

Impacto de um novo medicamento complexo homeopático no tratamento da mastite bovina resistente a múltiplos antibióticos: um ensaio aberto, não randomizado e controlado por placebo

Bruna de Fatima Antunes Laginestra¹  Thaís Camaso de Sá¹  Jessé Lahos Borges¹ 
 Matheus Basilio Marçal¹  João Vitor Morais Simões¹  Selma Alves Rodrigues¹ 
 Zilda Cristiani Gazim¹  Ranulfo Piau Júnior¹ 

¹ Paranaense University—Praça Mascarenhas de Moraes, Umuarama, Paraná, Brazil

Address for correspondence: Ranulfo Piau Júnior, PhD, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282—Centro, Umuarama—Paraná, 87502-210, Brazil (e-mail: piau@prof.unipar.br).

Homeopathy

Resumo

Antecedentes A mastite bovina é caracterizada por um processo inflamatório na glândula mamária e representa uma das principais doenças que afetam um rebanho leiteiro. O tratamento da mastite é mais comumente feito através de antibióticos, mas a incidência crescente de resistência múltipla a antibióticos (MAR) significa que são necessárias opções adicionais. Os produtos homeopáticos podem ser administrados na pecuária leiteira por diversas razões clínicas e podem ser preferenciais devido à ausência de resíduos.

Objetivos O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de um novo medicamento complexo homeopático no manejo da mastite bovina.

Métodos Vinte e quatro vacas Holandesas em lactação com mastite foram divididas em dois grupos: o grupo do complexo homeopático recebeu um complexo homeopático diariamente durante 60 dias na dose de 20 g/d; o grupo placebo recebeu o veículo carbonato de cálcio sem medicamentos homeopáticos na mesma dose e repetição. O principal efeito foi a contagem de células somáticas (CCS; células/mL), com efeitos adicionais incluindo produção de leite (kg/d), constituintes do leite (porcentagem de proteína, gordura, lactose e sólidos totais do leite) e níveis séricos de cortisol, glicose, amônia e ácido láctico. Todos os resultados foram medidos no início do estudo e após 30 e 60 dias. Amostras de leite também foram coletadas de todos os animais no início do estudo, confirmando um índice MAR alto (>0,2) para culturas bacterianas isoladas.

Resultados A avaliação da CCS mostrou uma diferença estatisticamente significativa favorecendo o grupo do complexo homeopático versus o grupo placebo no dia 60. Também foram observadas uma redução nos níveis séricos de cortisol e um aumento na gordura, lactose e sólidos totais do leite em animais tratados com o complexo homeopático no dia 60. Outras medidas de resultados não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre grupos.

Conclusão Os resultados deste ensaio não randomizado, aberto e controlado por placebo sugerem o potencial para um novo medicamento complexo homeopático no tratamento da mastite bovina resistente a múltiplos antibióticos, oferecendo assim aos produtores de leite uma opção adicional aos antibióticos e tornando os produtos lácteos mais seguros para a saúde do consumidor e para a produção de leite mais sustentável.

Palavras-chave

- ▶ mastite bovina
- ▶ homeopatia
- ▶ qualidade do leite
- ▶ contagem de células somáticas
- ▶ constituintes do leite

received
 July 21, 2022
 accepted after revision
 February 22, 2023

© 2023. The Faculty of Homeopathy.
 All rights reserved.
 Georg Thieme Verlag KG,
 Rüdigerstraße 14,
 70469 Stuttgart, Germany

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-1768465>.
 ISSN 1475-4916.

Introdução

A mastite bovina é um processo inflamatório das glândulas mamárias das vacas, que impacta a produção de leite e aumenta o risco à saúde dos consumidores,¹ principalmente quando o leite não é submetido à pasteurização adequada,² devido aos microrganismos zoonóticos produtores de toxinas^{1,3} que pode estar envolvido na etiologia da doença.⁴

Os medicamentos antimicrobianos são tradicionalmente utilizados no tratamento da mastite bovina; entretanto, estudos têm demonstrado um índice crescente de resistência dos microrganismos aos antibióticos utilizados, o que leva a falhas terapêuticas, perda de qualidade do leite, perdas de produção e impactos na saúde das vacas.⁵ Além disso, a ocorrência de resíduos deste classe farmacêutica em produtos lácteos incentiva ainda mais o surgimento de resistência bacteriana.⁴

O uso indiscriminado e inadequado de antibióticos tem contribuído para a aceleração da resistência microbiana e seleção de microrganismos adaptados. Os antibióticos aumentam a pressão seletiva sobre as populações bacterianas, causando a morte de bactérias suscetíveis e aumentando a porcentagem de bactérias resistentes. A propagação de estirpes bacterianas resistentes a antibióticos tem causado desafios significativos na produção leiteira e no tratamento de doenças, causando danos econômicos à produção leiteira e à saúde do rebanho.⁶ A mastite é a causa mais comum de utilização de antimicrobianos em rebanhos leiteiros. Assim, o leite bovino é considerado uma fonte potencial de bactérias multirresistentes.⁷ O aumento de bactérias resistentes a antibióticos criou uma necessidade cada vez mais urgente de tratamentos alternativos ou complementares.^{8,9}

