

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

Aplicação de um fitoterápico a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha

Diane Bender Almeida Schiavon

Pelotas, 2011

Diane Bender Almeida Schiavon

**Aplicação de um fitoterápico a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-
ordenha**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Sanidade animal).

Orientador: Luiz Filipe Damé Schuch

Pelotas, 2011

Dados de catalogação na fonte:

(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S329a Schiavon, Diane Bender Almeida

Aplicação de um fitoterápico a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha / Diane Bender Almeida Schiavon ; orientador Luiz Filipe Damé Schuch. Pelotas, 2011.-36. : il..- Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

Banca examinadora

Dr^a. Sílvia Regina Leal Ladeira

Dr. Gilberto Antônio Peripolli Bevilaqua

Dr. Gustavo Schiedeck

Dr. João Luiz Zani (Suplente)

Dr. Luiz Filipe Damé Schuch (Orientador)

Dedicatória

Ao meu marido Jairo
Aos meus pais Edilon e Lorena

Agradecimento

Foram tantas as pessoas que me ajudaram na elaboração e realização desse trabalho. A todos estes antecipo um “muito obrigada”. Mas, sem dúvida, há aqueles que precisam ser mencionados:

À Deus, Senhor de todas as coisas, obrigada pelas oportunidades que tens me dado.

Ao meu irmão Diones Bender Almeida, exemplo de profissional.

Ao meu orientador Dr. Luiz Filipe Damé Schuch, muito obrigada pela amizade, estímulo, orientação e paciência. Seus ensinamentos não se limitam apenas a este trabalho, serão importantes em toda a minha trajetória. Meu profundo respeito e admiração.

Aos moradores da COOPAVA pela disponibilidade que tornou possível a execução do estudo.

As colegas do Laboratório de Bacteriologia, pelo grande apóio, incentivo e dedicação na elaboração deste trabalho.

A CAPES pelo apóio financeiro.

Resumo

SCHIAVON, Diane Bender Almeida. **Aplicação de um fitoterápico a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha**. 2011. 38f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.

Mastite bovina é a doença que causa os maiores prejuízos na produção leiteira. A fitoterapia a base de *Tagetes minuta* pode ser utilizada para controle da enfermidade em unidades de produção agroecológicas. O trabalho objetivou avaliar a aplicação de anti-sépticos obtidos de planta medicinal na desinfecção de tetos pós-ordenha. Os tratamentos consistiram em iodo comercial como tratamento 1, utilizado como pós-dipping nos tetos do lado direito, e extrato hidroalcoólico de folhas de *Tagetes minuta* L. e macerado de sementes de *Linum usitatissimum* L., ambos à 10%, utilizados nos tetos esquerdos como pos-dipping de vacas em uma unidade de produção comercial que possuía, em média, 60 animais em ordenha durante o experimento que teve duração de 12 semanas. A prevalência de mastite sub-clínica foi avaliada utilizando o teste de CMT uma vez por semana. Teste da caneca de fundo escuro foi realizado em todas as ordenhas. Amostra de leite de todos os quartos foi coletada semanalmente para isolamento e caracterização dos microrganismos presentes. A incidência de novas infecções intra-mamárias foi calculada utilizando o número de dias livres de infecção por quarto, contados pela análise semanal de leite de todos os quartos em cultura de Agar sangue, como denominador, e o número de casos novos como numerador, definido como cultura positiva para *Staphylococcus spp.* ou *Streptococcus spp.* na amostragem do leite por quarto. O índice foi corrigido para 1000 quartos dia. Foram critérios de exclusão: infecção por *Streptococcus spp.* ou *Staphylococcus spp.* no início do trabalho e até duas semanas após uma coleta microbiologicamente positiva. Animais com duas coletas sucessivas negativas após uma positiva foram considerados curados e reintroduzidos na contagem de dias sem infecção. O teste do qui-quadrado foi utilizado para comparação das frequências dos eventos entre os tratamentos. A prevalência semanal do CMT variou no grupo 1 entre 29,5% e 17,1%, e no grupo 2 de 29,7% a 19,6%, não diferindo significativamente em nenhuma das semanas. A incidência de cultura positiva para *Staphylococcus/Streptococcus* foi de 3,93 e 6,96/1000 quartos/dia para os grupos 1 e 2 respectivamente, com $p=0,057$. Houve quatro casos de mastite clínica durante o experimento, dois em cada tratamento. Concluímos que o uso de extratos de plantas na desinfecção de tetos pós-ordenha pode ser útil aos sistemas de produção de leite agroecológico.

Palavras chave: Mastite, fitoterapia, *Tagetes minuta*

Abstract

SCHIAVON, Diane Bender Almeida. **Aplicação de um fitoterápico a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha**. 2011. 38f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.

Bovine Mastitis is a disease that causes high damage to milk production. Phytotherapy is the basis of *Tagetes minuta* L. can be used for disease control agroecological production units. The study aimed to evaluate application of antiseptics from medicinal plant from the postmilking teat disinfection. The treatments consisted of commercial iodine with treatment 1, used as teat pos-dipping on the right side, and hydro alcoholic extract from leaves of *Tagetes minuta* and macerated seeds *Linum usitatissimum* L., both at 10%, used on teats left as pos-dipping, cows in a commercial production unit that had, in average of 60 milking animals during the experiment that lasted 12 weeks. The prevalence of subclinical mastitis was evaluated using the CMT test once a week. Test mug of dark background was done at all milking. Sample of milk from all quarters was collected weekly for the isolation and characterization of present microorganisms. The incidence of new intramammary infections was calculated using the number of infection-free days by quarters, counted by weekly analysis of milk from all quarters in blood agar culture, as the denominator and the number of new cases as the numerator, defined as culture positive by *Staphylococcus* spp. or *Streptococcus* spp. in Sampling of milk per room. The index was corrected to 1000 / 4 days. Exclusion criteria: infection with *Streptococcus* spp or *Staphylococcus* spp in early labor and up to two weeks after a collection microbiologically positive. Animals with two successive collections negative after a positive were considered cured and reintroduced in the counting of days without infection. The chi-square test was used to compare the frequency of events between treatments. The CMT's weekly prevalence ranged in group 1 between 29.5% and 17.1%, and group 2 from 29.7% to 19.6%, not significantly different in any of weeks. The incidence of positive cultures for *Staphylococcus* / *Streptococcus* was 3.93 and 6.96 / 1000 / 4 / day for Groups 1 and 2 respectively, $p = 0.057$. There were four cases of mastitis clinic during the experiment, two in each treatment. We concluded the use of plant extracts for the disinfection of teats pos-dipping can be useful systems for milk production agro ecological.

