAPA II					
	Mês 01		Mês 02		Mês 03	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	7	50,0 ^a	3	21,4	5	35,7
<i>Candida krusei</i>	2	14,4	2	14,4	2	14,4
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1	7,1	1	7,1	1	7,1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0,0	1	7,1	0	0,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	7,1	1	7,1	1	7,1
Negativo	3	21,4	6	42,9	5	35,7
TOTAL	14	100,00	14	100,00	14	100,00

a = Freqüência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) quando comparada a *Streptococcus dysgalactiae* e *Staphylococcus intermedius*.

Nos isolamentos microbiológicos no grupo placebo administrado quinzenalmente, não houve diferença significativa entre os microrganismos isolados no decorrer dos meses (Tabela 17).

Tabela 17 Freqüência de isolamento de microrganismos nas amostras de leite do grupo tratado com Placebo em administrações quinzenais. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

MICRORGANISMO	ETAPA II					
	Mês 01		Mês 02		Mês 03	
	Nº	(%)	Nº	(%)	Nº	(%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	6	66,7	7	77,8	5	55,6
Negativo	3	33,3	2	22,2	4	44,4
TOTAL	9	100,00	9	100,00	9	100,00

A única diferença estatisticamente significativa entre os grupos desta etapa, foi a maior freqüência de *Corynebacterium bovis* no segundo mês de tratamento, para o grupo placebo quando comparado com o grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH mensalmente (Tabela 18).

Tabela 18 Comparação da freqüência de *Corynebacterium bovis* no segundo mês de tratamento entre os grupos de tratamento com *Phytolacca decandra* 30 CH e Placebo. Embrapa Pecuária Sudeste - São Carlos - Estado de São Paulo - 2008

MICRORGANISMOS	Phyt 30CH		Placebo	
	Nº	(%)	Nº	(%)
<i>Corynebacterium bovis</i>	3	21,4	7	77,8
<i>Candida krusii</i>	2	14,3	0	0,0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1	7,1	0	0,0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	7,1	0	0,0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	7,1	0	0,0
Negativo	6	42,8	2	22,2
TOTAL	14	100	9	100

a = Freqüência de *Corynebacterium bovis* estatisticamente significativa ($P < 0,05$) no grupo Placebo quando comparada ao grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH em administrações quinzenais.

6 DISCUSSÃO

Sob o aspecto sanitário, a mastite constitui um dos fatores que mais compromete a qualidade do leite. Trata-se de um quadro mórbido complexo, caracterizado por um processo inflamatório na glândula mamária. Estes quadros interferem com a produção leiteira tanto no aspecto qualidade quanto em quantidade, sendo capaz de promover alterações de natureza física, química e, freqüentemente, microbiológicas do leite e também alterações patológicas no tecido glandular. Distintas formas de agressão ao tecido glandular levam a um processo de mastite (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

A demanda de qualidade do leite é crescente não só pela indústria (BRITO; BRITO, 1998; PEREIRA et al., 1997; PYORÄLA, 2003) como também pela população que está preocupada com a presença de resíduos em alimentos, além da expansão dos sistemas de produção pecuária orgânica, fazendo com que métodos diferentes daqueles conhecidos convencionalmente sejam adotados (FONSECA, 2001; MITIDIERO, 2002).

Baseado nessa demanda crescente de ausência de resíduos no leite e na alternativa aos tratamentos convencionais é que este trabalho foi idealizado e conduzido.

O leite é avaliado por parâmetros de composição que são utilizados para atestar sua qualidade. Entre esses parâmetros podem ser citados: proteína (2,8%-4,5%), gordura (2,4%-5,5%), lactose (3,5%-6,0%), ESD (7,9%-10,0%), ST (11,58%-13,82%). Os mesmos são de suma importância para a indústria, uma vez que eles influenciarão diretamente na elaboração e qualidade dos produtos lácteos (FONSECA; SANTOS, 2000).

Na Instrução Normativa do MAPA N° 51 (BRASIL, 2002) são os valores mínimos exigidos para teores de proteína, gordura e ESD que são 2,9%, 3,0% e 2,9%, respectivamente.

Tais parâmetros foram empregados neste trabalho, verificando-se que nos grupos experimentais os índices de ESD, lactose e proteína estavam dentro dos padrões normais e que os índices de gordura e ST mantiveram-se abaixo dos índices considerados normais.

Entretanto, na primeira etapa do trabalho houve um aumento estatisticamente significativo para ESD no grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH e de gordura, proteína e ST para ambos os grupos: *Phytolacca decandra* 30CH e placebo.

Na segunda etapa do estudo, no grupo *Phytolacca decandra* 30CH houve um aumento estatisticamente significativo de proteína e de lactose no grupo placebo.