Desta forma, a homeopatia surge como uma possível opção para o tratamento e prevenção da mastite bovina, potencialmente melhorando a qualidade da produção leiteira, refletindo num produto mais seguro¹⁰ e com maior valor econômico.¹¹

Os princípios do método de tratamento homeopático baseiam-se na “lei dos semelhantes”,¹² onde são utilizadas substâncias que provocam sinais e sintomas semelhantes aos do quadro atual, estimulando uma reação secundária do organismo contra a doença.¹³ Resultados variados são descritos na literatura científica a respeito do uso da homeopatia na mastite, relacionado a diferentes preparações, vias de aplicação e dosagens.¹⁴ Para complementar essa base de evidências, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de um novo medicamento complexo homeopático no tratamento da mastite em vacas resistentes a múltiplos antibióticos.

Materiais e métodos

Aprovação Ética A presente pesquisa foi de natureza veterinária. Todas as vacas utilizadas faziam parte da Unidade de Gado Leiteiro da Universidade Paranaense; após a conclusão do estudo todos os animais retornaram ao sistema de criação de acordo com o manejo da fazenda. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Zootecnia da Universidade Paranaense – protocolo 25910 (Arquivo complementar 1, disponível apenas on-line). Este comitê é institucional, mas é regido e fiscalizado pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal, sob responsabilidade do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, em nível nacional no Brasil.

Manejo do rebanho

Durante o estudo, as vacas foram alojadas normalmente em piquetes gramados. Ração de boa qualidade para gado leiteiro, água limpa e sal mineral estiveram disponíveis à vontade durante todo o estudo. Todos os animais foram examinados clinicamente periodicamente para garantir sua saúde geral contínua.

A contagem de células somáticas (CCS) e o índice de resistência múltipla a antibióticos (MAR) foram utilizados para selecionar os animais para inclusão no estudo. Animais que apresentaram CCS acima de 250.000 células/mL de leite e índice MAR acima de 0,2 foram considerados portadores de mastite clínica.¹⁵ Foram selecionadas 24 vacas Holandesas em lactação com mastite e divididas em dois grupos com 12 animais cada: um grupo denominado “medicamento complexo homeopático” e o outro “placebo”. Todas as vacas selecionadas foram testadas quanto à resistência antimicrobiana e confirmadas como multirresistentes aos antibióticos antes da inclusão no estudo.

A atribuição a cada grupo não foi aleatória. Em vez disso, as vacas foram distribuídas de modo que houvesse uniformidade nos valores médios de CCS entre os dois grupos no início do estudo, no dia -2, antes da adição de quaisquer suplemento homeopático ou placebo à alimentação.

Teste de resistência antimicrobiana

O teste de suscetibilidade antimicrobiana foi realizado conforme relatado anteriormente.¹⁶ Resumidamente, cada isolado bacteriano das amostras de leite por vaca coletadas no início do estudo (dia -2) foi submetido a um antibiograma para determinar sua resistência antimicrobiana. Para avaliar a suscetibilidade/resistência antimicrobiana, os seguintes antibióticos foram utilizados: amoxicilina + clavulanato (20/10 µg), ampicilina (10 µg), cefalexina (30 µg), cefoxetina (30 µg), ceftiofur (30 µg), clindamicina (2 µg), enrofloxacin (5 µg), estreptomycin (300 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina (10 ui), sulfa + trimetoprima (23,75/1,25 µg).

O índice MAR foi calculado e interpretado de acordo para Blasco et al¹⁷ utilizando a fórmula: $a/(b.c)$, onde “a” é o número total de antimicrobianos aos quais as bactérias isoladas apresentaram resistência, “b” é o número de antimicrobianos testados e “c” é o número de isolados testados da amostra original. O índice para delimitar se as amostras são de alto ou baixo risco foi de 0,200, onde $\leq 0,199$ é considerado baixo risco e 0,200 e acima é considerado alto risco.

Medicamento Complexo Homeopático

O medicamento complexo homeopático foi especialmente desenvolvido para este estudo. O complexo continha o seguinte medicamentos: Asafoetida 9cH, Ignatia amara 9cH, Phytolacca decandra 9cH, Urtica urens 6cH, Pulsatilla nigricans 6cH, Calcarea carbonica 9cH, Sulphur 9cH, Lac vaccinum defloratum 9cH, *Staphylococcus aureus* 9cH e *Streptococcus* spp. 9cH. A tintura-mãe original (ou potência intermediária adequada) de cada remédio foi adquirida no laboratório da H&N Homeopatia e Produtos Naturais; o medicamento complexo foi então preparado no laboratório de homeopatia da empresa Minerphos, misturando os constituintes, levando-os às potências desejadas de acordo com

ao método Hahnemanniano.¹⁸ Um volume de 5 mL de cada medicamento homeopático foi adicionado a 1 kg de veículo carbonato de cálcio, perfazendo um volume total de 50 mL de medicamento homeopático por 1 kg de veículo em pó.