Keyword: mastitis, phytotherapy, *Tagetes minuta*

Lista de figuras

Figura 1	<i>Tagetes minuta</i> L. em floração.....	27
Figura 2	Imersão dos tetos pós-orderna com extrato de <i>Tagetes minuta</i> L.....	28
Figura 3	Efeito da solução anti-séptica a base de mucilagem de linhaça pós-aplicação.....	28
Figura 4	Cultura do leite no laboratório de doenças infecciosas.....	29
Figura 5	Percentual de quartos CMT negativo nas 13 semanas do experimento para os dois tratamentos.....	30

Lista de abreviaturas e siglas

CCS – Contagem de Células Somáticas

CMT – California Mastitis Test

COOPAVA – Cooperativa de Produção Agropecuária Vista Alegre

EHA – Extrato Hidroalcoólico

IIMs – Infecções Intra-Mamárias

OMS – Organização Mundial da Saúde

Sumário

1- INTRODUÇÃO.....	10
2- REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1- PLANTAS MEDICINAIS.....	13
2.2- FITOTERAPIA.....	15
2.3- <i>Tagetes minuta</i> L.....	18
2.4- MASTITE.....	20
3- APLICAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO A BASE DE <i>Tagetes minuta</i> L. NA ANTI- SEPSIA DE TETOS DE VACAS PÓS-ORDENHA.....	23
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	24
INTRODUÇÃO.....	25
METODOLOGIA.....	25
RESULTADO E DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO.....	32
4- CONCLUSÃO GERAL.....	33
5- REFERÊNCIAS.....	34

1 - Introdução

A Atenção Primária em Saúde pode ser definida como a atenção essencial à saúde baseada em tecnologia e métodos práticos, cientificamente comprovados e socialmente aceitáveis, tornados universalmente acessíveis a indivíduos e famílias na comunidade por meios aceitáveis para eles e a um custo que tanto a comunidade como o país possa arcar em cada estágio de seu desenvolvimento. Neste sentido, a valorização do potencial da medicina tradicional e o consequente uso das plantas medicinais vêm sendo enfatizados como suportes que a fundamentam.

Segundo Müller & Balagizi (2005), a medicina tradicional possui uma enorme variedade de métodos utilizados para o tratamento de doenças, na qual é baseado no conhecimento pessoal e que é transmitido ao longo das gerações. Esse método é utilizado principalmente por causa da sua própria experiência, com base nas suas próprias observações.

No Brasil e no mundo, há um crescente interesse por produtos derivados da biodiversidade. Nosso país, por ser privilegiado, é detentor de grande diversidade biológica, o qual conta com inúmeras espécies vegetais com potencial medicinal.

Essas plantas fazem parte da história da humanidade, desempenhando um papel chave na cura das doenças, pois já sabiam distinguir as plantas comestíveis daquelas que poderiam ajudar a curá-lo de alguma enfermidade (DUTRA, 2009; RUIZ, 2009). A desigualdade social faz com que as famílias mais carentes busquem alternativas e soluções para a promoção da qualidade de vida.

A utilização desses produtos naturais e de baixo risco na produção animal vem crescendo muito nos últimos anos, com isso a medicina tradicional vem ganhando importância dentro da medicina veterinária, com o intuito de substituir o uso de antibióticos e outros químico-convencionais que além do alto custo, causam danos tanto ao ambiente, quanto a saúde pública (WANZALA et al., 2005).

A utilização da fitoterapia sugere que os medicamentos naturais apresentam uma relação risco-benefício favorável. Entretanto, esses métodos podem ser considerados como um potencial e atraente recurso terapêutico. Persiste a necessidade de avaliar os reais benefícios e os possíveis riscos apresentados através da realização de ensaios clínicos conduzidos em conformidade com os princípios da ciência clínica atualmente praticada (Brasil, 2008).

Algumas dessas plantas com propriedades medicinais, segundo o conhecimento popular são utilizadas com fim bactericida, como é o caso da *Tagetes minuta*, que pode ser utilizada para tratamento e prevenção da mais prevalente enfermidade dos bovinos de leite, a mastite. (SILVA et al, 2003).

Há mais de 5000 anos a linhaça tem sido utilizada em diversas formas como ingredientes alimentar e por suas propriedades medicinais. O produto de beneficiamento da linhaça é o seu óleo, usado por diversas indústrias, como: têxtil, cosmética e farmacêutica, além da alimentícia.

A linhaça possui elevado conteúdo de fibra alimentar solúvel, que pela alta capacidade de hidratação e força do gel formado, é tradicionalmente denominada de goma ou mucilagem. Esta é um polissacarídeo heterogêneo, formado por xilose, arabinose, glicose, galactose, ácido galacturônico, ramnose e fucose a qual representa 8% do peso da semente.

A goma extraída da linhaça, pode se tornar um produto de elevado valor tecnológico na indústria alimentícia e cosmética, especialmente pelo seu excelente potencial como hidrocolóide, destacando-se a sua marcada capacidade de inchamento e alta viscosidade em solução aquosa. Esta goma exhibe propriedades de gel fraco, o que pode ser empregado para substituir a maioria das gomas não-gelatinosas em aplicações alimentícias e não-alimentícias. Sendo assim um importante selante natural (Monego, 2009).

A mucilagem de linhaça, seja extraída a quente ou a frio, tem sido utilizada em formulações de conhecimento populares como constituinte de soluções para imersão de tetos bovinos pós-orderha (EMATER, 2005).

As perdas econômicas mundiais por mastite bovina estão estimadas em trinta e cinco bilhões de dólares por ano (WELLENBERG et al., 2002). Entre os componentes deste custo estão: tratamento, descarte do leite alterado, redução na produção de leite dos animais, morte, perda definitiva de produção e descarte precoce de animais, custo do trabalho do agricultor e do veterinário, além das consequências econômicas para a indústria pelo ingresso de leite de qualidade alterada (DEGRAVES & FETROW, 1993; HILTERTON & BERRY, 2005).

Em função do alto índice das infecções que há atualmente, os antibióticos têm sido largamente utilizados nas fazendas e até em muitos casos, de maneira indiscriminada, seja para fins terapêuticos, principalmente visando a cura de mamites, ou ainda incorporados à alimentação animal como suplemento dietético. Tais procedimentos conduzem à presença de resíduos de antibióticos, representando um risco ao consumidor e sendo, portanto, um sério problema na área econômica e de saúde pública (NASCIMENTO et al., 2001).

O objetivo do trabalho é avaliar a aplicação de anti-sépticos obtidos a partir de extrato hidroalcolólico de uma planta medicinal com indicativo etnográfico anti-séptico/desinfetante na desinfecção de tetos pós-ordenha em bovinos de leite de diferentes raças juntamente com a mucilagem da linhaça marrom.

2 - Revisão da literatura

2.1 Plantas Medicinais

Desde o início da história da humanidade, o homem aprendeu a conhecer as plantas e aproveitar suas propriedades sobre o organismo. Por quase toda sua história, as plantas foram as mais importantes fontes de substâncias medicamentosas para aliviar e curar as enfermidades. Portanto, a natureza foi a primeira farmácia e o primeiro remédio que o homem teve conhecimento. Foi por meio de observação dos animais que o homem iniciou a utilizar as plantas medicinais (LIMA, 2006).

