

# Efeito de um complexo homeopático “*Homeobase Convert H®*” em ovinos sob condições de restrição alimentar

José Carlos CHABEL<sup>1</sup>  
 Valter Joost VAN ONSELEN<sup>1</sup>  
 Maria da Graça MORAIS<sup>1</sup>  
 Ibrahim Miranda Cortada NETO<sup>1</sup>  
 Bruno Pinheiro TEDESCHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande-MS

## Resumo

Avaliou-se o efeito de um complexo homeopático em ovinos distribuídos em quatro grupos: sem homeopatia e com restrição alimentar (A1B2); com homeopatia e com restrição alimentar (A2B2); com homeopatia e sem restrição alimentar (A2B1) e sem homeopatia e sem restrição alimentar (A1B1). Com 30 dias de restrição alimentar o grupo A2B2 apresentou nível sérico de cortisol semelhante ( $p > 0,05$ ) aos dos grupos A2B1 e A1B1, o que se observou no grupo A1B2 somente com 75 dias. Aos 15 dias após primovacinação todos os grupos possuíam anticorpos acima do nível mínimo de proteção de 0,5UI/mL. As concentrações médias de anticorpos atingiram níveis abaixo do mínimo de proteção aos 30 dias em alguns animais de todos os grupos e, somente o grupo A2B2 manteve a média acima deste nível durante os 90 dias de avaliação. O indicativo de diferença ( $p = 0,054$ ) entre a média da titulação de anticorpos do grupo A2B2 e os demais grupos, seis dias pós-vacinação, sugere que a proteção neste grupo ocorreu em menor tempo do que nos demais grupos. Os modelos de regressão estimam concentrações séricas de anticorpos maiores para os grupos A2B1 e A2B2, em relação aos grupos A1B2 e A1B1, obtendo-se, aos 15; 30 e 45 dias pós-vacinação, indicativos de diferenças entre as suas médias ( $p = 0,067$ ;  $p = 0,091$  e  $p < 0,05$  respectivamente). Conclui-se que complexo homeopático, ministrado a ovinos sob restrição alimentar, possui efeito sobre o estresse, reduzindo a concentração sérica de cortisol e promovendo uma maior concentração sérica de anticorpos.

## Palavras-chave:

Anticorpos.  
 Cortisol.  
 Estresse.  
 Homeopatia.  
 Restrição alimentar.

## Correspondência para:

José Carlos Chabel - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. Rua: Brasil Central, 216, Bairro Stº Antônio, 79.100-380, jchabel@yahoo.com.br.

Recebido para publicação: 18/04/2007  
 Aprovado para publicação: 24/09/2009

## Introdução

Com o crescente aumento na demanda de alimentos de origem animal no mundo e mediante exigências de países consumidores na obtenção de alimentos livres de agrotóxicos, antibióticos e hormônios, torna-se necessário tratar os rebanhos com princípios que não agridam a natureza, levem em consideração o bem-estar animal e resultem no fornecimento de alimentos com qualidade. Muitas alternativas já foram propostas, como o uso de fitoterápicos, probióticos, prebióticos, simbióticos e homeopáticos. Os produtos homeopáticos vêm conquistando boa fatia

do mercado, não só para tratamento de doenças dos animais de companhia como também para potencializar a produção de alimentos de origem animal, principalmente de alimentos orgânicos.<sup>1</sup>

Nos últimos anos houve incremento expressivo no número de trabalhos que procuram avaliar os efeitos de produtos homeopáticos, não com caráter curativo, mas sim preventivo e zootécnico, isto é, na melhora da produção e produtividade dos rebanhos<sup>1</sup>. Dados de diversos experimentos com suínos e aves utilizando compostos homeopáticos como promotores de crescimento, permitem concluir pela eficiência destes produtos na melhora do