O grupo do complexo homeopático recebeu 20 g/dia do complexo homeopático em pó adicionado às rações alimentares individuais fornecidas diariamente após a ordenha, durante 60 dias. Da mesma forma, em paralelo, o grupo placebo recebeu 20 g/d do veículo em pó de carbonato de cálcio adicionado às rações alimentares individuais fornecidas diariamente após a ordenha, durante 60 dias. A atribuição do tratamento não foi cega.

Contagem de células somáticas

Para avaliar a CCS média por grupo, amostras de leite foram coletadas de cada vaca individual no início do dia -2, depois nos dias 30 e 60. As amostras de leite de cada vaca foram colocadas em frascos de polietileno com tampa de rosca e capacidade para 50 mL contendo dois comprimidos do conservante bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol), rotulados e enviados ao Laboratório do Programa de Análise de Leite da Associação dos Criadores de gado Holandês de Curitiba, PR, utilizando o aparelho Somacount 500 (Bentley Instruments).

Constituintes do Leite

Para avaliar as proporções relativas dos constituintes do leite, as amostras de leite foram coletadas da mesma forma que para o ensaio de CCS em frascos de polietileno com conservante. As amostras foram avaliadas no dia -2, dia 30 e dia 60 para porcentagem teor de proteína, gordura, lactose e sólidos totais do leite. A análise foi realizada em analisador infravermelho (equipamento Bentley 2000) e realizada no laboratório de controle leiteiro da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos Holandeses, localizada em Curitiba, Paraná.

Produção de Leite

Para avaliar a produção total de leite por animal nos dias 0, 30 e 60 dias, o volume de leite coletado durante a ordenha foi medido manualmente por meio de copos medidores e expresso em kg.

Concentrações séricas de cortisol, glicose, amônia e ácido láctico

Para avaliar a concentração sérica de cortisol, glicose, amônia e ácido láctico, amostras de sangue foram coletadas por punção venosa da veia caudal nos dias 0, 30 e 60. As amostras de sangue foram coletadas com seringas de 5 mL e transferidas para tubos sem EDTA. Amostras de sangue foram encaminhadas para análise no setor de análises clínicas da Universidade Paranaense.

Análise Estatística

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.3 por meio de análise de variância fatorial para dados de produção de leite, CCS, composição do leite, concentrações séricas de cortisol, glicose, ácido láctico e amônia. Para o índice MAR foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Análises comparativas foram realizadas entre os dois grupos. Um nível de probabilidade de 5% foi considerado como o limite para significância estatística.¹⁹

Tabela 1 Erro padrão médio da contagem de células somáticas (CCS) por mililitro de leite nos dias -2, 30 e 60 em vacas tratadas diariamente com medicamento complexo homeopático ou placebo.

Grupo	Time point (dias)	CCS x 10 ³ /mL
Complexo homeopático	-2	325± 82.64
	30	257± 60.16
	60	246± 52.13
Placebo	-2	364± 96.74
	30	726± 239.57
	60	1.520± 524.04 ^a

^ap < 0.05 (placebo comparado ao complexo homeopático).

Resultados

Amostras de leite com taxas de índice MAR superiores a 0,2 podem ser consideradas de alto risco de multirresistência.¹⁷ Todas as vacas incluídas no estudo apresentavam alto risco de multirresistência: as vacas do grupo do complexo homeopático tinham um índice MAR médio de 0,385 e o grupo placebo teve índice MAR médio de 0,393, sem diferença significativa entre os grupos. As cepas bacterianas isoladas do leite dos animais do presente estudo apresentaram resistência aos seguintes antibióticos: ampicilina (10 µg), cefalexina (30 µg), ceftiofur (30 µg), estreptomicina (300 µg), gentamicina (10 µg), oxacilina (1 µg), penicilina (10 ui), e sulfa + trimetoprima (23,75/1,25 µg).

Os resultados para CCS são apresentados na Tabela 1. Observou-se diferença significativa de CCS entre os grupos aos 60 dias de experimento (p < 0,05). A CCS permaneceu relativamente estável durante todo o estudo no grupo complexo homeopático, mas aumentou no grupo placebo, indicando uma melhoria potencial no controle imunológico da mastite sob tratamento homeopático.

Também foi observada influência do tratamento com o complexo homeopático na composição do leite produzido. A Tabela 2 apresenta os resultados da produção de leite (kg/d) e percentual de gordura, percentual de proteína, percentual de lactose e sólidos totais de vacas leiteiras tratadas com complexo homeopático e grupo placebo. Não foram observadas diferenças entre os grupos no dia 30, mas diferenças significativas (p < 0,05) foram observadas nas porcentagens de gordura, porcentagens de lactose e percentagem de sólidos totais entre os grupos no dia 60.

O uso do complexo homeopático também resultou em menores concentrações séricas de cortisol em comparação ao grupo placebo no dia 60 (Tabela 3), mas não no dia 30. Em relação aos níveis plasmáticos de ácido láctico e amônia.

Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em nenhum momento (Tabela 4).

Discussão

O uso de produtos homeopáticos no rebanho leiteiro foi testado em vários estudos e descobriu-se que fornece

Tabela 2 Erro padrão médio para produção de leite, porcentagem de gordura, proteína, lactose e sólidos totais como constituintes do leite obtido no início do estudo, dias 30 e 60 de vacas tratadas diariamente com complexo homeopático ou placebo.