Na recuperação da saúde, desde as formas mais simples até as formas mais sofisticadas o homem aprendeu, em ambos os casos, a perceber que as plantas, administradas sob qualquer forma, seja como chá ou comprimido, tem a capacidade de provocar reação benéfica no organismo. A substância que atua é chamada de princípio ativo (LORENZI E MATOS, 2008).

Com base nesse conceito, a OMS, recomenda aos órgãos responsáveis pela saúde pública de cada país que: realizem levantamento regional das plantas usadas na medicina tradicional e identifique-as botanicamente; estimulem o uso daquelas plantas que tiverem comprovação terapêutica e desenvolvam programas que permitam cultivar e utilizar as plantas selecionadas. Para atender essas recomendações é preciso conhecer bem as plantas de cada região. Logo que os primeiros europeus chegaram ao Brasil se depararam com as tribos que já usavam as plantas como método de cura (MALINOWSKI, 2010).

Com o passar dos tempos, a preparação de medicamentos à base de ervas voltou a ser algo importante no tratamento de seres humanos e animais, especialmente nas zonas rurais, pois em comunidades isoladas, os agricultores pequenos e de subsistência dependem muito do uso de plantas medicinais na ausência de veterinários e medicamentos apropriados. De qualquer maneira, mesmo se eles estivessem disponíveis, os criadores de animais não teriam condições de pagar pelos seus serviços ou comprar os medicamentos necessários. As plantas medicinais, além de servir como uma adequada nutrição previne doenças e podem ajudar no tratamento de animais de uma maneira barata (DOMINGO, 2005).

Lorenzi e Matos (2008), citam que um dos primeiros autores a relatar sobre as plantas medicinais do Brasil foi o Frei Velloso (José Mariano da Conceição Velloso) (1742-1811), autor da “Flora Fluminensis” e posteriormente Francisco Cysneiros Freire Allemão (1797-1874) naturalista do Museu Nacional do Rio de Janeiro e professor da Faculdade de Medicina. O trabalho mais significativo dessa época foi de Karl Friedrich Philipp Von Martius (1794-1868), editor da “Flora Brasiliensis”, a mais completa obra da botânica já publicada no país, com o livro “Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis” publicado em 1843, relatando as virtudes medicinais das plantas. Pode-se também destacar a “Farmacopéia Brasileira” publicada inicialmente em 1929 por Rodolpho Albino Dias da Silva, apresentando informações sobre cem espécies de plantas.

Para o uso das plantas nos programas de fitoterapia em saúde pública é importante que as espécies utilizadas sejam cientificamente validadas como medicinais. Atualmente, muitas empresas vem desenvolvendo estudos sérios sobre as propriedades farmacológicas das plantas medicinais, obtendo resultados bem promissores (CORRÊA, 1998).

2.2 Fitoterapia

Segundo Guimarães & Bieski (2007), a fitoterapia é uma terapia caracterizada pelo uso das plantas medicinais nas suas mais diversas formas farmacêuticas, sem a utilização de substância ativa isolada. Sua abordagem incentiva o desenvolvimento comunitário, a solidariedade e a participação social.

As plantas medicinais são a base dos principais produtos para a saúde desde a antiguidade. Segundo a OMS, 80% da população mundial utiliza estas plantas no que se refere à atenção primária de saúde. O reconhecimento de seu valor como recurso clínico, terapêutico e econômico tem crescido progressivamente em vários países, os quais vem normatizando e legislando acerca dos diferentes critérios de segurança, eficácia e qualidade que devem envolver esses produtos (GUIMARÃES & BIESKI op. cit.).

No passado, a fitoterapia era mais utilizada por populações carentes, tanto da área rural como urbana, devido ao custo ser menor e a fácil disponibilidade. Atualmente, o uso das plantas medicinais como medicamento é utilizado em vários países como uma solução alternativa e o uso dessa prática está bem estabelecida em algumas culturas e tradições como na Ásia, América Latina e África (DUARTE, 2006).

A essência da fitoterapia possui dois mecanismos distintos para explicar a ação do fitoterápico. A primeira foi principalmente radicada no ocidente, que explica os efeitos terapêuticos através dos constituintes bioquímicos das ervas. A segunda, originada da cultura oriental, entende a planta como um aglomerado de substância, mas como um ser vivo capaz de restaurar o fluxo adequado da *energia vital* do organismo enfermo (CORRÊA et al., 1998).

Atualmente há grande interesse científico na pesquisa de plantas utilizadas na medicina popular. Vários fatores estimulam o uso da fitoterapia, como a necessidade de diminuir o custo da produção, exigência dos consumidores por produtos mais saudáveis, preocupação com o meio ambiente e sustentabilidade, interesse dos agricultores, especialmente das mulheres, tradição do uso, principalmente no meio rural, alto custo dos medicamentos industrializados e dificuldade em se obter assistência médica. Paralelo ao crescente interesse da sociedade pelas plantas é

necessário e importante o aprofundamento dos estudos para que haja comprovação ou não dos seus efeitos terapêuticos e possíveis efeitos colaterais (GARCIA & LUNNARDI, 2001).

Foi o século XVIII que abriu as portas para o conhecimento científico da medicina, apesar da arte da cura ter sido refinada, as plantas continuaram a ocupar uma posição de destaque, cerca de 90% dos medicamentos eram de origem vegetal. A indústria farmacêutica tinha um grande interesse pelas plantas, na qual estudaram sua composição e seus efeitos, assim partindo para a síntese dos princípios ativos, empregando-os de forma ampla na terapêutica de diversas entidades nosológicas, na qual podemos citar o ácido acetil-salicílico (AAS), atropina, digitálicos, efedrina, mentol, alguns opiáceos, pilocarpina, quinino, reserpina, teofilina, vimblastina, vincristina... entre outros fármacos obtidos a partir de plantas. Dentre os medicamentos comercializadas nas farmácias, 25% tem componente químico de plantas, enquanto nos homeopáticos essa porcentagem aumenta para 60% (CORRÊA et al., 1998).

O desenvolvimento de resistência a medicamentos de patógenos humanos e animais é um dos casos mais estudados, pois é um sério problema tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. O consumo exagerado de antibióticos em alguns países da Europa tem resultado na resistência bacteriana, causando assim um sério problema de saúde pública (DUARTE, 2006).

Conforme esse autor, a investigação de produtos naturais com atividade antibacteriana no Brasil vem aumentando significativamente a cada ano. Apesar de o nosso país possuir rica biodiversidade, somente estão disponíveis dados sobre 44 espécies de plantas, pertencentes a 20 famílias com atividade positiva. A consequência do baixo número de registros se dá pela divulgação restrita dos resultados de pesquisa, que geralmente são apresentados em eventos científicos regionais ou locais. As indústrias farmacêuticas nacionais e internacionais buscam cada vez mais produtos naturais, em virtude da variada biodiversidade presente nos diferentes biomas brasileiros (DUARTE op.cit.)