desempenho, ocorrendo melhor efeito em sistemas de produção que restringem a plena expressão do potencial genético.<sup>2</sup> No entanto, resultados de pesquisa em camundongos levam à conclusão que, assim como em condições de estresse por restrição alimentar como em condições de alimento à vontade, fêmeas recebendo um complexo homeopático possuem maior ganho de peso em relação às que não recebem.<sup>3</sup> Também em camundongos, já se obteve melhores índices reprodutivos na colônia tratada com um produto homeopático durante dez gerações, em relação à colônia controle.<sup>4</sup> O efeito sobre características zootécnicas também foi avaliado nos bovinos, em que se observou no grupo tratado homeopaticamente melhor rendimento de carcaça, com menor peso de vísceras e vantajoso deslocamento dos depósitos de gordura interna para a região subcutânea.<sup>5</sup> Em rebanhos de bovinos leiteiros avaliados por nove meses observou-se maior redução na infestação por ectoparasitas em animais de fazendas que fornecem produto homeopático, quando comparado aos animais de fazendas com manejo de controle parasitário convencional.<sup>6</sup> Em ovinos também se obteve efeito favorável da homeopatia no controle de nematódeos gastrintestinais com animais naturalmente.<sup>7</sup>

Contudo, nem todos os resultados dos estudos publicados mostram vantagens para o método homeopático. Em estudo com rebanhos leiteiros tratados com isoterápicos não se observou redução na contagem de células somáticas no leite e na incidência de infecção intramamária.<sup>8</sup> Outro trabalho, avaliando o ganho de peso e consumo de matéria seca em bovinos, também não apresenta diferenças significativas nos lotes tratados com um complexo homeopático em relação aos lotes controle.<sup>5</sup> Em cordeiros também não se obteve efeito do produto homeopático sobre o controle de ovos de nematóides.<sup>9</sup> Alguns estudos, ainda que em menor número, apresentam resultados desvantajosos para os tratamentos homeopáticos. Dentre estes estudos pode-

se citar o que avaliou o desempenho de bovinos de corte, em que os animais recebendo um produto homeopático reduziram o consumo de matéria seca e o ganho de peso.<sup>10</sup>

O pequeno número de trabalhos desenvolvidos com o adequado rigor científico até o presente momento e os resultados contraditórios obtidos entre os autores que pretendem validar a homeopatia na área zootécnica, associado ao crescente interesse pelo uso do método homeopático na produção animal, revelam a necessidade de se intensificar os estudos a fim de se conhecer melhor a sua efetividade e suas limitações, tanto em condições adequadas como em condições adversas de criação. O presente trabalho teve como objetivos: avaliar os efeitos de um complexo homeopático sobre o peso, sobre o estresse imposto pela restrição alimentar e sobre a resposta imuno humoral de ovinos vacinados contra raiva dos herbívoros.

## Material e Método

O experimento foi realizado no município de Campo Grande - MS, empregando-se 24 ovinos machos inteiros, sem raça definida, com seis meses de idade, alojados em baias individuais e distribuídos de acordo com o Delineamento I nteiramente Casualizado num esquema fatorial 2X2 em quatro grupos de tratamentos: sem homeopatia e sem restrição alimentar (A1B1); com homeopatia e sem restrição alimentar (A2B1); sem homeopatia e com restrição alimentar (A1B2) e com homeopatia e com restrição alimentar (A2B2).

Nos 120 dias do período experimental os animais foram mantidos em gaiolas de 3m<sup>2</sup>, com água fresca e sal mineral (Composição em 1000g: 87g de P, 184g de Ca, 4.680mg de Zn, 200mg de Cu, 80mg de Co, 59mg de I, 9mg de Se, 2.340mg de Mn, 7g de Mg, 12g de S, 1.120mg de F e 100g de Na) à vontade e feno de Tifton (*Cynodon dactylon*) (Composição: 87 a 90% de MS, 9 a 11% de PB, 82 a 85% de FDN, 37 a

40% de FDA e 57 a 59% de NDT ) de acordo com o tratamento. Os grupos com restrição alimentar severa (A1B2 e A2B2) e os sem restrição severa (A2B1 e A1B1) receberam volumoso respectivamente na quantidade diária de 1,5% e 2,5% do PV em MS, ajustada quinzenalmente quando se realizava a pesagem dos animais. Não se observou sobras da alimentação volumosa em todos os grupos experimentais.