De acordo com os parâmetros da Instrução Normativa Nº 51 (BRASIL, 2002), ao final do experimento, os índices de gordura de ambos os grupos estiveram muito abaixo do valor mínimo estipulado, que é de 3,0%. Os valores encontrados para os grupos *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo na primeira etapa chegaram ao máximo de 1,98% e 1,73%, respectivamente, e para os grupos *Phytolacca decandra* 30CH e Placebo na segunda etapa chegaram ao máximo de 1,58% e 2,02%, respectivamente. Em relação ao ESD, ao final do estudo, o grupo tratado com *Phytolacca decandra* 30CH em administrações quinzenais, ficou abaixo da exigência da mesma Instrução Normativa, portanto estariam automaticamente desclassificados.

Não houve diferença significativa entre os diversos índices dos grupos tratados.

Do ponto de vista de saúde pública, os casos de doenças associadas ao consumo de leite ou derivados lácteos contaminados com microrganismos patogênicos, por suas toxinas ou fatores de virulência, causam sérios transtornos aos consumidores que vão desde leves toxiinfecções alimentares até um choque letal (CARDOSO; CARMO; SILVA, 2000; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

Podem ser citados alguns microrganismos potencialmente zoonóticos encontrados no leite e seus derivados: *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus*, *Staphylococcus aureus*, determinados sorotipos de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, entre outros (REBHUN, 1995; COSTA, 1998; LANGONI, 2007).

Embora com menor importância zoonótica, o *Corynebacterium bovis* também já foi relatado causando problemas na saúde humana. Considerando-se que se trata de um microrganismo freqüentemente encontrado nas mastites dos bovinos, isto passa a ser importante também para a saúde humana, especialmente dos profissionais que têm contato direto com esses rebanhos, assim como para pessoas imunocomprometidas em geral (BERNARD et al., 2002; DUTLY, GRUBENMANN;

GOLDENBERGER, 2003; HUXLEY; HELPS; BRADLEY, 2004; ZANI, 2005; DALAL et al., 2008).

Costa et al. (1985), isolaram *Corynebacterium bovis* em cultura pura em 27,45% de 2.935 amostras de leite colhidas no estado de São Paulo. No ano 2000, Costa et al. realizaram análises microbiológicas em sete bacias leiteiras no estado de São Paulo, positivas para o teste de Tamis e CMT. A prevalência de *Corynebacterium sp* foi de 30,34% em propriedades produtoras de leite tipo “B” e de 54,09% em propriedades de leite tipo “A”.

No presente trabalho o *Corynebacterium bovis* foi o microrganismo isolado com maior freqüência no rebanho estudado, estando de acordo com Costa et al. (2000) que também obtiveram achados semelhantes. Além de ser encontrado com alta freqüência sua presença eleva consideravelmente a contagem de células somáticas dos quartos acometidos (BROOKS et al., 1983; BROOKS; BARNUM, 1984; PANKEY et al., 1985; SORDILLO et al., 1989; ZANI, 2005).

Esta ocorrência observada no rebanho estudado chamou a atenção, uma vez que de modo geral não é um microrganismo que tradicionalmente cause qualquer tipo de preocupação do ponto de vista de saúde humana.

Thiers et al. (1999), estudando a celularidade do leite de vacas com mastite clínica e subclínica sem tratamento nos quartos envolvidos, verificaram uma correlação altíssima entre CMT e CCS direta, o que possibilita a utilização deste teste ao nível de campo com grande segurança.

O método direto de observação de aumento de leucócitos no leite devido a um processo inflamatório na glândula mamária é através da CCS, que pode ser realizado por métodos eletrônicos ou por microscopia óptica (RIBAS, 1996; LANGONI, 2000). Por esta metodologia é possível diferenciar e quantificar a presença de PMN e MN presentes na secreção láctea e não somente a determinação do número absoluto das mesmas (SCHALM; CARROLL; JAIN; 1971; BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

De acordo com Philpot e Nickerson (1991), na glândula infectada, as células de defesa correspondem de 98 a 99% das células encontradas no leite, e segundo Ribas (1996) esse número está entre 75% e 98% do total da CCS. Pelos estudos de Paape et al. (1979), na glândula mamária infectada predominam principalmente os neutrófilos e segundo Schalm, Carroll e Jain (1971) o número de PMN nos quadros de mastite ficam entre 80% e 90%. Os linfócitos perfazem de 20 a 40% do total de

células e o restante corresponde a macrófagos e células secretoras descamadas (DANIEL et al., 1991).

Elevadas contagens de PMN indicam um quadro de inflamação aguda, contudo contagens baixas, como por exemplo de 40%, podem ser indicativos de uma lesão crônica (BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

Através desse método direto de observação, foi possível verificar no presente trabalho a proporção de PMN e de MN nas amostras de leites estudadas e constatar que a maior proporção de PMN em relação aos MN, que são constatados normalmente em mastites agudas.