Em todo mundo, milhões de pessoas possuem animais em suas propriedades e muitas vezes dependem deles para fornecer alimentação, roupas, mão-de-obra, fertilizantes, atuando também como depósito de riqueza e meio de troca, encarando-

as muitas vezes, iguais aos seres humanos. Para manter esses animais saudáveis aplicou-se, durante séculos, práticas curativas tradicionais que foram transmitidas de geração em geração. Antes da medicina ocidental, todos os criadores dependiam dessas práticas tradicionais. De acordo com a OMS, nos países em desenvolvimento, cerca de 80% das pessoas dependem dessas práticas para o controle e tratamento de doenças que afetam não só aos humanos como também aos animais (DUTRA, 2009; TOYANG, 2007)

Segundo MATHIUS-MUNDY E MCCORKLE (1989, citado por ALMEIDA (2006)) a etnoveterinária é a ciência que envolve o conhecimento e a opinião das práticas populares utilizadas para a prevenção ou tratamento das doenças que acometem os animais. Dentre os ramos desta ciência milenar está a Fitoterapia que é o tratamento da patologia a base de plantas.

Recentemente o interesse pelas práticas etnoveterinárias foi incrementado, visto que estas práticas são muito menos propensas a desencadear resistência contra medicamentos e produzem menos efeitos colaterais nocivos para o meio ambiente que os medicamentos convencionais (TOYANG, 2007).

2.3 *Tagetes minuta* L.

Tagetes minuta L. é uma planta aromática nativa da América do Sul. É vulgarmente conhecida como chinchilho, cravo-de-defunto, chinchila, picão do reino, entre outros. É um subarbusto anual, ereto, pouco ramificado, malcheiroso de 1-2m de altura. Possui folhas compostas e flores em pequenos capítulos amarelos. Multiplica-se facilmente por semente e cresce naturalmente a partir da primavera e praticamente desaparece com o início do inverno. O gênero *Tagetes* pertence à família Asteraceae, é composto por 56 espécies, sendo 27 anuais e 29 perenes. (CHAMARRO, 2008; LORENZI & MATOS 2008; SENATORE, 2004).

Segundo Meshkatsadat et al. (2010), o óleo de *T. minuta* L. tem sido investigado por vários trabalhos que identificaram (Z)- β -ocimeno dihydrotageton, (Z) - e (E) tagetone, e (Z) - e (E)-tagetenone [(Z) - e (E)-ocimenona] como componentes principais. Os resultados desta análise, mostram que o óleo de *T. minuta* foi particularmente rico em limoneno (13,0%), piperitenona (12,2%), terpinoleno- α (11,0%), piperitone (6%), (E) tagetone (5,7%) e (Z)-ocimenona (5,1%).

O óleo de *T. minuta* consistiu principalmente de hidrocarbonetos monoterpênicos (28,3%), monoterpênicos oxigenados (45,2%), sesquiterpenos hidrocarbonetos (2,5%) sesquiterpenos oxigenados (3,7%), diterpeno oxygenet (0,6%) e outros compostos (17,2%).

Este trabalho ilustrou as propriedades biológicas e aplicação de alguns componentes importantes de óleo essencial de *Tagetes minuta* L.:

Limoneno: é utilizado como material na fragrância para perfumar produtos domésticos e como componente artificial de óleos essenciais.

Piperitenona: é utilizado na fabricação de perfume e sabor concentrado de todos os tipos. Piperitenona é um valor intermediário para a síntese do mentol que é muito procurada para fins farmacêuticos e cosméticos.

α -terpinoleno: tem floral, doce e aroma de pinho.

Piperitone: é utilizado como principal matéria-prima para a produção de mentol sintético e timol. A fonte primária de D / L piperitone é de *mergulhos de eucalipto*, produzida principalmente em África do Sul.

(E) tagetone: afeta a função do receptor GABAA interferindo na permeabilidade da membrana celular ao cloro (MESHKATASADAT, 2010).

A atividade antibacteriana dos extratos hidralcoólicos e decocto do *T. minuta* L. já foi demonstrada, possuindo potente ação contra bactérias Gram positivas, em especial, *Streptococcus* spp (SCHUCHa et al., 2008).

2.4 Mastite bovina

A doença que mais afeta o rebanho leiteiro no mundo inteiro é a mastite bovina, causando sérios prejuízos econômicos tanto para as indústrias como para o produtor de leite (RODRIGUES, 2009).

A mastite é compreendida como uma reação da glândula mamária causada por agentes de natureza infecciosa, tóxica ou traumática. Ela se caracteriza por alterações químicas, físicas e organolépticas do leite e alterações no tecido glandular. É uma doença que reduz até 50% a produção de leite, pois as composições químicas e a vida produtiva da vaca são alteradas sendo responsável por grandes perdas econômicas (RIET-CORREA, 2007).

A mastite pode se apresentar de duas formas, clínica ou subclínica. Na forma clínica são visíveis as alterações do leite (presença de grumos, pús, sangue, leite aquoso), associadas ou não a alterações no úbere (dor, inchaço, aumento de temperatura). Dependendo do microrganismo, pode haver comprometimento do animal, que pode se apresentar febril, desidratado, apático e se não for socorrido a tempo pode correr risco de morte. O diagnóstico da mastite clínica é realizado pelo uso da caneca de fundo escuro onde são visualizadas alterações macroscópicas do leite. A mastite subclínica não possui alterações visíveis. É preciso realizações de alguns testes para detectar a doença. O diagnóstico se dá pelo resultado positivo aos testes de “California mastitis test” (CMT) entre outros, sendo confirmada pelo crescimento bacteriano. A forma clínica é a que causa maiores preocupações ao produtor. Entretanto, a mastite subclínica é a forma mais comum e responsável pelos maiores prejuízos (BRITO, 2010; RIBEIRO et al., 2003).

Segundo Dias (2007), a mastite pode ser classificada como contagiosa ou ambiental de acordo com o tipo de microrganismo. A contagiosa se caracteriza por baixa incidência de casos clínicos e alta de casos subclínicos. Apresenta alta contagem de células somáticas (CCS) e geralmente é de longa duração ou crônica. Os patógenos que infectam esse tipo de mastite tem, preferência por habitar o interior da glândula mamária e a superfície da pele dos tetos. Dessa forma, o principal momento de transmissão ocorre durante a ordenha. Já na mastite ambiental, a transmissão ocorre principalmente durante o período entre as ordenhas.

Cerca de 95% das infecções bacterianas são causadas por *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *S. uberis* e *Escherichia coli*. Os outros 5% são causadas por outros microrganismos (BRITO, 2010).

A porta de entrada para esses microrganismos é o esfíncter do teto, pois se essa estrutura se mantiver íntegra, dificilmente ocorrerá o crescimento neste meio. A contaminação ocorrerá se o ambiente onde o animal deita ou as mãos do operador estiverem contaminadas ou se o teto possuir feridas ou rachaduras. A penetração dos microrganismos no teto não significa que haja infecção, pois a bactéria precisa se fixar nos tecidos para ocorrer a infecção (DUQUE, 2005).

Neste caso, os produtos químicos-sintéticos mais utilizados no Brasil são os compostos halogenados (cloro e iodo), clorhexidina, aldeído e compostos de amônia quaternária (RIET-CORREA, 2007).