Durante todo o período experimental, antes do fornecimento diário do volumoso, às 8h e às 16h, cada animal dos grupos tratados com homeopatia (A2B2 e A2B1) recebeu 30g do complexo homeopático (“*Homeobase ConvertH<sup>0</sup>*”; composição: Natrum muriaticum 10<sup>-60</sup>, Calcium carbonicum 10<sup>-30</sup>, Silicea terra 10<sup>-400</sup> e Hypothalamus 10<sup>-30</sup>) (Laboratório Homeopático Veterinário Real & Cia Ltda, Campo Grande, MS) sob a forma de pó a base de carbonato de cálcio, misturado a 100g de fubá de milho e os dos grupos não tratados com homeopatia (A1B2 e A1B1) recebeu apenas 30g de carbonato de cálcio misturado a 100g de fubá de milho. Este complexo, elaborado para promover o equilíbrio orgânico e a produtividade dos animais domésticos, segundo o fabricante, estimula a expressão genética, mesmo em condição ambiental e de manejo desfavorável; reduz a resposta ao estresse promovendo a tranquilidade dos animais; favorece o anabolismo; melhora a conversão alimentar, a fertilidade e o ganho de peso; reduz a ocorrência de doenças e corrige os desvios do comportamento.

Com o objetivo de estimular o sistema imunológico, 30 dias após o início da aplicação dos tratamentos (com e sem homeopatia e com e sem restrição alimentar), o dia do desafio imunológico (o 30º dia do período experimental), todos os animais foram vacinados contra a raiva (Raivacel Multi?, Laboratório VALLÉ S.A. em cultivo celular com cepa de vírus fixo Pasteur, inativada pela bromoetileinamine e adsorvida em hidróxido de alumínio) dos herbívoros com uma única dose de 2mL por via subcutânea. Amostras de sangue

foram colhidas quinzenalmente na região da jugular e o soro armazenado em duplicatas a temperatura de “70°C. Por motivos técnicos ocorreu a perda da amostra colhida no dia 60 do período experimental. A concentração sérica de cortisol foi determinada com o kit ELISA Human (Invitro Human Diagnóstica) e expressa em ng/mL. Para a titulação sérica de anticorpos anti-rábicos, foram colhidas amostras de sangue no dia do desafio imunológico imediatamente antes da vacinação (no 30º dia do período experimental), quinzenalmente a partir deste dia e também no sexto dia após a vacinação. A determinação da concentração sérica de anticorpos contra raiva foi efetuada pelo teste rápido de inibição de focos fluorescentes (RFFIT - Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test) e expressa em UI/mL.

Os valores obtidos ( $Y_o$ ) para as concentrações séricas de cortisol e anticorpos contra raiva foram transformados ( $Y_T$ ) pela expressão:  $Y_T = \log_2(Y_o + 1)$ . A confirmação da normalidade e da homocedasticidade nos dados transformados foi feita pelo teste de Shapiro-Wilk e o teste de Bartlett, respectivamente. Em cada momento do período experimental avaliado aplicou-se a análise de variância com os valores transformados das titulações de cortisol e anticorpos e com os dados observados do peso. Para a obtenção das estimativas das médias e dos desvios padrão de cortisol e anticorpos em cada grupo de tratamento, também se utilizou os valores transformados, efetuando-se a transformação inversa dos resultados para expressá-los na unidade de medida original (UI/mL). A determinação da probabilidade do erro tipo II ( $\beta$ ) foi feita com a distribuição t de Student, considerando-se a diferença mínima significativa igual a um desvio padrão. Para cada grupo de tratamento, uma curva de regressão de segundo grau foi ajustada com os dados transformados das titulações de anticorpos contra raiva em função do período experimental. Em todas as análises

empregou-se o nível de significância igual a 5% ( $\alpha=0,05$ ).<sup>11</sup>

## Resultados e Discussão

Os pesos dos ovinos para os quatro grupos de tratamentos, em diferentes momentos do período experimental, estão apresentados na tabela 1.

A análise dos dados dos pesos dos ovinos não revelou existência de interação entre os fatores homeopatia e restrição alimentar, indicando o mesmo comportamento do efeito do complexo homeopático na condição de restrição e na condição sem restrição alimentar. Esta ausência de interação também foi relatada quando se avaliou o mesmo produto homeopático empregado neste trabalho em camundongos sob estresse alimentar e com alimentação à vontade<sup>3</sup>. No entanto, diversos ensaios com suínos e aves indicam melhor efeito dos produtos homeopáticos no desempenho, quando os animais se encontram em sistemas de produção deficientes<sup>2</sup>.