Embora as medianas das contagens totais de CCS encontradas sejam inferiores quando comparadas por aquelas encontradas por Thiers et al. (2001), as medianas de CMT e porcentagens de PMN do presente trabalho indicaram infecções agudas. Contudo, nenhum dos animais dos grupos estudados apresentou ao longo do experimento sinais de mastite clínica.

No presente estudo, os resultados de CMT das amostras analisadas corresponderam ao quadro de mastite aguda de acordo com o encontrado na literatura (BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

Esta metodologia prática e acessível permite fazer uma melhor avaliação do quadro em questão e com isto avaliar a estratégia de abordagem terapêutica homeopática do rebanho.

Quanto à produtividade leiteira, nada foi observado durante a condução do presente trabalho. Os índices de produtividade se mantiveram estatisticamente inalterados ao longo de todo o período para todos os grupos experimentais. Diferentemente de Mangiéri et al (2007), que observaram incremento da produção leiteira após o tratamento com *Phytolacca decandra* 6CH em vacas com mastite subclínica.

Em relação ao poder curativo dos medicamentos homeopáticos, este depende dos sintomas serem semelhantes aos da doença, mas superiores em força, de modo a eliminá-los e remover a doença natural de maneira mais correta, radical, rápida e permanente do organismo apenas por um remédio (HAHNEMANN, 1995).

Em trabalhos semelhantes utilizando homeopatia no tratamento de mastites, alguns autores trabalharam utilizando bioterápicos feitos a partir do leite contaminado ou de microrganismos isolados envolvidos no surgimento do quadro

infeccioso, associados ou não a medicamentos homeopáticos (EGAN, 1998; BARLOW et al., 2001; MITIDIERO, 2002; THOMAZ, 2004).

Thomaz (2004) utilizou uma associação do medicamento homeopático *Silicea terra* 12CH e de um bioterápico 30CH composto dos seguintes gêneros de microrganismos *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* e *Serratia*, no tratamento de mastites subclínicas, e concluiu que esse tratamento não foi eficaz para reduzir o número de animais afetados.

Em seu trabalho, Mitidiero (2002) utilizou preventiva e terapeuticamente bioterápicos em complexo constituído de estirpes bacterianas provenientes de leite infectado, um complexo de medicamentos homeopáticos composto por: *Lac vaccinum defloratum* 12CH, *Carbo animalis* 12CH, *Phytolacca decandra* 12CH, *Pulsatilla nigricans* 12CH, *Sulphur* 12CH, *Silicea terra* 30CH, um auto-isoterápico 30CH e o bioterápico *Staphylococcinum* 12CH. De acordo com esta autora, o uso de medicamentos homeopáticos em complexo, bioterápicos e fitoterápicos associados permitem manter a sanidade do rebanho em padrões semelhantes aos da alopatia, constituindo-se assim em opção viável para a bovinocultura leiteira. No entanto, segundo a autora, o bioterápico, bem como qualquer medicamento de outras terapêuticas, pode não responder de forma desejável a todos os animais.

Barlow et al. (2001) utilizaram um complexo de bioterápicos na 30CH, composto pelos seguintes agentes infecciosos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalatiae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* no tratamento de mastite subclínica. Neste trabalho não foi encontrada diferença significativa entre o grupo tratado com os bioterápicos e o grupo controle que era tratado com placebo.

No trabalho de Egan (1998), pesquisando 234 propriedades leiteiras, encontrou que 22,2% (52) utilizavam bioterápicos no tratamento de mastite clínica e destes 43,8% (21) informaram ter obtido sucesso no tratamento.

Hovi e Roderick (2000) observaram que a homeopatia, particularmente bioterápicos, era utilizada para controle de mastite em 49,8% de 34 fazendas orgânicas de leite avaliadas no Reino Unido.

Almeida et al. (2005) utilizaram com resultados satisfatórios, auto-bioterápicos na 12CH produzidos a partir de amostras de leite infectado proveniente de vacas com mastite subclínica durante 21 dias consecutivos, três vezes ao dia.

Embora alguns autores tenham descrito resultados positivos com o uso de bioterápicos, a opção foi de não utilizá-los neste trabalho. É muito grande a variedade e quantidade de protocolos nos quais são utilizados bioterápicos em associação ou não a medicamentos homeopáticos. Isso leva a dúvidas quanto à potência, frequência, via de administração, espécie de microrganismo isolado, e o quanto estes fatores interferem no resultado dos tratamentos.

Coletar material para a produção de um auto-bioterápico como realizado por Egan (1998); Barlow et al. (2001); Mitidiero (2002) e Thomaz (2004), citados anteriormente, também é demorado uma vez que há necessidade de isolar primeiro os agentes envolvidos naquele quadro clínico para só posteriormente elaborar o medicamento. Essa opção dificulta e onera a prática da homeopatia na produção animal e é praticamente impossível em grande parte das propriedades leiteiras do país, onde não há disponibilidade de laboratórios de microbiologia e nem farmácias homeopáticas que tenham instalações legalmente adequadas para a manipulação de microrganismos.