Os cuidados com a presença de resíduos de produtos químicos no leite tem se intensificado muito, principalmente a presença de antibiótico. O uso de antibióticos para tratar a mastite é causa de grande preocupação tanto para a saúde pública quanto para as indústrias. Esses resíduos, quando presentes no leite, interferem nos produtos lácteos como o queijo e outros produtos fermentados, causando sabor indesejável, reduzindo o valor dos produtos e podendo causar problemas de saúde (TOZZETTI, 2008).

A produção de leite no Brasil está cada vez mais competitiva. Por isso é importante quantificar e qualificar os fatores que influenciam a produção. O maior beneficiado pela qualidade do leite é o consumidor (DUQUE, 2005).

Estudos sobre as atividades antibacteriana de extratos e óleos essenciais de plantas nativas têm sido relatados em muitos países tais como Brasil, Cuba, Índia, México e Jordânia. Estes países possuem uma flora diversificada e uma rica tradição na utilização de plantas medicinais para uso como antimicrobianos. (MARTÍNEZ et al., 1996; NAVARRO et al., 1996; AHMAD & BEG, 2001; MAHASNEH et al., 1999; DUARTE et al., 2005)

As plantas medicinais são uma possível alternativa na substituição ao uso de desinfetantes e anti-sépticos químicos-convencionais. Essa alternativa se

fundamenta nos princípios de convenções internacionais, das quais o Brasil é signatário, como a da Atenção Primária em Saúde, firmada na Conferência da OMS em Alma-Ata, no ano de 1978 e na de Chiang-Mai, em 1988, reafirmadas na Conferência Mundial de Saúde de 1997. A utilização dessas plantas busca ampliar os recursos tecnológicos nacionais no setor de desinfetantes e anti-sépticos biológicos, contornando possíveis efeitos negativos que algumas substâncias químicas sintéticas possam ter sobre o usuário, o hospedeiro/susceptível, o ambiente, a resistência de agentes causais, além da redução de custos das práticas de higiene (AVANCINI, 2000).

Aplicação de uma solução a base de *Tagetes minuta* na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha

SCHIAVON, D.B.A.¹; SCHUCH, L.F.D.²; OYARZABAL, M.E.B.³; PRESTES, L.S.⁴; HARTWIG, C.A.⁵

¹ Mestranda em Medicina Veterinária. Endereço Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel) Campus universitário s/n, CEP 96010900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: dianebalmeida@gmail.com. Autor para correspondência.

² Orientador- Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

³ Doutoranda em Ciências Veterinária - UFRGS

⁴ Doutoranda em Medicina Veterinária – UFPel

⁵ Mestranda em Química – UFPel

Resumo

O sistema de produção de leite agroecológico esta limitado por alternativas sustentáveis de promoção a saúde animal. O controle da mastite com fitoterápicos pode ser viável econômica e ecologicamente. Avaliar a aplicação de anti-sépticos na desinfecção de tetos pós-ordenha. O trabalho consistiu na comparação de um convencional e um fitoterápico num rebanho comercial e teve como principal desfecho as novas infecções intra-mamárias. A prevalência semanal do CMT variou no grupo 1 entre 29,5% e 17,1%, e no grupo 2 de 29,7% a 19,6%, não diferindo significativamente em nenhuma das semanas. A incidência de cultura positiva para *Staphylococcus/Streptococcus* foi de 3,93 e 6,96/1000 quartos/dia para os grupos 1 e 2 respectivamente, com $p=0,057$. Houve quatro casos de mastite clínica durante o experimento, dois em cada tratamento. O uso de extratos de plantas na desinfecção de tetos pós-ordenha pode ser útil aos sistemas de produção de leite agroecológico.

Palavra chave: mastite, fitoterapia, *Tagetes minuta*

Abstract

The system of agro-ecological milk production is limited by promoting sustainable alternatives to animal health. The control of mastitis with medicinal plants can be economically and environmentally viable. To evaluate the application of antiseptics in the post-milking teat disinfection. The work is in the comparison of conventional and herbal extract in a commercial flock and had as its main enclosed new intramammary infections. The prevalence of CMT weekly in group 1 ranged between 29.5% and 17.1% and in group 2 from 29.7% to 19.6%, not differing significantly in any week. The incidence of positive culture for *Staphylococcus* / *Streptococcus* was 3.93 and 6.96 / 1000 / 4 / day for groups 1 and 2 respectively, $p = 0.057$. There were four cases of clinical mastitis during the experiment, two in each treatment. The use of plant extracts in the post-milking teat disinfection may be useful to systems of agro-ecological milk production.

Keyword: mastitis, phytotherapy, *Tagetes minuta*

Introdução

O *Tagetes minuta* L. é um sub-arbusto, pouco ramificado, com odor característico. Pertence à Família Compositae ou Asteraceae, Subfamília Asteroideae, Tribo Helenieae, Gênero Tagetes, Espécie *Tagetes minuta* Linné. Planta nativa da América do Sul que se reproduz apenas por semente. A espécie *minuta* faz referência ao tamanho das flores, pois seu tamanho pode alcançar 2m de altura (LORENZI & MATOS, 2008; SOUZA et al, 2000).

A mastite é a inflamação na glândula mamária, com grande impacto na produção leiteira, sendo a enfermidade mais prevalente dos bovinos leiteiros.

As perdas econômicas mundiais estão estimadas em trinta e cinco bilhões de dólares por ano (WELLENBERG et al, 2002). O uso indiscriminado de antibióticos conduzem à presença de resíduos no leite, representando um risco ao consumidor e sendo, portanto um sério problema na área econômica e de saúde pública (NASCIMENTO, 2001).

A utilização de produtos naturais, eficazes e de baixo risco, na produção animal tem ganhado importância nos últimos anos. Com isso a medicina veterinária vem se apropriando dos benefícios da medicina tradicional, na tentativa de substituir o uso de antibióticos e outros químico-convencionais que, além do alto custo, causam danos tanto ao ambiente, quanto a saúde pública (WANZALA, 2005).

Com isso, pretende-se avaliar a aplicação de anti-séptico obtido a partir de extrato hidro-alcóolico de uma planta medicinal com indicativo etnográfico anti-séptico/desinfetante de tetos pós-ordenha em bovinos juntamente com a mucilagem da linhaça.

Metodologia

A seleção da planta *T. minuta* L. foi realizada conforme trabalho realizado por Schuch et al. (2008) coletada na Cooperativa de Produção Agropecuária Vista Alegre (COOPAVA), organizada a partir do assentamento da reforma agrária Conquista da Liberdade, Município de Piratini. Dentro da metodologia utilizada pelos trabalhadores da COOPAVA, as plantas foram colhidas todas de uma vez só a parte aérea da planta na fase de floração, pela manhã no início do outono. A secagem das

plantas foi realizada ao ar, em varais à sombra, protegidos de insetos e chuva. O tempo de secagem, em média foi de 15 dias. O local da colheita foi num raio de 1 km, a partir da referência geográfica 31°39'34"S; 51°03'47"O. Após este período, as plantas foram armazenadas em bambonas plásticas de 100 litros.

