

TRATAMENTO DE MASTITE CLÍNICA EXPERIMENTAL POR MEIO DE ORDENHAS MÚLTIPLAS EM VACAS LEITEIRAS INOCULADAS COM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

L.A. do B. Almeida¹, M.A.V.P. Brito², J.R.F. Brito², M. de F.Á. Pires², N.R. Benites¹

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: leslie@usp.br

RESUMO

A mastite é considerada uma doença que causa grandes prejuízos econômicos, reduzindo em quantidade e qualidade o leite e os derivados lácteos. As opções de tratamento de vacas com mastite clínica são o uso de antimicrobianos em todas as vacas, o tratamento de nenhuma delas com antimicrobianos, apenas casos específicos com antimicrobianos ou tratamentos com medicamentos homeopáticos. Animais que respondem aos tratamentos sem uso de medicamentos, têm uma predisposição a recuperar-se do quadro clínico de mastite, mesmo na presença de agente infeccioso. Neste trabalho foi feita uma inoculação intramamária experimental com *Staphylococcus aureus*, e a partir do surgimento dos sinais clínicos instituiu-se o tratamento apenas com ordenhas múltiplas. Os animais foram avaliados através de escores clínicos, contagem de células somáticas (CCS), California Mastitis Test (CMT) e exames microbiológicos. Como alguns animais não responderam a esse tratamento, foram utilizados medicamentos homeopáticos ou antibiótico para os tratamentos e posteriormente comparados com o tratamento feito apenas com ordenhas múltiplas. Para os animais que puderam ser tratados com ordenhas múltiplas, os escores clínicos e de CMT foram estatisticamente menores ($p < 0,05$) quando comparados com aqueles tratados com antibiótico e medicamentos homeopáticos e estes dois não apresentaram diferença na eficiência, apresentando cura clínica no 9º dia pós-inoculação.

PALAVRAS-CHAVE: Mastite, *Staphylococcus aureus*, ordenhas múltiplas, homeopatia.

ABSTRACT

TREATMENT OF EXPERIMENTAL CLINICAL MASTITIS BY MILKING-OUT IN MILKING COWS INOCULATED WITH *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. Mastitis is considered an illness that causes great losses in milk production, reducing the quantity and quality of milk and dairy products. The options for treatments in cows with clinical mastitis are the usage of antimicrobials in all the animals, the treatment of none of them with antimicrobials, just some of them, or with homeopathic medicines. Animals that respond to no medical treatments have a predisposition to recover from clinical mastitis, even in the presence of the infectious agent. This began with an experimental intramammary inoculation with *Staphylococcus aureus* and after the beginning of the clinical signs there was established a treatment only by milking-out the cows. The animals were evaluated by clinical scores, somatic cell counts (SCC), California Mastitis Test (CMT) and microbiological parameters. As some animals did not respond to this treatment, they were treated with homeopathic medicines or antibiotics, afterward the results were compared with the milking-out treatment. For the animals that were possible to be treated by milking-out, the clinic and CMT scores were statistically smaller ($p < 0.05$) when compared with those treated with antibiotics and homeopathic medicines and for these two treatments there was no difference in the efficiency, exhibiting clinical cure at the 9th day post-inoculation.

KEY WORDS: Mastitis, milk-out, homeopathy, *Staphylococcus aureus*.

²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil.

INTRODUÇÃO

Na pecuária leiteira a mastite é considerada uma doença que causa grandes prejuízos econômicos, reduzindo em quantidade e qualidade o leite e os derivados lácteos (SANTOS, 2003).

O *Staphylococcus aureus* destaca-se como o microrganismo de grande importância na incidência de mastite infecciosa nos rebanhos leiteiros mundiais, e em função de sua elevada resistência aos antibióticos, seu tratamento torna-se difícil (ZECCONI & HAHN, 2000). Esta bactéria foi escolhida para o experimento por ser uma causa importante de mastites clínicas e infecções intramamárias em rebanhos bem manejados (SCHUKKEN *et al.*, 1994), sendo ainda um importante agente dessas afecções em bovinos nas regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste do Brasil (BRITO & BRITO, 1998).

As opções de tratamento de vacas com mastite clínica são o uso de antimicrobianos em todas as vacas, o tratamento de nenhuma delas com antimicrobianos ou apenas casos específicos com antimicrobianos (RADOSTITIS *et al.*, 2002).