Grupo	Time point (dias)	Produção de leite (kg/d)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)	Sólidos totais (%)
Complexo homeopático	início ^b	16.17± 0.15	3.67± 0.12	3.35± 0.13	4.28± 0.08	12.33± 0.25
	30	15.00± 0.16	3.73± 0.14	3.46± 0.11	4.41± 0.06	12.59± 0.20
	60	15.67± 0.17	3.99± 0.18	3.52± 0.13	4.46± 0.05	12.95± 0.27
Placebo	Início ^b	17.71± 1.23	3.37± 0.13	3.18± 0.09	4.14± 0.05	11.64± 0.26
	30	17.18± 1.4	3.48± 0.15	3.21± 0.12	4.25± 0.6	12.03± 0.43
	60	15.59± 1.43	3.48± 0.15 ^a	3.26± 0.10	4.28± 0.06 ^a	11.96± 0.29 ^a

^a $p < 0.05$ (placebo comparado ao complexo homeopático).

^bPara produção de leite, o início foi no dia 0, enquanto os constituintes do leite foram avaliados no dia -2.

Tabela 3 Erro padrão médio para níveis de cortisol e glicose no plasma obtidos nos dias 0, 30 e 60 de vacas tratadas diariamente com complexo homeopático ou placebo.

Grupo	Time point (dias)	Cortisol (µg/dL)	Glicose (mg/d)
Complexo homeopático	0	1.70± 0.47	50.42± 0.58
	30	0.98± 0.30	60.42± 1.21
	60	1.06± 0.17	67.42± 1.79
Placebo	0	0.93± 0.14	49.00± 1.29
	30	0.78± 0.17	59.42± 1.93
	60	1.83± 0.21 ^a	67.58± 1.47

^a $p < 0.05$ (placebo comparado ao complexo homeopático).

Tabela 4 Erro padrão médio para níveis de ácido láctico e amônia no plasma obtidos nos dias 0, 30 e 60 de vacas tratadas diariamente com complexo homeopático ou placebo: nenhum resultado foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

Grupo	Time point (dias)	Acido láctico (mmol/L)	Amonia (µmol/L)
Complexo homeopático	0	0.65± 0.14	92.35± 19.02
	30	0.72± 0.12	104.00± 16.02
	60	1.21± 0.21	129.67± 8.48
Placebo	0	0.63± 0.15	82.10± 18.04
	30	0.69± 0.11	86.25± 10.17
	60	1.66± 0.27	150.58± 23.09

controle mais eficaz da mastite, gerando um produto com maior valor agregado ao melhorar a qualidade do leite e permitir que ele seja designado como orgânico.²⁰ Vários autores verificaram a eficácia da homeopatia no controle da mastite bovina.²¹⁻²⁶ Porém, outros estudos obtiveram resultados diferentes.^{22,27} O estudo aqui apresentado fornece dados preliminares de suporte para um novo medicamento homeopático combinado no manejo da mastite em vacas com multirresistência a antibióticos.

Entre os patógenos associados à mastite bovina mais frequentemente isolados no Brasil, o *S. aureus* é o mais comum.²⁸ Assim, dois bioterápicos (*S. aureus* e *Streptococcus* spp) foram selecionados para inclusão no novo complexo homeopático como os principais agentes etiológicos da mastite.^{29,30} Em Além disso, o medicamento homeopático Ignatia amara foi selecionado devido à sua afinidade com condições de estresse. Os demais medicamentos utilizados no complexo homeopático foram selecionados com base na afinidade para problemas de lactação, incluindo tetos duros, inchados, doloridos e congestivos (*Lac vaccinum defloratum*, *Phytolacca decandra*, *Urtica urens*); abscesso fistuloso e aumento da produção de leite (*Pulsatilla nigricans*); ou processos inflamatórios e infecciosos (*Calcarea carbonica*, *Asa foetida*, *Sulphur*).

Entre os métodos mais utilizados para monitoramento da mastite bovina está o teste CCS. As células somáticas correspondem a infiltrados no leite provenientes da migração de células de defesa do sangue para o interior das glândulas mamárias, além de células epiteliais descamadas, sendo assim uma importante ferramenta no diagnóstico do grau de infecção da glândula mamária pelo processo mastítico.³¹ Embora não exista um padrão para determinação dos valores de CCS em animais saudáveis e livres de mastite, a literatura cita valores entre 100.000 e 200.000 células/mL.³² A legislação brasileira, por meio da Instrução Normativa número 31, estabelece que para o leite ser considerado apto para comercialização dentro dos parâmetros de qualidade, não deve ultrapassar 400.000 células/mL no teste de CCS.³³ Assim, os resultados de CCS obtidos no presente estudo demonstram que o leite das vacas que receberam o complexo homeopático estavam próximos dos parâmetros considerado normal para este teste e dentro dos parâmetros de qualidade do leite para comercialização no país.