Em trabalhos pesquisando a ocorrência de microrganismos nas mastites subclínicas, é usual que só sejam identificados os gêneros de alguns agentes envolvidos (BRITO et al., 1999; ZAFALON et al., 1999; BENITES; COSTA; MELVILLE, 2003; MANGIERI et al., 2007). Muitas vezes a variedade de espécies só consegue ser identificada através de complexas e onerosas análises que incluem análises genéticas dos microrganismos (DULTY et al., 2003; HUXLEY; HELPS; BRADLEY, 2004; WATTS et al., 2000).

Mesmo que seja utilizado um complexo composto pelos agentes infecciosos mais comumente envolvidos nas mastites subclínicas, a facilidade com que esses microrganismos sofrem mudanças, além da variabilidade e diversidade de biótipos, faria com que não houvesse garantia de se fornecer exatamente o mesmo agente envolvido no quadro daquele rebanho em questão.

Em outros trabalhos os tratamentos foram feitos somente com medicamentos homeopáticos em complexos, isto é, vários medicamentos com sintomas semelhantes, fornecidos simultaneamente aos animais (SONNENWALD, 1988; EGAN, 1995; SEARCY; REYES; GUAJARDO, 1995).

Searcy, Reyes e Guajardo (1995) optaram por um tratamento para mastite subclínica no qual foi utilizado um complexo homeopático composto de *Phytolacca*

decandra 200CH, *Phosphorus 200CH* e *Conium maculatum 200CH* com bons resultados quando comparado ao grupo controle, que só recebia placebo.

Também foi descartado o uso de vários medicamentos homeopáticos em complexo, conforme descrito acima, porque os efeitos desses medicamentos fornecidos simultaneamente são desconhecidos, uma vez que as matérias médicas puras fazem descrições detalhadas somente dos medicamentos dados individualmente. Pode ocorrer uma potencialização, uma complementação, surgimento de efeitos inesperados ou mesmo uma anulação de ação de cada medicamento.

O próprio Hahnemann (1995) afirma que é impossível prever como duas ou mais substâncias medicinais poderiam, conjugadas, mutuamente alterar e obstar as ações de cada uma no organismo humano. Portanto, não é absolutamente permissível em homeopatia dar ao paciente duas ou mais substâncias medicinais simultaneamente.

Neste trabalho foram utilizadas vacas com diagnóstico de mastite subclínica e investigados os sinais clínicos que comumente poderiam apresentar, de acordo com o tipo de microrganismo isolado. A partir dessas informações, as vacas foram tratadas com medicamentos homeopáticos de acordo com a técnica proposta por Hahnemann (1995) de utilizar um medicamento único de cada vez, utilizando um medicamento homeopático que já estivesse descrito nas Matérias Médicas Puras de modo a ter maior segurança na escolha do medicamento que foi experimentado anteriormente e que têm seus sintomas e sinais bem conhecidos.

Na prática é possível ter uma botica homeopática na propriedade, que contenha os medicamentos mais comuns para resolver os problemas sanitários de maior frequência na rotina diária. A partir dos sinais, seleciona-se um único medicamento com maior semelhança com o problema em questão e fornece-se ao animal, observando ao longo do tratamento quais são as mudanças que ocorrem ou se é necessário mudar a medicação por outra mais adequada.

Neste trabalho, durante a entrevista com os tratadores, apurou-se que as manifestações clínicas de quadros de mastite do rebanho em questão ocorrem por aumento da consistência da glândula mamária, leite espesso com filamentos e grumos, inchaço, aumento de sensibilidade, úberes doloridos ao toque, rubor nas mamas e tetos, inchaço, calor externo, distensão e endurecimento de mamas e

tetos, fibrosamento de tecido glandular mamário, aspecto grumoso à palpação, vermelhidão e inchaço do úbere.

Baseado em todas essas informações, optou-se por utilizar o medicamento homeopático *Phytolacca decandra* 30CH, que apresentou a maior semelhança ao possível quadro de mastite clínica que os animais do presente trabalho pudessem manifestar, em doses mensais e em doses quinzenais, de modo a verificar a eficácia desse tipo de abordagem e sua aplicação na bovinocultura leiteira. A escolha da trigésima diluição centesimal deu-se em função de se tratar de um quadro crônico e a frequência de administração escolhida, foi associada à ausência de quadro clínico, o que não tornava necessária a manutenção do medicamento em níveis elevados no organismo.

Essa forma de tratamento foi baseada na proposta desenvolvida por Hahnemann (1995), que afirma que “os processos epidêmicos de febre intermitente, sob condições em que nenhuma é endêmica, são de natureza das doenças crônicas, compostas de crises individuais. Cada uma destas crises epidêmicas é de caráter peculiar, uniforme, comum a todos os indivíduos atacados e quando esta característica se encontra na totalidade dos sinais comuns a todos os casos, deve-se selecionar um medicamento adequado a todos os mesmos, o que quase sempre acaba por equilibrar a saúde prevenindo uma epidemia, isto é, os indivíduos não apresentam uma manifestação aguda de uma doença crônica”.