O tratamento a ser seguido nas mastites clínicas deve diferir de acordo com a intensidade da infecção. Considera-se branda quando ocorrem apenas alterações macroscópicas no aspecto leite; moderada na qual há também alterações no aspecto normal da glândula mamária tais como vermelhidão, edema, calor e dor; e severa quando além das modificações no aspecto normal do leite, há um comprometimento sistêmico como febre elevada, alteração na frequência cardíaca e respiratória, ausência de movimentos ruminais, com ou sem alterações externas do úbere (ROBERSON, 2003).

Quando o quadro de mastite clínica é branda, isto é, com alterações no aspecto normal do leite e da glândula mamária o tratamento de suporte, esgotamento da glândula mamária e observação dos animais é suficiente até que os resultados microbiológicos estejam disponíveis. Para os casos mais severos onde há comprometimento sistêmico dos animais, antiinflamatórios são necessários para controlar a dor e a febre (SEARS & MCCARTHY, 2003).

Os tratamentos medicamentosos disponíveis para mastites consistem no uso de antimicrobianos (COSTA *et al.*, 1999a) preferencialmente por via intramamária (Ziv, 1992) ou mesmo outras vias de aplicação em conjunto (COSTA, 2002; SANDHOLM *et al.*, 1990), assim como os medicamentos homeopáticos feitos a partir de substâncias vegetais, minerais ou animais e os bioterápicos, também chamados de isoterápicos ou nosódios, feitos a partir de secreções, tecidos, parasitas ou mesmo microrganismos (BARLOW *et al.*, 2001; EGAN, 1995; EGAN, 1998; MITIDIERO, 2002; SEARCY *et al.*, 1995; SONNENWALD, 1988; THOMAZ, 2004).

O público consumidor e o setor lácteo têm aumentado sua preocupação quanto aos possíveis riscos à saúde que resíduos de antimicrobianos e outras drogas presentes no leite para consumo humano possam causar (ERSKINE *et al.*, 2003). Há ainda os sistemas de produção pecuária orgânica nos quais ocorre a necessidade de utilizar métodos terapêuticos diferentes daqueles conhecidos convencionalmente (FONSECA, 2001; MITIDIERO, 2002). No Brasil a produção orgânica é instituída pela Lei Nº10.831 de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003), que restringe o uso dos medicamentos convencionais, e até os proíbe em certos casos (ALMEIDA, 2001).

O objetivo deste artigo foi analisar a evolução de animais inoculados experimentalmente por via intramamária com *S. aureus*, tratados com ordenhas múltiplas, bem como comparar o tratamento homeopático e alopatóico nos animais que não responderam a ordenhas múltiplas.

Os parâmetros para este estudo foram as contagens de células somáticas por microscopia (CCS), *California Mastitis Test* (CMT), controle microbiológico das amostras e avaliação clínica das glândulas mamárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 6 vacas mestiças Holandês x Zebu selecionadas de um rebanho com um total de 120 vacas em lactação. Os animais foram selecionados considerando-se os seguintes critérios: grau de sangue, período de lactação, produção de leite, número de partos, contagem de células somáticas, e resultado negativo para *S. aureus* em 3 exames microbiológicos consecutivos.

A infecção experimental foi realizada inoculando-se em dois quartos mamários laterais direitos de cada vaca 10 mL de uma suspensão contendo 1.000 unidades formadoras de colônia (UFC)/mL de uma cultura de seis horas de *S. aureus* (isolado No. 4335) da coleção de cultura do Laboratório de Microbiologia da Embrapa Gado de Leite, ficando os quartos esquerdos como controles não inoculados. Essa amostra foi isolada originalmente de um animal com mastite clínica. Após a inoculação os animais foram monitorizados durante 22 dias, com exames clínicos nas duas ordenhas diárias e exame dos primeiros jatos de leite (RADOSTITIS *et al.* 1994). Com a finalidade de acompanhar o quadro infeccioso, diariamente era realizado o CMT (*California Mastitis Test*) (SCHALM & NOORLANDER, 1957) que é um teste capaz de detectar a ocorrência de mastite pelo aumento de células somáticas, principalmente polimorfos nucleares (PMN) por mililitros de leite. De cada glândula mamária colhe-se uma amostra de 2,0 mL de leite, à qual são

adicionados 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. Foram dados escores de acordo com a ausência de reação (0) ou presença de traços, 1+, 2+ ou 3+ no referido teste, que correspondiam à intensidade do processo inflamatório (RADOSTITIS *et al.*, 1994; THIERS *et al.*, 1999).

As avaliações clínicas das glândulas mamárias foram feitas de acordo com escores estipulados conforme Quadro 1.