Para valores de CCS inferiores a 450.000 células/mL, os produtores de leite recebem um bônus de 1% para cada redução de 50.000 células/mL; para valores de 450.000 a 500.000 células/mL não há bônus; para valores acima de 500.000 células/mL sofrem desconto de 1% para cada aumento de 50.000 células/mL; e acima de 750.000 células/mL sofrem desconto total de 7% no preço do leite.³⁴ No presente estudo, os animais do grupo placebo apresentaram valores de CCS de 726.000 células/mL aos 30

dias e 1.520.000 células/mL aos 60 dias de experimento: valores acima dos recomendados pela Instrução Normativa número 31.³³ O grupo de animais do complexo homeopático manteve a CCS em níveis abaixo de 300.000 células/mL. Valores baixos de CCS auxiliam na manutenção da saúde da glândula mamária, havendo a possibilidade de bonificação financeira ao produtor, aumentando os lucros na comercialização do leite.

A melhora no estado dos animais acometidos, e conseqüentemente na qualidade do leite, a partir do uso da homeopatia foi evidenciada no presente estudo, com menor CCS no grupo tratado com o complexo homeopático comparado ao grupo placebo no dia 60. Os resultados são semelhantes aos encontrados na literatura,^{29,30} observando que a suplementação oral com complexos homeopáticos promove uma alteração significativa na CCS das vacas em lactação, com diminuição da CCS no grupo tratado. Isto também é consistente com o benefício observado em outros tratamentos homeopáticos. Por exemplo, em um estudo utilizando um complexo homeopático em vacas leiteiras, foi observada uma diminuição na mastite subclínica em animais tratados com homeopatia quando comparados ao grupo placebo.³⁵ Em animais secos vacas tratadas com homeopatia, foi observada proteção contra mastite após o parto subsequente.³⁶

Porém, de acordo com a literatura,^{37,38} a eficácia dos protocolos homeopáticos na redução da CCS em vacas leiteiras tem apresentado variação nos resultados, com alguns estudos mostrando benefício e outros não. Essas diferenças nos resultados podem ser explicadas por alguns fatores como a falta de padronização no preparo dos medicamentos homeopáticos, a forma de administração, as dosagens utilizadas, os patógenos presentes em cada caso e as condições ambientais em que o estudo foi realizado; todos eles são fatores importantes que afetam a probabilidade de obter benefícios do tratamento.

Também é importante levar em consideração que se acredita que o processo de cura pela homeopatia seja substancialmente diferente daquele que ocorre nas terapias convencionais, sendo comum o aumento da CCS no início do uso da homeopatia, devido à reação do organismo que antecede a cura, que pode ter intensidade e duração variáveis.³⁹ É importante também atentar para a legislação vigente, que utiliza a CCS como determinante da qualidade do leite.⁴⁰

Em relação à produção de leite, sabe-se que a mastite provoca diminuição deste parâmetro⁴¹ e mesmo tendo havido melhora na qualidade do leite no grupo tratado com complexo homeopático, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos complexo homeopático e placebo n. produção diária de leite. Corroborando nossos achados utilizando complexo homeopático em vacas leiteiras, nenhuma diferença significativa foi observada na produção de leite entre o grupo tratado com complexo homeopático e placebo em outro estudo publicado.³⁵

Durante a mastite, os sólidos totais do leite também sofrem variações em suas concentrações, principalmente em relação à lactose e à gordura do leite, que geralmente estão reduzidas.⁴² A diminuição dos níveis de sólidos do leite ocorre, por exemplo, pela menor síntese de componentes causada por lesão no tecido mamário.⁴¹ e também por extravazamento de componentes para o sangue, através do aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos durante a inflamação da glândula mamária.⁴²

No presente estudo, o aumento nos níveis de gordura, lactose e sólidos totais no leite dos animais que receberam o medicamento complexo homeopático sugere um processo de cura ativo dentro do tecido da glândula mamária, evitando extravazamento e perda de constituintes do leite. Para o percentual de gordura do leite são subsidiados valores acima de 3,40, com 6% para cada ponto percentual; para proteínas, valores acima de 3,05 são subsidiados, com 6% para cada ponto percentual.³⁴ O grupo do complexo homeopático em nosso estudo apresentou valores mais elevados de gordura, e embora este não tenha sido um grande aumento, de acordo com Madalena 2000,⁴³ gordura e proteína são os componentes do leite de maior valor econômico para os laticínios, e sua concentração é um indicador da saúde do rebanho e está associada ao maior rendimento industrial dos laticínios.

Os efeitos na qualidade do leite verificados neste estudo podem estar ligados à melhora da resposta imune dos animais tratados e à redução do estresse dos animais, como evidenciado pelas concentrações plasmáticas de cortisol. O cortisol é liberado em condições de estresse e culmina em uma resposta imunológica prejudicada,⁴⁴ tornando os animais mais predispostos ao desenvolvimento de mastite, além de dificultar o processo de resolução do quadro. Os níveis séricos de cortisol foram mais baixos no grupo de medicamentos complexos homeopáticos do que no grupo placebo no dia 60. Foi demonstrado que os medicamentos homeopáticos alteram o comportamento dos animais, reduzindo o estresse.⁴⁵ Concordando com os resultados do presente trabalho, outros autores utilizaram um complexo homeopático em peixes tilápia do Nilo verificou redução nos níveis de cortisol quando comparado ao grupo placebo.⁴⁶ Além disso, em ovinos sob condições de restrição alimentar, foi observada redução nos níveis plasmáticos de cortisol e maior nível de anticorpos nos animais. que receberam complexo homeopático na dieta.⁴⁷

O ácido láctico sérico e a amônia também são considerados indicadores de estresse. O ácido láctico é um subproduto do lactato, que é liberado pelos músculos sob estresse para a gliconeogênese.⁴⁸ A amônia é derivada do catabolismo protéico, que também resulta da liberação de cortisol em estressores.⁴⁹ No presente estudo, entretanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos para esses dois parâmetros.