De acordo com Benites (2002) na prescrição da medicação homeopática deve-se iniciar o tratamento com potências médias (18 a 30); como regra geral, potências baixas (6 a 12 CH) para os casos mais orgânicos, ou lesionais; potências médias para os casos não muito graves e funcionais, e potências altas (200, 1.000, 10.000 CH) para os casos predominantemente mentais.

Mangiéri Jr. et al. (2007) utilizaram *Phytolacca decandra* 6CH diariamente durante 15 dias consecutivos em um rebanho com mastite subclínica. Verificou-se que não houve diferença significativa entre CCS e a presença de microrganismos da secreção láctea das glândulas quando comparadas antes e depois do tratamento homeopático, porém observou-se que a produção láctea dos animais tratados com medicamento homeopático aumentou significativamente ($P < 0,05$) em 2,5 kg leite/dia em média. No grupo tratado com placebo não houve diferença significativa na produção láctea no mesmo período.

No presente trabalho verificou-se que apesar da presença do microrganismo na glândula mamária e de elevadas porcentagens de PMN nas amostras de leite dos animais, pode-se supor que a presença dos microrganismos estivesse agindo como um estímulo para a manutenção das CCS em níveis elevados promovendo, conseqüentemente, uma imunidade elevada na glândula mamária, porém sem a presença de processo inflamatório, uma vez que não ocorreram quadros de mastite clínica.

O monitoramento dos animais estudados através dos resultados das contagens e diferenciações das células somáticas possibilita a escolha do medicamento, bem como da potência e frequência de administração do mesmo, no caso de futuros experimentos.

O presente estudo teve como objetivo facilitar e diminuir o custo de tratamento de mastite subclínica durante a lactação através da utilização mensal e quinzenal do medicamento *Phytolacca decandra* 30 CH, porém devido ao processo agudo verificado nos animais estudados, parece que o protocolo de Mangiéri et al. (2007) é mais apropriado no tratamento da mastite subclínica com 2+ ou 3+ no CMT.

Novos estudos devem ser realizados para avaliar as mastites 1+, pois nestes casos as mesmas podem ser crônicas e, portanto, seguir outro curso.

7 CONCLUSÃO

- Os protocolos do presente trabalho, utilizando *Phytolacca decandra* 30CH mensal e quinzenalmente, não conseguiram diminuir a celularidade dos quartos das vacas com mastite subclínica nem alterar os demais parâmetros de avaliação empregados.

As medianas de CMT e de porcentagens de PMN indicaram infecções mamárias agudas, embora os animais tenham sido diagnosticados como portadores de mastites crônicas.

- Estudos e pesquisas de mais protocolos homeopáticos aplicados ao tratamento de mastite bovina necessitam ser realizados e desenvolvidos, de maneira a possibilitar a adoção deste tipo de tratamento nos animais de produção de uma maneira prática e economicamente viável. As medianas de CMT e de porcentagens de PMN indicaram infecções mamárias agudas, embora os animais tenham sido diagnosticados como portadores de mastites crônicas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. C.; SOARES, T. M. P.; SILVA, D. B.; SILVEIRA, A. L. ; FIORINI, J. E.; FONSECA, Y. M. Eficácia de tratamento homeopático no controle da mastite subclínica em bovinos. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 11, n. 2, p. 53-59, 2005.

ALMEIDA, L. A. B. **Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus***. 2004. 104 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

ALMEIDA, L. A. B. Curso introdutório sobre homeopatia. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 2., 2001, Espírito Santo do Pinhal: **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 197 p.

ANDREWS, A. H. (Ed.). **Bovine medicine**. Great Britain: Blackwell, 1992.

BARLOW, J. W.; MC CRORY, L.; MULLOY, E.; BAHRAWY, D.; WOODARD, S.; CRAFT, L.; MURDOUGH, P.; PANKEY, J. W. Evaluation of a homeopathic nosode for mastitis prevention. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MASTITIS AND MILK QUALITY, 2., 2001, Vancouver. **Proceedings ...** Vancouver: BC, 2001. p. 258-262.

BENEZ, S. M. **Manual de homeopatia veterinária**. São Paulo: Robe Editorial, 2002. 594 p.

BENITES, N. R. Homeopatia. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 700-708.

BENITES, N. R. A homeopatia através dos séculos. **Clínica Veterinária**, v. 4, n. 20, p. 36, 1999.

BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; COSTA, E. O. Features and intensity of inflammatory responses in bovine mammary glands. In: SYMPOSIUM ON IMMUNOLOGY OF RUMINANT MAMMARY GLAND, 2000, Stresa. **Proceedings...** 2000. p. 30-35.

BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; COSTA, E. O. Modificação da técnica de contagem de células somáticas de Prescott & Breed utilizando-se a coloração hematoxilina e eosina. **NAPGAMA**, v. 4, n. 3, p. 6-9, 2001.

BENITES, N. R.; COSTA, E. O.; MELVILLE, P. A. Quantificação de unidades formadoras de colônias de *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp* e *Corynebacterium spp.* no leite de vacas com mastite subclínica. **NAPGAMA**, v. 6, n. 2, p. 16-19, 2003.

BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300**: Operator's manual. Chaska: [s.n.], 1995a. 12 p.

BENTLEY INSTRUMENTS. **Bentley 2000**: Operator's manual. Chaska: [s.n.], 1995b. 77 p.

BERNARD, K. A.; MUNRO, C.; WIEBE, D.; ONGSANSOY, E. Characteristics of rare or recently described *Corynebacterium* species recovered from human clinical material in Canada. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 11, p. 4375-4381, 2002.

BLOOD, D. C.; RADOSTITIS, O. M. Mastitis. In: _____. **Veterinary medicine**. 7. ed. London: Baillière Tindall, 1989. p. 501-559.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary medicine**. 7.ed. London : Baillière Tindall, 1991. p. 501-59.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de Setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 set. 2002. Seção 1, p. 13.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Qualidade higiênica do leite**. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL-ADT, 1998. p. 17.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; CORDEIRO, F. M.; COSTA, W. A.; FORTES, T. O. Caracterização de biotipos de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 425-429, 2000.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999.

BROOKS, B. W.; BARNUM, D. A. Experimental colonization of the bovine teat duct with *Corynebacterium bovis* and the effect on milk somatic cell counters. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 48, n. 2, p. 141-145, 1983.

BROOKS, B. W.; BARNUM, D. A.; MEEK, A.H. An observational study of *Corynebacterium bovis* in selected Ontario dairy herds. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 47, n. 1, p. 73-78, 1984.

BURTON, J. L.; ERSINKE, R.J. Immunity and mastitis: some new ideas for an old disease. **The Veterinary Clinics of North America**, v. 19, n. 1, p. 1-45, 2003.

CARDOSO, H. F. T.; CARMO, L. S.; SILVA, N. Detecção da toxina-1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 1, p. 7-10, 2000.

CERQUEIRA, M. M. O. P.; SENA, M. J. Produção higiênica e fatores determinantes da qualidade do leite. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 1, p. 115-134, 1998.

COELHO, V. R. P. **Avaliação de resíduos de antimicrobianos no leite de quartos mamários não tratados de vacas com mastite tratadas por via intramamária**. Pirassununga, 2003. 102 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

COSTA, E. O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.15, p. 21-26, 1991.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.

COSTA, E. O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 15-17, 1996.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 443 - 455.

COSTA, E. O.; BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; PARDO, R. B.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 156-158, 1995.

COSTA, E. O.; CARVALHO, V. M.; COUTINHO, S. D.; CASTILHO, W.; CARAMORI, L.F.L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 4, p. 65-69, 1985.

COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; WATANABE, E. T.; VALLE, C. R. Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. **NAPGAMA**, n. 4, p. 6-13, 2000.

COSTA, E. O.; RAIA, R. B.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; GROFF, M. R. Presença de resíduos de antibióticos no leite de pequena mistura de propriedades leiteiras. **NAPGAMA**, v. 2, n. 1, p. 10-13, 1999a.

COSTA, E. O.; SÁ, R.; PONCE, H.; WATANABE, E. T.; VALLE, C. R. Avaliação da terapia de mastite clínica: eficácia terapêutica medida em número de dias em tratamento. **NAPGAMA**, v. 2, n. 2, p. 10-14, 1999b.

CRAVEN, N. Generation of neutrophil chemoattractants by phagocytosing bovine mammary macrophages. **Research Veterinary Science**, v. 35, p. 310-317, 1983.

CULLEN, G. A. Cells in milk. **Veterinary Bulletin**, v. 36, p. 337-346, 1966.

DALAL, A.; URBAN, C.; AHLUWALIA, M.; RUBIN, D. *Corynebacterium bovis* line related septicemia: A case report and review of the literature. **Scandinavian Journal Of Infectious Diseases**, v. 40, p. 575-588, 2008.

DANIEL, L. R.; CHEW, B. P.; TANAKA, T. S.; TJOELKER, L. W. In vitro effects of β -carotene and vitamin A on peripartum bovine peripheral blood mononuclear cell proliferation. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 911-915, 1991.

DAY, C. **The homoeopathic treatment of beef and dairy cattle**. Oxford: Alden Press, 2001. 142 p.

DAY, C. E. I. Alternative medicine. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Bovine medicine** : diseases and husbandry of cattle. Oxford: Andrews, 1992. chap. 59, p. 886-905.

DEGRAVES, F. J.; FETROW, J. Economics of mastitis and mastitis control. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p. 421-434, 1993.