Nos dias 1, 2, 3, 7, 9, 15 e 22 pós-inoculação, foram coletadas amostras de leite de todos os quartos mamários para exames laboratoriais, que consistiram de contagem de células somáticas totais pelo método microscópico de acordo com BENITES *et al.* (2001), e exames microbiológicos (HARMON *et al.*, 1990; BRITO *et al.*, 1999).

Para o exame microbiológico, as amostras de leite de cada quarto mamário de todas as vacas, foram coletadas diretamente em frascos estéreis, colocados em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas imediatamente ao laboratório para processamento. Semou-se um volume de 10µL de cada amostra de leite, com alça calibrada e descartável, em cada quadrante de uma placa de ágar-sangue preparado com 5% de sangue desfibrinado de carneiro. As placas foram incubadas a 37° C por 24h, quando foi feita a primeira leitura, seguindo-se nova incubação por mais um período de 48h e segunda leitura. A identificação de

S. aureus foi feita por meio dos testes de produção de catalase (+), coagulação do plasma de coelho (+) e produção de acetoína (+).

Para a contagem de células somáticas, 10 µL de cada amostra de leite foram distribuídos em uma área de 1 cm² em lâmina de vidro previamente higienizada e desengordurada. Após a secagem durante 24h, os esfregaços foram fixados em metanol por 15 min e colocadas novamente para secar em temperatura ambiente sendo posteriormente corados e observados usando-se microscopia óptica comum, com objetiva de imersão 100x e ocular 10x. Esta contagem 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 & BREED (1910), modificado com a coloração de hematoxilina-eosina (HE) segundo BENITES *et al.* (2001).

O tratamento instituído nos animais inoculados foi o de quatro ordenhas diárias para esgotamento das glândulas mamárias aqui denominado de ordenhas múltiplas, e não recebiam tratamento medicamentoso. No entanto, 3 vacas manifestaram sinais clínicos muito intensos de mastite, e, como não respondiam às ordenhas múltiplas foram retiradas do grupo para tratamento, no 2º, 3º e 5º dias pós-inoculação e tratadas com antibiótico intramamário ou medicamentos homeopáticos.

A escolha do tratamento homeopático para a primeira vaca a ser tratada foi feita por sorteio. A segunda recebeu antibiótico e a terceira homeopatia.

As vacas tratadas com medicamentos homeopáticos receberam: *Phytolacca decandra* 6CH, *Calcarea carbonica* 6CH, *Silicea terra* 6CH, *Pulsatilla nigricans* 6CH, *Aconitum napellus* 6CH e *Mercurius solubilis* 6CH selecionados individualmente de acordo com a totalidade de sintomas. Os medicamentos foram administrados pelo método denominado de *plus* descrito a seguir (HAHNEMANN, 1995). Foram diluídos 2 glóbulos de cada medicamento em 300 mL de água e borrifados nas mucosas oro-nasal ou vaginal, com o auxílio de um borrifador; em intervalos de 15min durante uma hora no período de cada ordenha, enquanto os sinais de mastite clínica estavam presentes.

O antibiótico de escolha para o animal tratado com antibiótico foi o Cefoperazone Sódico devido ao resultado de susceptibilidade "in vitro" (NCCLS, 2002) da estirpe de *S. aureus* utilizada no experimento. No tratamento, utilizou-se de aplicação intramamária uma vez ao dia por 4 dias em cada quarto mamário afetado.

RESULTADOS

Os sinais de mastite clínica no grupo foram analisados entre os 3º e 9º dias após a inoculação para P < 0,05.

Quadro 1 – Escores clínicos.

Escore	Observação clínica	
	Parênquima	Leite
0	Macio	Sem alteração
1	Macio	Seroso
2	Macio	Flocos Pequenos
3	Granulomatoso	Seroso
4	Granulomatoso	Flocos Pequenos
5	Granulomatoso	Grumos
6	Granulomatoso	Grumos com sangue
7	Granulomatoso	Pus
8	Edemaciado	Seroso
9	Edemaciado	Flocos Pequenos
10	Edemaciado	Grumos
11	Edemaciado	Grumos com sangue
12	Edemaciado	Pus
13	Edemaciado	Pus com sangue
14	Fibrosado	Seroso
15	Fibrosado	Flocos Pequenos
16	Fibrosado	Sem secreção

Tabela 1 – Medianas de escores clínicos, escores de CMT e CCS das vacas tratadas com ordenhas múltiplas (OM), medicamentos homeopáticos (HOM) e antibiótico intramamário (ATB) entre o 3º e 9º dias pós-inoculação.