Os animais utilizados em nosso experimento apresentaram multirresistência aos antibióticos: os animais do grupo tratado com homeopatia tiveram índice MAR médio de 0,385 e o grupo controle sem tratamento com homeopatia teve índice MAR médio de 0,393. Valores acima de 0,2 são considerados de alto risco.¹⁷ Corroborando esses resultados, a coleta e análise de amostras de leite de vacas leiteiras identificaram 19 isolados com perfil fenotípico de multirresistência.⁵⁰ Pesquisando o perfil de resistência de 15 rebanhos de vacas leiteiras, onde o uso de antimicrobianos para tratamento e prevenção da mastite bovina foi relatado em todas as propriedades estudadas, foram observados 12 padrões de resistência, sendo 6 deles de natureza multirresistente. Os padrões mais prevalentes foram resistência à penicilina, ampicilina e tetraciclina.⁵¹ Em outro estudo, observou-se que cinco dos seis isolados de *Escherichia coli* coletados do leite mastítico apresentaram multirresistência aos antimicrobianos tetraciclina, neomicina e gentamicina.⁵²

Em pesquisa realizada com 120 cepas de *E. coli* isoladas de mastite bovina, foi demonstrado que 20% das cepas dessa bactéria eram resistentes a dois ou mais antimicrobianos.⁵³ Observou-se que penicilina, ampicilina, amoxicilina e neomicina são os antimicrobianos aos quais os microrganismos causadores de mastite apresentam maior resistência.⁵⁴ As cepas bacterianas isoladas do leite dos animais do presente estudo apresentaram resistência a oito antimicrobianos diferentes, indicando a clara necessidade de buscar novas alternativas para o tratamento da mastite bovina.

As limitações do estudo incluem a falta de randomização ou cegamento, bem como o pequeno tamanho da amostra. A randomização dos grupos não foi feita porque os animais utilizados no experimento são do rebanho leiteiro da universidade, cujo manejo dificulta a randomização em grupos experimentais. Embora tenha sido utilizado um pequeno número de animais por grupo experimental, o estudo ainda fornece dados preliminares importantes sobre o potencial de uma nova combinação de produtos homeopáticos em uma área de grande necessidade clínica.

Diversas classes de antimicrobianos utilizados no tratamento de doenças em animais também são utilizadas em tratamentos humanos, reforçando a preocupação de que o uso indevido de antimicrobianos em animais pode favorecer o desenvolvimento de resistência antimicrobiana em humanos.⁵⁵ O uso do medicamento complexo homeopático no atual estudo foi eficaz no controle da mastite em vacas leiteiras holandesas multirresistentes e resistentes a antibióticos. Novos estudos deverão ser realizados utilizando delineamento de ensaios clínicos randomizados duplo-cegos e com maior número de animais por grupo experimental.

Conclusão

Verificou-se que o uso de um novo medicamento complexo homeopático incorporado na dieta de vacas leiteiras teve um impacto promissor na CCS do leite, com um valor estatisticamente significativamente inferior ao placebo no dia 60. Um aumento significativo no teor de gordura, lactose e sólidos totais do leite aos 60 dias de tratamento, com redução dos níveis séricos de cortisol nos animais tratados com homeopatia, possibilitando a obtenção de leite de qualidade superior, além de proporcionar maior bem-estar aos animais de produção.

Highlights

- O estudo avaliou o potencial de um novo medicamento complexo homeopático no tratamento da mastite bovina.
- Após 60 dias de tratamento de vacas leiteiras, a CCS aumentou significativamente no grupo tratado com placebo em comparação com o grupo tratado com homeopatia.
- Comparado ao placebo, o grupo tratado com homeopatia apresentou redução do cortisol plasmático e maiores porcentagens de gordura, lactose e sólidos totais no leite.
- O medicamento homeopático pode ter melhorado o controle imunológico da mastite.

Supplementary material

Supplementary File 1. Ethics committee certificate.

Financiamento

Esta pesquisa foi apoiada pela Universidade Paranaense. Os autores agradecem à Empresa Minerphós pela gentil doação dos produtos.