Pode-se verificar na tabela 1 que, aos primeiros 15 dias do período experimental, os grupos com restrição alimentar (A1B2 e A2B2), perderam peso de modo a atingirem médias significativamente ( $p<0,002$ ) diferentes aos dos grupos sem restrição alimentar (A1B1 e A2B1). Com o constante, embora pequeno ganho de peso dos animais sem restrição alimentar, estas médias se mantiveram significativamente ( $p<0,0001$ ) diferentes durante todo o restante do período experimental. Os pequenos ganhos de peso obtidos pelos ovinos sob restrição

alimentar entre os dias 45 e 60 e também após o dia 90 do período experimental foram suficientes apenas para recuperação do peso inicial, não havendo diferença significativa entre as médias dos pesos iniciais (dia 0) e finais (dia 120) dentro de cada grupo com restrição alimentar (A1B2 e A2B2). Esta recuperação do peso inicial pode indicar uma resposta de adaptação fisiológica e/ou comportamental dos animais à condição de estresse imposta pela restrição alimentar.

Na tabela 1 pode-se observar também que, para todos os momentos avaliados durante o período experimental, não houve diferença significativa ( $p>0,98$ ) no peso médio entre os ovinos que receberam o complexo homeopático e os que não o receberam (A2B2 *vs* A1B2 e A2B1 *vs* A1B1). Da mesma forma, não se encontrou significância ( $p>0,05$ ) entre os ganhos de peso destes grupos de tratamentos nos 120 dias de período experimental (A2B2=-0,015kg *vs* A1B2=-0,018kg e A2B1=0,047kg *vs* A1B1=0,050kg) Em bovinos, também não se encontrou diferenças nos ganhos de peso de animais tratados com uma combinação de calcáreas (*Calcarea carbonica* 30CH + *Calcarea phosphorica* 30CH) em relação aos animais controle<sup>12</sup>. No entanto, em camundongos observou-se que fêmeas recebendo o mesmo complexo homeopático utilizado neste trabalho possuem maior ganho de peso<sup>3</sup>, em suínos tratados com homeopatia a base de *Calcarea phosphorica* e de *Calcarea carbonica* obteve-se melhor ganho de peso quando comparados com o grupo controle<sup>2</sup> e, em frangos o grupo tratado homeopaticamente com uma combinação de calcáreas (*Calcarea carbonica* D6, D12, D18 + *Calcarea fluorica* D6, D12,

**Tabela 1** – Médias<sup>(1)</sup> e desvios padrão dos pesos (kg) de seis ovinos por grupo de tratamentos do período experimental

GRUPO <sup>(2)</sup>	DIAS DO PERÍODO EXPERIMENTAL									
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	
A1B2	26,13 <sup>a</sup> ± 1,87	23,47 <sup>b</sup> ± 1,74	22,97 <sup>b</sup> ± 1,89	22,72 <sup>b</sup> ± 1,60	23,49 <sup>b</sup> ± 1,75	22,67 <sup>b</sup> ± 1,92	22,54 <sup>b</sup> ± 1,48	24,24 <sup>b</sup> ± 1,97	25,95 <sup>b</sup> ± 2,00	
A2B2	26,7 <sup>a</sup> ± 2,35	24,16 <sup>b</sup> ± 1,35	23,47 <sup>b</sup> ± 1,31	22,74 <sup>b</sup> ± 0,74	24,29 <sup>b</sup> ± 1,68	23,95 <sup>b</sup> ± 1,59	23,72 <sup>b</sup> ± 1,50	25,20 <sup>b</sup> ± 1,44	26,21 <sup>b</sup> ± 1,40	
A2B1	26,87 <sup>a</sup> ± 2,49	27,08 <sup>a</sup> ± 3,59	28,98 <sup>a</sup> ± 2,45	29,02 <sup>a</sup> ± 2,73	30,73 <sup>a</sup> ± 3,25	31,08 <sup>a</sup> ± 3,24	31,53 <sup>a</sup> ± 2,73	31,76 <sup>a</sup> ± 3,03	31,99 <sup>a</sup> ± 3,41	
A1B1	26,00 <sup>a</sup> ± 2,88	28,03 <sup>a</sup> ± 3,05	27,70 <sup>a</sup> ± 2,49	28,18 <sup>a</sup> ± 2,32	29,85 <sup>a</sup> ± 2,80	30,12 <sup>a</sup> ± 2,42	30,09 <sup>a</sup> ± 2,54	31,22 <sup>a</sup> ± 2,83	32,01 <sup>a</sup> ± 3,29	