Tratamentos	Mediana		
	Escores Clínicos	Escores CMT	CCS
Ordenhas múltiplas	0,0 ^{a/b} (0-7)	0 ^{c/d} (0-2)	488.710 (9.677 - 8.364.525)
Homeopatia	5,0 (0-15)	1 (0-3)	930.646 (19.355 - 19.780.667)
Antibiótico	2,5 (0-12)	2 (0-3)	1.272.582 (454.839 - 16.838.728)

a) OM vs. HOM P < 0.001

b) OM vs. ATB P < 0.05

c) OM vs. HOM P < 0.001

d) OM vs. ATB P < 0.01

e) OM vs. HOM P < 0.05

Antes da inoculação com *S. aureus* os animais não apresentavam sinais clínicos de mastite (escore = 0). Após a inoculação as vacas apresentavam uma mediana de 3,0 (0 – 12), resultado este estatisticamente maior ($p < 0,05$), indicando que o quadro de mastite havia sido instalado.

Os resultados das diferentes análises realizadas no presente estudo estão na Tabela 1.

Nos animais em que é possível o tratamento com ordenhas múltiplas houve um escore clínico e escore de CMT menores estatisticamente ($p < 0,05$) quando comparados aos tratados com antibiótico e medicamentos homeopáticos, e entre estes não ocorreu diferença estatisticamente significativa no período.

Não foi verificada diferença estatística significativa entre as medianas de CCS contagem de células somáticas (CCS) entre os animais estudados (Tabela 1).

No dia anterior à inoculação não havia isolamento de bactérias nos quartos dos animais do experimento e após a inoculação foi possível isolar e identificar *S. aureus* em todos os animais, sendo que o isolamento ocorreu durante a fase de mastite clínica. No grupo de ordenhas múltiplas 43,3% (13/30) dos quartos foram isolados e o resultado foi menor estatisticamente ($P < 0,05$) quando comparado ao grupo homeopatia onde o isolamento foi de 85% (17/20) e ao grupo tratado com antibiótico 60% (6/10).

DISCUSSÃO

A produção leiteira vem baseando-se principalmente na terapêutica alopática, e o aumento do uso de antibióticos ocorre em função da persistência de certos microrganismos resistentes. Dentre eles o *S. aureus*, é um dos mais patogênicos e causa uma infecção geralmente crônica, diminuindo gradativamente a produção leiteira, sendo de difícil controle uma vez que apresenta geralmente resistência à penicilina e outros antibióticos (BENITES *et al.*, 2002; COSTA *et al.*, 2000; LANGENEGGER *et al.*, 1981).

WILSON *et al.* (1999) comparando índices de cura bacteriológica em 9.007 casos de mastite sub-clínica, tratados com sete antibióticos e sem tratamento medicamentoso, encontrou que no animais em que o *S. aureus* foi isolado, o índice de cura sem a utilização de medicamentos foi de 57% (616/1088). No presente estudo a porcentagem de isolamentos positivos para o tratamento sem medicação, isto é, com ordenhas múltiplas foi de 43,3% (13/30), considerando o número de quartos e 50% (3/6) considerando o número de animais, verificando-se desta forma que o presente estudo apresentou uma frequência de cura microbiológica semelhante ao observado por WILSON *et al.* (1999).

No presente trabalho os sinais clínicos de mastite clínica começaram a ser observados no dia seguinte à inoculação sendo mais intensos entre o 3º e 9º dias, com todos os sinais característicos da mastite clínica tanto na glândula mamária como no aspecto da secreção láctea. Portanto a inoculação intramamária de 10 mL de uma suspensão contendo 1.000 unidades formadoras de colônias (UFC)/mL de uma cultura de seis horas de *S. aureus*, foi um método eficaz na indução de mastite em vacas leiteiras analisadas.

Nos tratamentos convencionais se utilizam preferencialmente antimicrobianos por via intramamária (ZIV, 1992) ou mesmo outras vias de aplicação em conjunto (COSTA, 2002; SANDHOLM *et al.*, 1990) para controlar esses casos e até mesmo como tratamento preventivo.

O poder curativo dos medicamentos homeopáticos 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).

Neste trabalho foram observados os sinais de mastite clínica que as vacas apresentavam após a inoculação experimental com *S. aureus* e tratadas através de ordenhas múltiplas com o objetivo de esgotar as glândulas mamárias.