Referências

- 1 Martins RP, Da Silva JAG, Nakazato L, et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá-MT. *Cienc Anim Bras* 2010;11:181–187
- 2 de Lima LNC, Torres LS, Da Silva LKB, et al. Avaliação microbiológica do leite cru e pasteurizado comercializado no município de Benevides-PA. *Scientia Plena* 2016;12:1–6
- 3 Fagundes H, Fernandes CAO. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. *Cienc Rural* 2004;34:1315–1320
- 4 Cades M, Zanini DS, de Souza HL, et al. Perfil de resistência antimicrobiana de mastite bovina em propriedade leiteira no município de Monte Negro/RO. *Revista Brasileira de Ciências da Amazônia* 2017;6:15–20
- 5 Costa Noel CC, Motta FS, Francisco NLSG, de Almeida NR, de Castro Soares L. Perfil de suscetibilidade antimicrobiana e produção de “slime” de isolados de *Staphylococcus* spp. provenientes de casos de mastite bovina na região sul-fluminense. *Revista de Saúde* 2016;7:22–26
- 6 Fukuya MH. Avaliação de multirresistência de *Staphylococcus aureus* de amostras de leite de vacas em assentamentos da região do Pontal do Paranapanema-SP. PhD dissertation. São Paulo, SP: Universidade de São Paulo; 2021
- 7 Chandrasekaran D, Venkatesan P, Tirumurugan KG, et al. Pattern of antibiotic resistant mastitis in dairy cows. *Vet World* 2014; 7:389–394
- 8 Santé LF. Bactérias resistentes. O consumo de antibióticos está quase fora de controle. *Brasil* 247, May 15, 2018. Accessed June 10, 2022 at: <https://fenafar.org.br/2022/05/17/bacterias-resistentes-o-consumo-de-antibioticos-esta-quase-fora-de-controle/>
- 9 Silva SGM, Melo BA, Santos MT, et al. Resistance of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics. *Research. Soc Dev* 2022; 11:1–7
- 10 Cordioli E, Oldra A, Schmitt FA. Sistemas de produção de leite e qualidade do produto final na agricultura familiar. *Cadernos de Agroecologia*; 2009;4
- 11 Signoretti RD, Veríssimo CJ, de Souza FHM, et al. Aspectos produtivos e sanitários de vacas mestiças leiteiras tratadas com produtos homeopáticos. *Arquivo Instituto de Biologia* 2010;77:625–633
- 12 Costa NC, de Araújo RL, de Freitas GBL. Homeopatia: Um campo terapêutico fundamental no cuidado veterinário de animais de produção. *Rev Salusvita* 2009;3:73–89
- 13 Teixeira MZ. Fundamentação científica do princípio de cura homeopático na farmacologia moderna. *Revista de homeopatia* 2017;80:40–88
- 14 De Jesus RA, Coutinho CA. Uso de medicamentos homeopáticos para o tratamento da mastite bovina: Revisão. *Pubvet* 2017;12:1–10
- 15 Andrews RJ, Kitchen BJ, Kwee WS. Relationship between individual cow somatic cell count and the mastitis infection status of the udder. *Aust J Dairy Technol* 1983;38:71–74
- 16 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 4 ed. Wayne: Approved Standard VET01–A4.CLSI; 2013
- 17 Blasco MD, Esteve C, Alcaide E. Multiresistant waterborne pathogens isolated from water reservoirs and cooling systems. *J Appl Microbiol* 2008;105:469–475