Importante destacar que as 50 famílias que compõem o assentamento conquista da liberdade chegaram em Piratini no mês de fevereiro de 1992, oriunda da região do Alto Uruguai e Missões, região norte do Rio Grande do Sul após passarem um período de dois anos e cinco meses em acampamento. Todos eram agricultores e filhos de agricultores, na sua maioria, descendentes de colonos italianos ou da mescla dos povos europeus, africanos, e indígenas que deram origem a uma parcela importante da população do Estado do Rio Grande do Sul, os chamados “pelo duro”. Tornaram “sem terra” por força da expropriação da sua terra pelo crescimento do interesse econômico pelas terras onde nasceram e pela construção de barragens no Rio Uruguai (da Silva, 2005).

Produção da solução teste

Extrato hidroalcolico (EHA): Uma proporção de 1:10 (g/mL) de planta foi submetido a extração com etanol de cereais, hidratado à densidade de 70° GL. A mistura foi colocada em frasco âmbar e durante 15 dias, foi agitada 2x por dia. Ao final deste período, foram filtradas em filtro de gaze quatro dobras e armazenada em frasco âmbar, em local fresco e protegido da incidência da luz direta solar até sua utilização (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988; PRESTES et al, 2008)

Extrato da mucilagem da linhaça: Na proporção de 1:10 (g/mL), a semente de linhaça foi submetido a extração fria em água estéril por 24 horas, para retirar a goma ou mucilagem. A mucilagem foi armazenada em frasco âmbar, em local fresco e protegido da luz solar.

A solução teste para a imersão dos tetos pós-dipping foi composta na proporção de 2L do extrato da linhaça, 0,5L do EHA de *Tagetes minuta* e 1,5L de água.



Figura 1: *Tagetes minuta* L. em floração

Redução de novas Infecções Intra-Mamárias (IIMs)

O experimento foi realizado em rebanho comercial da COOPAVA (Cooperativa de produção Agropecuária Vista Alegre), em todos os animais em ordenha, com duração de 12 semanas. O tamanho do rebanho oscilou entre 58 a 68, devido à entrada e saída de vacas em lactação. O rebanho da cooperativa é um rebanho misto constituído por animais das raças Jersey e Holandês. Os tratamentos consistiram em (T1) - tratamento 1 (iodo comercial ®) utilizado como controle positivo e (T2) - tratamento 2 foi utilizado a solução teste. Os dois tratamentos foram utilizados como pós-dipping, o T1 nos tetos do lado direito e o T2 nos tetos do lado esquerdo. Os animais foram submetidos à ordenha e as demais práticas de manejo segundo a rotina dos trabalhadores.



Figura 2: Imersão dos tetos pós-ordenha com extrato de *Tagetes minuta* L



Figura 3: Efeito da solução anti-séptica a base de mucilagem de linhaça pós-aplicação

Foram coletados dados diários de mastite clínica (teste da caneca de fundo escuro e exame clínico). A prevalência de mastite sub-clínica foi avaliada utilizando o teste de CMT (California Mastitis Test) uma vez por semana.

Novas IIMs foram avaliadas através da cultura de amostras de leite de todos os quartos em ordenha. Essas amostras foram coletadas em tubos de ensaio estéreis após lavagem dos tetos com água, secagem com papel toalha e anti-sepsia

do óstios dos tetos com algodão embebido com álcool 70° GL. As amostras de leite para exames microbiológicos foram acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo reciclável e devidamente enviado ao Laboratório de bacteriologia da Universidade Federal de Pelotas - RS. As amostras foram cultivadas em ágar sangue ovino 5%. Os microrganismos isolados foram classificados segundo Quinn et al., (1998).



Figura 4: Cultura do leite no laboratório de doenças infecciosas

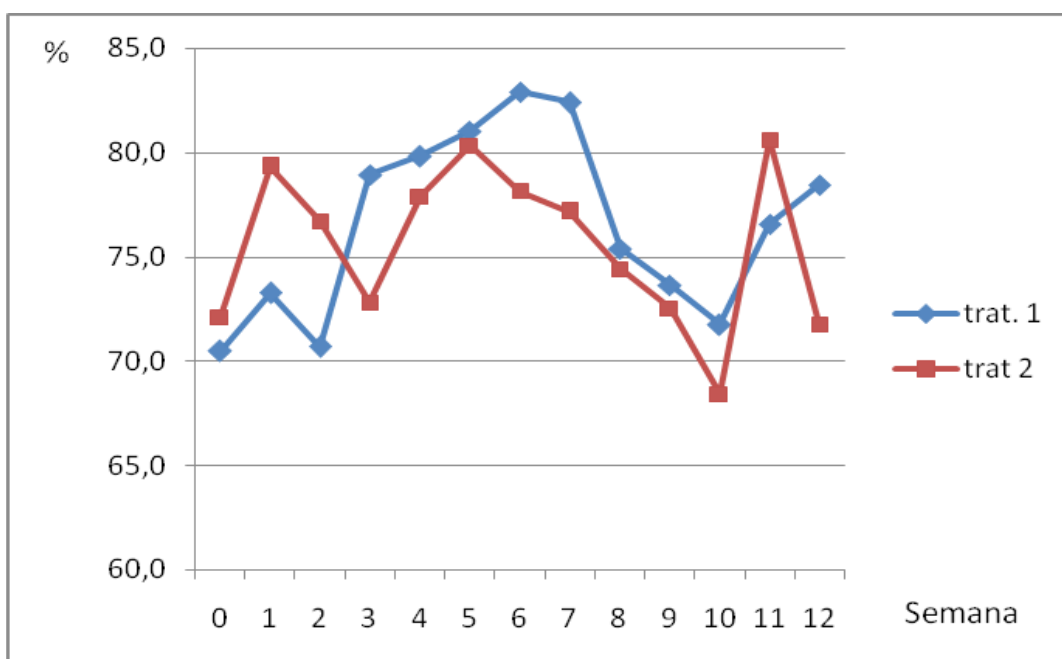
A incidência de novas infecções intra-mamárias foi calculada utilizando o número de dias livres de infecção por quarto, contados pela análise semanal de leite de todos os quartos em cultura de Agar sangue, como denominador, e o número de casos novos como numerador, definido como cultura positiva para *Staphylococcus* spp. ou *Streptococcus* spp. na amostragem do leite por quarto. O índice foi corrigido para 1000 quartos dia. Foram critérios de exclusão: infecção por *Streptococcus* spp ou *Staphylococcus* spp no início do trabalho e até duas semanas após uma coleta microbiologicamente positiva. Animais com duas coletas sucessivas negativas após uma positiva foram considerados curados e reintroduzidos na contagem de dias sem infecção. O teste do qui-quadrado foi utilizado para comparação das frequências semanais de mastite sub-clínica entre os tratamentos.