Metade dos animais, isto é, três vacas responderam satisfatoriamente ao tratamento instituído, e deixaram de manifestar os sinais clínicos de mastite. Diversos fatores morfológicos, fisiológicos e imunológicos contribuem para a resistência ou suscetibilidade da vaca à mastite, cada um dos quais é influenciado, em alguma extensão, pela hereditariedade (RADOSTITIS *et al.*, 2002). Segundo MAFFEI (1978) não é possível que uma moléstia ocorra se não houver um indivíduo susceptível, ou seja, predisposto, e é essa predisposição individual que faz com que a sintomatologia, as lesões anatômicas, a evolução e o êxito das moléstias variem de um indivíduo a outro.

No entanto, 3 vacas não responderam satisfatoriamente e esse tratamento e foram retiradas para tratamento medicamentoso.

O método de tratamento homeopático foi feito de acordo com a técnica proposta por HAHNEMANN (1995) de medicar com um medicamento de cada vez, utilizando medicamentos homeopáticos que já estivessem descritos nas Matérias Médicas Puras (HAHNEMANN, 1994; HERING, 1994) de modo a ter maior segurança na escolha dos medicamentos que foram experimentados anteriormente e que têm seus sintomas e sinais bem conhecidos. Para isto foram estudadas as matérias médicas puras dos medicamentos *Calcarea carbonica*, *Phytolacca decandra*, *Aconitum napellus*, *Mercurius solubilis*, *Pulsatilla nigricans* e *Silicea terra*, que apresentaram a maior semelhança ao quadro de mastite dos animais do presente trabalho.

O antibiótico de escolha para o tratamento da mastite clínica foi Cefoperazone Sódico por via intramamária durante 4 dias, ficando dentro do prazo normalmente estipulado de 3 – 5 dias para tratamento com antibióticos intramamários (COSTA, 2002; COSTA *et al.*, 1999b), sendo diferente daquele estimado por WILSON *et al.* (1986) que empregou apenas uma aplicação de Cefoperazone Sódico 250 mg no tratamento de mastite clínica.

O resultado das provas de CMTs apresentaram diferença estatisticamente significativa ($P < 0,01$) entre os animais tratados por ordenhas múltiplas e os tratados com antibiótico e homeopático, refletindo uma menor predisposição desses animais.

CONCLUSÃO

O tratamento de mastite clínica por ordenhas múltiplas para *S. aureus* pode ser feito, no entanto, só uma porcentagem dos animais responde com remissão dos sinais clínicos e negatificação no isolamento do agente. Portanto, há necessidade de acompanhamento clínico dos animais submetidos a essa terapêutica.

O tratamento tardio com antibiótico apresentou os mesmos resultados obtidos com o tratamento realizado utilizando medicamentos homeopáticos, o que possibilita a utilização da terapêutica homeopática mesmo quando o processo infeccioso for abordado tardiamente.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Luiz Januário Magalhães Aroeira, pesquisador da Embrapa Gado de Leite, líder do projeto: Tecnologias para produção orgânica de leite – PRODETAB N° 035-01/01, por meio do qual este trabalho foi realizado.

Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Bioética da FMVZ/USP em 5/9/2002, sob o N° 177/2002.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.A.B. Curso introdutório sobre homeopatia. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 2., 2001, Espírito Santo do Pinhal, SP. *Anais*. Viçosa: 2001. 197p.
- BARLOW, J.W.; MCCRORY, 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: 2001. p.258-262.
- BENITES, N.R.; GUERRA, J.L.; MELVILLE, P.A.; COSTA, E.O. Aetiology and histopathology of bovine mastitis of expontaneous occurrence. *J. Vet. Méd.B*, v.49, p.366-370, 2002.
- 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Lei nº 10.831. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 24 dez. 2003. Seção 1, p. 8.
- BRITO, J.R.F. & BRITO, M.A.V.P. *Descomplicando as células somáticas*. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1998. p.75-81.
- 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. *Arq Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.2, p.129-135, 1999.
- COSTA, E.O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. (Eds.). *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.443-455.
- COSTA, E.O.; GARINO JUNIOR, 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*, v.3, n.4, p.6-13, 2000.
- COSTA, E.O.; RAIA, R.B.; GARINO JUNIOR, 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.
- EGAN, J. A questionnaire survey on the uptake of homeopathic mastitis remedies in irish dairy herds. *Irish Vet. J.*, v.51, n.3, p.141-143, 1998.
- EGAN, J. Evaluation of a homeopathic treatment for subclinical mastitis. *Vet. Rec.*, v.135, n.3, p.48, 1995.
- ERSKINE, R.J.; WAGNER, S.; DEGRAVES, F.J. Mastitis therapy and pharmacology. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.*, v.19, p.109-138, 2003.
- FONSECA, M. F.A.C. Cenário da Produção e da Comercialização dos Alimentos Orgânicos. In: FERNANDES, E.N.; BRESSAN, M.; VILELA, D. (Eds.). *Produção orgânica de leite no Brasil*. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p.93-111.
- HAHNEMANN, S. *Exposição da doutrina homeopática ou Organon da arte de curar*. São Paulo: Grupo de Estudos Homeopáticos de São Paulo "Benoit Mure", 1995. 191p.
- HAHNEMANN, S. *Matéria médica pura*. Curitiba: Editora Gráfica Arins, 1994. 630p.
- HARMON, R.J.; EBERHART, R.J.; JASPER, D.E. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 1990, Arlington. *Proceedings*. Arlington: 1990. p.34.
- HERING, C. *The guiding symptoms of our materia medica*. Nova Dehli: B.J. Publishers, 1994. 520 p.
- LANGENEGGER, J.; ESTELITA, M.C.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesq. Vet. Bras.*, v.1, n.2, p.47-57, 1981.
- MAFFEI, W. E. *Os fundamentos da medicina*. São Paulo: Artes Médicas, 1978.
- MITIDIERO, A.M.A. *Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como opção na bovinocultura leiteira: avaliação dos aspectos sanitários e de produção*. Florianópolis: 2002. 119 p. [Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Agrárias, Univ. Fed. Santa Catarina].
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (USA). *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard*. 2.ed. Waine: NCCLS, 2002. 86p. (Document M31-A2).
- PRESCOTT, S.C. & BREED, R.S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. *J. Infect. Dis.*, v.7, p.632-640, 1910.
- RADOSTITIS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. *Clínica veterinária – um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1736p. Mastite, p.541-629.
- RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. In: RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. (Eds.). *Herd health food animal production medicine*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p.229-276.
- ROBERSON, J. R. Establishing treatment protocols for clinical mastitis. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.*, v.19, p.223-234, 2003.
- SANDHOLM, M.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. Bovine mastitis – why does antibiotic therapy not always work? An overview. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, v.13, n.3, p.248-260, 1990.
- SANTOS, M.V. Impacto econômico da mastite bovina. *Hora Vet.*, v.22, n.131, p.46-50, 2003.
- SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of california mastitis test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.130, n.5, p.199-207, 1957.
- SCHUKKEN, Y.H.; MALLARD, B.A.; DEKKERS, J.C.M.; LESLIE, K.E.; STEAR, M.J. Genetic impact on the risk of intramammary infection following *Staphylococcus aureus* challenge. *J. Dairy Sci.*, v.77, n.2, p.639-647, 1994.
- SEARCY, R.; REYES, O.; GUAIJARDO, G. Control of subclinical bovine mastitis – utilization of a homeopathic combination. *Br. Homoeopathic J.*, v.84, n.2, p.67-70, 1995.
- SEARS, P.M. & MCCARTHY, K.K. Diagnosis if mastitis for therapy decisions. *Vet. Clin. Food Anim. Pract.*, v.19, p.93-108, 2003.
- SONNENWALD, B.M. Homeopathic treatment of acute bovine mastitis. *Dairy Sci. Abstr.*, v.50, n.5, p.158, 1988.
- 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.2, n.4, p.9-12, 1999.
- THOMAZ, L.W. *Efeito da utilização de medicamentos homeopáticos no tratamento da mastite subclínica em vacas leiteiras*. Goiânia: 2004. 66p. [Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Univ. Fed. Goiás].
- WILSON, C.D.; AGGER, N.; GILBERT, G.A.; THOMASSON, C. A.; TOLLING, S. T. Field trials with cefoperazone in the treatment of bovine clinical mastitis. *Vet. Rec.*, v.118, n.1, p.17-19, 1986.
- WILSON, D.J.; GONZALEZ, R.N.; CASE, K.L.; GARRISON, L.L.; GRÖHN, Y. T. Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment for bacteriological efficacy against bovine mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, v.82, n.8, p.1664-1670, 1999.
- ZECCONI, A. & HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. *Bull. Int. Dairy Fed.*, n.345, p.15-18, 2000.
- ZIV, G. Treatment of acute mastitis. *Vet. Clin. North Am.*, v.8, n.1, p.1-16, 1992.

Recebido em 14/2/05

Aceito em 31/3/05