DU PREEZ, J. H.; GIESECKE, W. H. Mastitis. In: COETZER, J. A. W. (Ed). **Infectious Diseases of Livestock**. London: Oxford University Press, 1994. p. 1564-1595.

DUTLY, F.; GRUBENMANN, M.; GOLDENBERGER, D. Eye infection in a young patient by *Corynebacterium bovis*: Microbiological methods and 16S rRNA sequencing. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 26, n. 1, p. 5-7, 2003.

EGAN, J. Evaluation of a homoeopathic treatment for subclinical mastitis. **Veterinary Record**, v. 135, n. 3, p. 48, 1995.

EGAN, J. A questionnaire survey on the uptake of homoeopathic mastitis remedies in Irish dairy herds. **Irish Veterinary Journal**, v. 51, n. 3, p. 141-143, 1998.

FAGUNDES, C. M.; SANTOS, E. C.; SANTOS, E. C.; RODRIGUES, R. Prevalência de Antibióticos no Leite Tipo B e C consumido em Belo Horizonte. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 34, n.1, p. 203-206, 1982.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 34, n. 4, p. 1315-1320, 2004.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2007. 314 p.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. 1. ed. São Paulo, SP: Lemos Editorial, 2000. 175 p.

FONSECA, M. F. A. C. Cenário da Produção e da Comercialização dos Alimentos Orgânicos. In: FERNANDES, E. N.; BRESSAN, M.; VILELA, D. **Produção orgânica de leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 93-111.

FRANCO, D. A.; WEBB, J.; TAYLOR, C. E. Antibiotic and sulfonamide residues in meat: implications for human health. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 2, p.178-185, 1990.

GRAPHPAD INSTAT software. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS FOR PERSONAL COMPUTERS. 1990-1993.

HAHNEMANN, S. **Exposição da Doutrina Homeopática ou Organon da Arte de Curar**. São Paulo: Grupo de Estudos Homeopáticos de São Paulo “Benoit Mure”, 1995.

HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 1990, Arlington. **Proceedings...** Arlington, 1990. p. 34.

HERING, C. **The Guiding Symptoms of our Materia Medica**. Nova Dehli: B. Jain Publishers, 1994.

HOVI, M.; RODERICK, S. Mastitis and mastitis control strategies in organic milk. **British Cattle Veterinary Association**, v. 8, n. 3, p. 259-264, 2000.

HUNTER F. **Everyday Homeopathy for Animals**. Oxford: Beaconsfield Publishers, 2004. 480p.

HUXLEY, J.N.; HELPS, C. R.; BRADLEY, A. J. Identification of *Corynebacterium bovis* by endonuclease restriction analysis of the 16S rRNA gene sequence . **J. Dairy Science**, v.87, n. 1, p. 38-45, 2004.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION - IDF. Milk. Enumeration of somatic cell. Brussels: IDF/FIL, 1995, 8 p. (IDF Standard 148 A).

KENT, J. T. **Repertory of the Homoeopathic Materia Medica**. Nova Delhi: B. Jain Publishers, 2004. 1542p.

KREEGER-VAN-RIG, N. J. W. **The yeasts: a taxonomic study**. 3 ed. Amsterdam, Elsevier Science Publisher, 1984.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. C. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. 9. ed. 2255p.

KRUTZINNA, C.; BOEHNCKE, E.; HERRMANN, H. J. Organic milk production in Germany. **Biological Agriculture and Horticulture**, v. 13, n. 4, p. 351-358, 1996.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista Educação Continuada - CRMV-SP**, v. 3, n. 3, p. 57-64, 2000.

LANGONI, H. Mastite bovina. Conceitos e Fundamentos. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 4., 2007, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2007. p. 08-17.

LEE, C. S.; WOODING, F. B.; KEMP, P. Identification, properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows. **Journal of Dairy Research**, v. 47, p. 39-50, 1980.

LENNETTE, E. H.; BALOWS, A.; HANSLER JR., W. J.; SHADOMY, H. J. **Manual of clinical microbiology**. 4. ed. Washington: American Society for Microbiology Press, 1985. 1149 p.

MACLEOD, G. **The treatment of cattle by homoeopathy**. Somerset: Hillman Printers, 1997. 148 p.

MANGIÉRI JR., R.; SOUTO, L. I. M.; MELVILLE, P. A.; BENITES, N. R. Avaliação de tratamento homeopático na mastite bovina subclínica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 14, n. 1, p. 91-99, 2007.

MITIDIERO, A. M. A. **Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como opção na bovinocultura leiteira: avaliação dos aspectos sanitários e de produção**. 2002. 119 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology. 1999.

NORCROSS, N. L. Specific defense mechanisms of the udder. In: BURVENICH, C.; MESSON, G. V.; HILL, A. W. **New insights into the pathogenesis of mastitis**. Ghent-Bélgica: Flemish Veterinary, 1991. p.129-139.