Resultado e discussão

A prevalência semanal do CMT variou no grupo 1 entre 29,5% e 17,1%, e no grupo 2 de 31,6% a 19,6%, não diferindo significativamente em nenhuma das semanas (FIGURA 5). A incidência de cultura positiva para *Staphylococcus*/*Streptococcus* foi de 3,93 e 6,96/1000 quartos/dia para os grupos 1 e 2 respectivamente, com $p=0,057$. Houve quatro casos de mastite clínica durante o experimento, dois em cada tratamento.

O número de novas IIMs causada por *Staphylococcus* spp, coagulase positiva ou *Streptococcus* spp no tratamento 1 foi de 15 e 10, respectivamente. Na solução teste, as novas IIMs com as mesmas bactérias foram 25 e 11, respectivamente (TABELA 1).

Figura 5: Percentual de quartos CMT negativo nas 13 semanas do experimento para os dois tratamentos



Trat. 1 – Iodo comercial; Trat. 2 – Solução teste

Tabela 1: Número de novas IIM com *Staphylococcus* spp, coagulase positivo e *Streptococcus* spp, e incidência de IIM/1000 quartos para ambos microrganismos em cada tratamento.

	Trat 1	Trat 2
Staphylococcus spp	15	25
Streptococcus spp	10	11
Incidência IIM	3,93	6,96
Trat 1: Iodo comercial Trat 2: Solução teste p=0,057		

A concentração de 0,5L do EHA de *T. minuta* L. foi ideal devido à presença do álcool, pois em concentrações maiores é tóxico para vaca. A mucilagem foi utilizada somente com a finalidade de atuar como selante natural, não interferindo na ação anti-séptica do EHA de *T. minuta* L..

O método etnoveterinário que é a ciência que envolve o conhecimento popular, utilizado para o tratamento ou prevenção das doenças que acometem os animais (ALMEIDA, 2006), permite perpetuar conhecimentos desenvolvidos ao longo da história do homem, na qual permite obter informações que podem ser utilizadas pela ciência.

Uma prática que podemos destacar é a atividade antibacteriana de extrato de plantas informadas por agricultores familiares como anti-sépticos/desinfetantes empregada na rotina de ordenha que é importante para o controle de mastite em bovinos. O EHA de *Tagetes minuta* foi avaliado frente a microrganismos causadores de mastite e de dermatofitose em humanos e animais, demonstrando a ação antibacteriana e antifúngica da planta (SCHUCHa et al, 2008; SCHUCHb, 2008).

O desinfetante deve ser adequado ao problema na qual será empregada, pois na fisiologia do úbere, o esfíncter do teto relaxa para a liberação do leite devido a descarga de ocitocina quando o animal é estimulado, e permanece relaxado em torno de 30 minutos após (SCHALM, 1971). A solução a ser utilizada na desinfecção de tetos de bovinos lactantes, deve ser eficaz sobre os agentes envolvidos na mastite, com o tempo de ação compatível ao manejo que os animais são submetidos e não devem possuir efeito colateral sobre a pele do animal e muito menos deixar resíduo no leite.

Conclusão

O resultado obtido no presente trabalho indica que o extrato testado (*T. minuta* L, *L. usitatissimum*. L.) foi estatisticamente tão eficaz quanto o controle demonstrando o potencial de uso desses extratos. Mais trabalhos precisam ser utilizados para otimizar o preparo do extrato e melhorar a sua eficácia.

Conclusão Geral

Concluimos que a planta medicinal utilizada neste trabalho, apresenta componentes antibacterianos que pode ser extraído através do solvente etanólico como potente atividade frente a bactérias relacionadas a mastite como *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp.

Através desse trabalho, pode-se observar o quanto o conhecimento tradicional é necessário para manter vivo o conhecimento, em qualquer área do saber. Essas comunidades sabem que, apesar de não ter acesso a uma cultura mais adiantada, tem nos quintais de suas casas ou em seus roçados a cura para muitos males que se manifestam em suas criações.

Sendo assim, é de suma importância que os caminhos apontados nesta pesquisa continuem sendo trilhados para posterior resguardo da história fitoterápica.

Referências

AHMAD, I.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian plants against multi-drug resistant human pathogens, **Journal of Ethnopharmacology**. 74: 113-123. 2001.

ALEIXO, J. L. M. A Atenção Primária à Saúde e o Programa Saúde da Família: Perspectivas de Desenvolvimento no início do Terceiro Milênio. **Revista Mineira de Saúde Pública**, Belo Horizonte, n.1, ano1, jan/jun 2002.

ALMEIDA, K. S. FREITAS, F. L. PEREIRA, T. F. C. Etnoveterinária: a fitoterapia na visão do futuro profissional veterinário. **Revista Verde**, Mossoró, v.1, n.1, p.67-74 janeiro/junho de 2006

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Atividade bacteriostática e bactericida do decoct de *Baccharis trimera* (less.) D.C., Compositae, carqueja, como desinfetante ou anti-séptico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n.3, p. 230-234, Jun. 2000

BRASIL. Ministério da Saúde. Instruções operacionais: informações necessárias para a condução de ensaios clínicos com fitoterápicos. Ministério da Saúde, **Organização Mundial da Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde; 2008

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.; ARCURI, E. F. **Controle da mastite ou como reduzir a contagem de células somáticas do rebanho bovino leiteiro**. Disponível em <www.cnp.gl.embrapa.br/lab/controlarmastite.doc>. Acesso em 05 dez. 2010.

CHAMORRO, E.R.; BALLERINI, G.; SEQUEIRA, A. F.; VELASCO, G. A.; ZALAZAR, M. F. Chemical composition of essential oil from tagetes minuta l. leaves and flowers. **Journal of the Argentine Chemical Society** – Vol. 96 - N° (1-2), 80-86. 2008.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S., QUINTAS, L. E. M. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica**. Petrópolis, RJ: Vozes, 1998.

DA SILVA, P.L. **Potencialidades e limites na produção de leite ecológico na Cooperativa e Produção Agropecuária Vista Alegre Piratini Ltda (COOPAVA)**. Monografia de conclusão de curso de ensino médio na modalidade de educação jovem e adulto, ITERRA, Viamão. 2005.

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

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasília**, v.1, n.1, p.23-27, 2007.

DOMINGO, I. V. **Plantas medicinais para o tratamento de animais**. 2005. Disponível em: <<http://tilz.tearfund.org>>. Acesso em: 12 jan. 2011.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multiciência**, Campinas, n. 7, 2006.

DUARTE, M. C. T., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A., REHDER, V. L. G., MACHADO, A. L. M., DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of essential oils and extracts from native and exotic medicinal plants used in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. Dublin, v. 97, n. 3, p. 305-311, 2005.

DUQUE, P. V. T.; BORGES, K. E.; PICCININ, A. Mastite Bovina: Descrição da doença e seus impactos na economia brasileira.. In: II Simpósio de Patologia Veterinária do Centro-Oeste Paulista, 2005, Garça. **Anais do II Simpósio de Patologia Veterinária do Centro-Oeste Paulista**, 2005.

DUTRA, M. G. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás**. Anápolis: UniEvangélica, 2009. Dissertação (Mestrado Multidisciplinar em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente), Centro Universitário de Anápolis, UniEvangélica, 2009.