- 18 Farmacopéia Homeopática Brasileira 3rd ed. 2011. 300p. Accessed February 8, 2023 at: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-homeopatica>
- 19 Ayres M, Ayres Júnior M, Ayres DL, Santos AA. BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém: Ong Mamiraua; 2007
- 20 Peixoto ECTM, Pelanda AG, Radis AC, et al. Incidência de mastite bovina em animais homeopatizados. Rev Inst Laticínios Cândido Tostes 2009;64:66–71
- 21 Varshney JP, Naresh R. Comparative efficacy of homeopathic and allopathic systems of medicine in the management of clinical mastitis of Indian dairy cows. Homeopathy 2005;94:81–85
- 22 Nóbrega DB, Langoni H, Joaquim JGF, et al. Utilização de com- posto homeopático no tratamento da mastite bovina. Arq Inst Biol (Sao Paulo) 2009;76:523–537
- 23 Kiarazm M, Tajik P, Nava HG. Assessment of the effect of homoeopathic nosodes in subclinical bovine mastitis. Ann Biol Res 2011; 2:552–562
- 24 Defiltro RC, Glombowsky P, Girardini LK, et al. Addition of a homeopathic preventive product for mastitis in dairy cow feed: effects on etiologic agents, animal health, production, composition, and quality of milk. Research. Soc Dev 2020;9:1–30
- 25 Paim JB, Fraga DR, Libardoni F, et al. Avaliação de tratamento homeopático na prevalência da mastite bovina. Pubvet 2020; 14:1–5
- 26 Stoppe CV, Brassaloti CBP, Cândido CC, et al. The efficiency of homeopathy in the quality of bovine milk. Brazilian Journal of Development 2021;7:51305–51315
- 27 Mangiéri Júnior R, et al. Avaliação de tratamento homeopático na mastite bovina subclínica. Vet Zootec 2007;14:91–99
- 28 Silva MP. Identificação e caracterização de estirpes de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* associadas às mastites bovinas persistente e não persistente [Doctoral thesis]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2015
- 29 Martins CR, Vieira EC, Gazim ZC, et al. Tratamento de mastite subclínica por meio de suplementação mineral homeopática da dieta de vacas leiteiras em lactação. Cultura Homeopática 2007; 19:16–19
- 30 Barzon CD, Medeiros F, Moraes RE, et al. Preliminary study of homeopathic treatment of subclinical mastitis evaluated through somatic cells count and California mastitis test. Int J High Dilution Res 2008;7:147–151
- 31 Campos R, Lacerda LA, Terra SR, González FHD. Parâmetros hematológicos e níveis de cortisol plasmático em vacas leiteiras de alta produção no Sul do Brasil. Braz J Vet Res Anim Sci 2008; 45:354–361
- 32 Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J Dairy Sci 1994;77:2103–2112
- 33 Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, alterada pela Instrução Normativa nº 7, de 3 de maio de 2016. Brasília, BR: Diário Oficial da União; July 2, 2018. Paper 2.
- 34 Bandeira A. Leite: Pagamento por qualidade a experiência do pool leite ABC. In: Seminário Estadual Sobre Qualidade do Leite, Castro, Paraná. 2004
- 35 Searcy R, Reyes O, Guajardo G. Control of subclinical bovine mastitis: Utilization of a homoeopathic combination. Br Homeopathy J 1995;84:67–70
- 36 Klocke P, Ivemeyer S, Butler G, Maeschli A, Heil F. A randomized controlled trial to compare the use of homeopathy and internal Teat Sealers for the prevention of mastitis in organically farmed dairy cows during the dry period and 100 days post-calving. Homeopathy 2010;99:90–98
- 37 Keller D, Sundrum A. Comparative effectiveness of individualised homeopathy and antibiotics in the treatment of bovine clinical mastitis: randomised controlled trial. Vet Rec 2018;182:407
- 38 Zeise J, Fritz J. Use and efficacy of homeopathy in prevention and treatment of bovine mastitis. Open Agric J 2019;4:203–212
- 39 Mitidieiro AMA. Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como opção na bovinocultura leiteira: avaliação dos aspectos sanitários e de produção [PhD dissertation]. Florianópolis, SC: Universidade Federal de Santa Catarina; 2004
- 40 de Almeida AC, Soares TMP, Silva DB, et al. Atividade de bioterápicos para o tratamento de mastite subclínica bovina. Rev Bras Agroecol 2011;6:134–141
- 41 Schultz LH. Somatic cells in milk-physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. J Food Prot 1977; 40:125–131
- 42 Kitchen BJ. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. J Dairy Res 1981;48:167–188
- 43 Madalena FE. Valores Econômicos para a Seleção de Gordura e Proteína do Leite. Rev Bras Zootec 2000;29:678–684
- 44 Marzotto M, Conforti A, Magnani P, Zanolin ME, Bellavite P. Effects of Ignatia amara in mouse behavioural models. Homeopathy 2012;101:57–67
- 45 Oppermann RV, Alchieri JC, de Castro GD. Efeitos do estresse sobre a imunidade e a doença periodontal. Rev Fac Odontol P Alegre 2002;43:52–59
- 46 Merlini LS, Vargas L, Piau R Jr, Ribeiro RP, Merlini NB. Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Homeopathy 2014; 103:139–142
- 47 Chabel JC, Van Onselen JV, Morais MG, et al. Efeito de um complexo homeopático “Homeobase Convert H®” em ovinos sob condições de restrição alimentar. Braz J Vet Res Anim Sci 2009;46:412–423
- 48 Acco A. Mensuração dos níveis sericos de cortisol e de lactato desidrogenase como indicadores de estresse em cutia (*Dasyprocta azarae*) [PhD dissertation]. Curitiba, PR: Universidade Federal do Paraná; 1998
- 49 Alves AR, Figueiredo Júnior JP, Santana MHM, et al. Efeito do estresse sobre a qualidade de produtos de origem animal. Pubvet 2016;10:448–459
- 50 Ferreira LB, Israel LFS, Rabello RF, et al. Risk factors associated with the occurrence of multiresistant *Staphylococcus* spp. isolated from bovine subclinical mastitis in northern Brazil. Semin Cienc Agrar 2022;43:901–910
- 51 Dias JA, Menezes CA, Brito MAVP, et al. Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* spp. isolates in cattle herds from Western Amazon. Semin Cienc Agrar 2022;43:1355–1364
- 52 Moreira MAS, Ferreira AB, Trindade TFSL, et al. Resistência a antimicrobianos dependente do sistema de efluxo multidrogas em *Escherichia coli* isoladas de leite mastítico. Arq Bras Med Vet Zootec 2008;60:1307–1314
- 53 Ribeiro MG, Costa EO, Leite DS, et al. Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. Arq Bras Med Vet Zootec 2006;58:724–731
- 54 Acosta AC, Silva LBG, Medeiros ES, et al. Mastites em ruminantes no Brasil. Pesqui Vet Bras 2016;36:563–573
- 55 Freitas GD, Lima CP, Coelho DFS, et al. Uso de diferentes métodos no controle do desenvolvimento do *Staphylococcus aureus*: uma revisão da literatura. Research. Soc Dev 2021;10:e40310212546