PAAPE, M. J.; BANNERMAN D. D.; ZHAO, X.; LEE, J. The bovine neutrophil: structure and funtion in blood and milk. **Veterinary Research**, v. 34, p. 597-627, 2003.

PAAPE, M. J.; WERGIN, W. P.; GUIDRY, A. J.; PEARSON, R. E. Leukocytes - second line of defense against invading mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 135-153, 1979.

PANKEY, J. W.; NICKERSON, R. L.; BODDIE, R. L.; HOGAN, J. S. Effects of *Corynebacterium bovis* infection on susceptibility to major mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 10, p. 2684-2693, 1985.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; BARANCELLI, G.; SILVA, L. V. F. Contagem de células somáticas e qualidade do leite. **Revista Criadores**, v. 67, n. 807, p. 19-21, 1997.

PHILPOT, W. N. Economics of mastitis control. **Veterinary Clinics of North America** , v. 6, n. 2, p. 233-245, 1984. Apresentado no Symposium on Bovine Mastitis.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis**: counter attack. Naperville: Babson Bros., 1991. 150 p.

PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**, v. 7, p. 632-640, 1910.

PYORALA, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, v. 34, p. 565-578, 2003.

RADOSTITIS, O. M.; LESLIE, K. E.; FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. IN: _____. **Herd health food animal production medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p. 229-276.

RAIA, R. B.; COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; THIERS, F. O.; GROFF, M. R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **NAPGAMA**, v. 2, n. 1, p. 4-8, 1999.

RAINARD, P.; RIOLLET, C. Mobilization of neutrophils and defense of the bovine mammary gland. **Reprod. Nutr.Dev.**, v. 43, p. 439–457, 2003.

REBHUN, W. C. Diseases of the teats and udder. In: REBHUN, W. C. **Diseases of dairy cattle**. Ohiladelphia: Williams & Wilkins, 1995. p. 253-308.

REITER, B. Review of the progress of dairy science: antimicrobial sistems in milk. **Journal of Dairy Research**, v. 45, p.131-47, 1978.

RIBAS, N. P. A mastite e a contagem de células somáticas. **Revista Batavo**, n. 60, p. 4 - 6, 1996.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Composição e Síntese do Leite. In: SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri: Manole, 2007. p. 197-208.

SCHALM, O. M.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. p. 360.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experimental and observation leading to development of California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 139, p. 199-204, 1957.

SCHUKKEN, Y. H.; BENNETT, G.; GREEN, L.; WERVEN, T. Can somatic cell counts get too low? In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 2001, Reno. **Proceedings...** 20 01. p. 19-28.

SEARCY, R.; REYES, O.; GUAJARDO, G. Control of subclinical bovine mastitis-utilization of a homoeopathic combination. **The British Homoeopathic Journal**, v. 84, n. 2, p. 67-70, 1995.

SILVA, N. Diagnóstico da mamite em animais de interesse econômico. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MAMITE, 3., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 1999. p. 51-55.

SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Manole, 1994. 1738 p.

SONNENWALD, B. M. Homeopathic treatment of acute bovine mastitis. **Dairy Science Abstracts**, v. 50, n. 5, p.158, 1988.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DE ROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.1851-1865, 1997.

THIERS, F. O.; BENITES, N. R.; COSTA, E. O. Proporção de Polimorfonucleares Neutrófilos (PMN) e Mononucleares (MN) no leite comparados aos escores de CMT. **NAPGAMA**, v. 2, n. 4, p. 9-12, 1999.

THIERS, F. O.; BENITES, N. R.; RIBEIRO, A. R.; COSTA, E. O. Correlação entre contagem direta de células somáticas e o teste de "California Mastitis Test" (CMT) no leite de vacas. **NAPGAMA**, v. 4, n. 4, p. 3-5, 2001.

THOMAZ, L. W. **Efeito da utilização de medicamentos homeopáticos no tratamento da mastite subclínica em vacas leiteiras**. 2004. 66 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2004.

WATTS, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 41-66, 1988.

WATTS, J. L.; LOWERY, D. E.; TEEL, J. F.; ROSSBACH, S. Identification of *Corynebacterium bovis* and other Coryneforms isolated from bovine mammary glands. **Journal Dairy Science**, v. 83, n. 10, p. 2373 - 2379, 2000.

YAMAGUCHI, L. C. T.; MENDES, L. C. R.; LIMA, I. B.; RODRIGUES, C. C.; COELHO, M. A. O. **Qualidade e eficiência na produção de leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2006. p. 284.

ZAFALON, L. F.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D.; OLIVEIRA, J. A. Influência de bactérias do gênero *Corynebacterium* e estafilococos

coagulase positivos e negativos sobre contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. **NAPGMA**, v. 2, n. 6, p. 4-6, 1999.

ZANI, J. L. **Potencial de infecção e vias de transmissão da mastite por *Corynebacterium bovis***. 2005. 59 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.