EMATER. Rio Grande do Sul/ASCAR. **Procedimentos de prevenção e controle sanitário de mamite e verminose, em bovinos de leite, com uso de plantas medicinais**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, ed. Atheneu (S. Paulo), 4º ed., v.1, 1988

GARCIA, J. P. O.; LUNARDI, J. J. **Práticas alternativas de prevenção e controle das doenças dos bovinos**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2001.

GUIMARÃES, A. M. S & BIESKI, I. G. C. **Apostila do 5º curso de sensibilização em Plantas medicinais: formação de multiplicadores**. Cuiabá, 2007.

HILLERTON, J. E. & BERRY, E. A. Treating mastitis cow – a tradition or an archaism. **Journal of Applied Microbiology**., Washington, v. 98, p. 1250-1255. 2005.

LIMA, L. Fitoterápicos e usos de plantas medicinais. **Jornal da Unesp**, ano XVI, n. 166. 2006. Disponível em: <<http://www.unesp.br/aci/jornal/166/farmacologia.htm>>. Acessado em: 5 nov. 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Computação gráfica Henrique Marins Lauriano. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

MAHASNEH, A. M. A., ADEL, M. A., EL-OQLAH, A. A. B. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan, **Journal of Ethnopharmacology**. 64(3): 271-276. 1999.

MALINOWSKI, L. R. L. morfoanatomia, fitoquímica e atividades biológicas de folhas jovens de *eucalyptus globulus* labill. subespécie *bicostata* (maiden et al.) j. b. kirkpat., myrtaceae. Curitiba: UFPR, 2010. Dissertação (mestre em ciências farmacêuticas), Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2010.

MARTÍNEZ M, J., BETANCOURT, J., ALONSO-GONZÁLEZ, N., JAUREGUI, A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity, **Journal of Ethnopharmacology**. 52(3): 171-174. 1996

MESHKATALSADAT, H. M.;SAFAEI-GHOMI, J.; SAEID MOHARRAMIPOUR, S.; NASSERI, M. Chemical characterization of volatile components of tagetes minuta l. cultivated in south west of iran by nano scale injection. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**. Vol. 5, No 1, 2010

MONEGO, M. A. **Goma da linhaça (*Linum usitatissimum* l.) para uso como hidrocolóide na indústria alimentícia**. Dissertação de mestrado, PPG em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFSM. 2009.

MÜLLER, M.; BALAGIZI, I. **Medicina tradicional e medicina moderna: a necessidade de cooperação**. 2005. Disponível em: <<http://tilz.tearfund.org>>. Acesso em: 21 dez. 2010.

NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, p. 119-124. 2001.

NAVARRO, V., VILLARREAL, M. L., ROJAS, G., XAVIERB, L. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. **Journal of Ethnopharmacology** 53(3): 143-147. 1996.

PRESTES, L. S.; FRASCOLLA, R.; SANTIN, R.; SANTOS, M. A. S.; SCHRAM, R. C.; RODRIQUES, M. R. A.; SCHUCH, L. F. D. MEIRELES, M. C. A. Actividad de extratos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados com otitis externa. **Rev. Cubana Plant Med** v.13 n.4 Ciudad de la Habana sep.-dic. 2008.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Londres: Ed. Wolfe, 1998.

REZENDE, H. A de & COCCO, M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem**, USP, v. 36, n. 3, p. 282-288, jul. 2002.

RIBEIRO, M. E. R.; PETRINI, L. A.; AITA, M. F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF J. R, W.; GOMES, J. F.; SCHRAMM, R. C.; MARTINS, P. R.; BARBOSA, R. S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do rio grande do sul. **Revista Brasileira Agrocência**, v. 9, n. 3, p.287-290, jul-set, 2003.

RIET-CORREA, F. SCHILD, A. L. LEMOS, R. A. A. BORGES, J. R. J. (Org.) **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. Ed. v.1. Santa Maria: Pallotti, 2007.

RODRIGUES, A. R. O. **Influência da mastite na qualidade do leite in natura: revisão de literatura**. Recife: UFRSA, 2009. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2009.

RUIZ, M. E.; RODAS, M. A. P.; SANDOVAL, I. S.; ARREVILLAGA, S. D.; ÁVILA, L. M. C.. Análisis preliminar de la actividad antimicrobiana de la planta medicinal Chik chawa (*Tagetes nelsonii* Greenm.). **Revista Cubana de Plantantas Medicinai**s. vol.14, n.4, pp. 0-0. 2009.

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

SCHUCHa, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H.S.; PRESTES, L.S.; TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 161-169, jan./mar. 2008.

SCHUCHb, L. F. D.; WIEST, J. M.; GARCIA, E. N.; PRESTES, L. S.; SCHRAMM, R. C.; COIMBRA, H.; MEIRELES, M. C. A. Atividade antifúngica de extratos de plantas utilizados por agricultores familiares como antimicrobiano. **Acta Scientiae Veterinariae**. 36(3): 267-271, 2008.

SENATORE, F.; NAPOLITANO, F.; MOHAMED, M. A-H.; HARRIS, P. J. C.; MNKENI, P. N. S.; HENDERSON, J. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. **Flavour and Fragrance Journal**. 19: 574–578, 2004.

SILVA, S. L. C.; BORBA, H.R.; BONFIM, T. C. B.; CARVALHO, M. G.; CAVALCANTI, H. L.; BARBOSA, C. G. Ação anti-helmíntica de extratos brutos de *Andira anthelmia* (Vell.) Macbr. e *Andira fraxinifolia* Benth., em camundongos naturalmente infectados por *Vampirolepis nana* e *Aspiculuris tetraptera*. **Parasitología latinoamericana**. 58: 23 - 29, 2003.

SOUZA, A. S.; AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L. – Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 37, n. 6, dec. 2000.

TOZZETTI, D. S.; BATAIER, M. B. N.; ALMEIDA, L. R. **Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – Revisão de literatura**. Revista científica eletrônica de medicina veterinária. 2008

TOYANG, N. J.; WANYAMA, J.; NUWANYAKPA, M.; DJANGO, S. **Medicina etnoveterinária uma abordagem prática do tratamento de doenças de gado na África sub-saariana**. 2007. Disponível em: <http://cta.esmarthosting.net/data/pdfs/1421_full%20text.pdf>. Acesso em: 22 nov. 2010.

WANZALA, W.; ZESSIN, K. W.; KYULE, N. M.; BAUMANN, M. P. O.; MATHIAS, E.; HASSANALI, A. **Ethnoveterinary medicine: a critical review of its evolution, perception, understanding and the way forward**. **Livestock Research for Rural Development**, Cali, v. 17, artigo 117. 2005. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/11/wanz17119.htm>>. Acesso em: 07/01/2007

WELLENBERG, G. J.; VAN DER POEL, W. H. M.; VAN OIRSHOT, J. T. Viral infections and bovine mastitis: a review. **Veterinary Microbiology**., Amsterdam, v. 88, n.1, p. 27-45. 2002.