(1) Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna indicam diferenças ( $p<0,05$ ) obtidas pelo teste F de Fisher na Análise de Variância;

(2) A1B2 : sem homeopatia e com restrição alimentar; A2B2 : com homeopatia e com restrição alimentar; A2B1 : com homeopatia e sem restrição alimentar; A1B1 : sem homeopatia e sem restrição alimentar

D18 + *Calcarea phosphorica* D6, D12, D18) na fase de recria e engorda resultou em peso 12,1% superior ao grupo controle<sup>2</sup>. Já em outro estudo, bovinos de corte tratados com produtos homeopáticos reduziram o consumo de matéria seca diária e diminuiram seus ganhos de peso<sup>10</sup>. As divergências nos resultados obtidos neste trabalho com os dos autores citados pode ser decorrência de diversos fatores tais como: uso de diferentes espécies, diferentes estágios fisiológicos, diferentes produtos homeopáticos e diferenças no tempo de uso destes produtos.

Após a transformação logarítmica dos dados e a transformação inversa das médias e desvios padrão para as titulações séricas do cortisol dos ovinos em diferentes momentos do período experimental e para os quatro grupos de tratamentos, obteve-se os resultados apresentados na tabela 2.

A concentração de cortisol é considerada um importante indicador do nível de estresse em que se encontra o indivíduo, sendo facilmente detectado no soro ou na urina.<sup>13</sup> Tomando-se como referência o valor médio normal de 20ng/mL, descrito para cortisol sérico em ovinos<sup>14,15</sup>, as concentrações médias apresentadas na tabela 2 para o 15º dia do período experimental nos animais sob restrição alimentar (A1B2 e A2B2), podem ser consideradas elevadas e, por serem significativamente ( $p < 0,003$ ) superiores às dos ovinos sem restrição alimentar (A2B1 e A1B1), indicam que o oferecimento de apenas 1,5% de MS/kg de PV/dia pode ser uma condição estressante suficiente para os ovinos apresentarem reação fisiológica, elevando os níveis de cortisol circulante.

Animais em estado de estresse procuram fazer os ajustes comportamentais e fisiológicos necessários para se adequarem às condições adversas do meio, minimizando seus efeitos e restabelecendo o equilíbrio.<sup>16</sup> Considerando os dados apresentados na tabela 2, este equilíbrio fisiológico já deve ter sido alcançado pelos ovinos 75 dias após o início da imposição da restrição alimentar, uma vez que, a partir deste momento, todas as concentrações médias de cortisol obtidas já se encontravam abaixo do valor normal de 20ng/mL. Após os 75 dias do início do período experimental também não se observou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos de tratamentos.

Se a ação estressora for combatida pela adaptação do organismo, as reações de alarme desaparecem, o organismo restabelece o equilíbrio e a resistência eleva-se acima das condições normais.<sup>17</sup> Em bovinos sob condições estressantes também se observou redução gradativa dos níveis de cortisol no decorrer do período experimental de 90 dias.<sup>18</sup> Em outros estudos observou-se que a taxa de cortisol sanguíneo pode diminuir gradualmente em ovelhas pela hipofunção da adrenal em condições de estresse prolongado.<sup>19,20</sup> Não há indícios, no entanto, de que o estresse aplicado aos ovinos neste trabalho tenha sido suficientemente intenso ou prolongado para provocar a hipofunção da adrenal, já que as concentrações médias de cortisol apresentadas na tabela 2 estão acima dos valores encontrados para ovinos em condições normais que variaram de 14,4 a 15,2ng/mL, conforme a estação do ano.<sup>21</sup>

**Tabela 2** – Médias<sup>(1)</sup> e desvios padrão das concentrações de cortisol (ng/mL) no soro de seis ovinos por grupo de tratamento em diferentes momentos do período experimental

GRUPO <sup>(2)</sup>	DIAS DO PERÍODO EXPERIMENTAL							
	0	15	30	45	75	90	105	120
A1B2	17,84 <sup>a</sup> ± 0,06	74,23 <sup>a</sup> ± 0,80	69,34 <sup>a</sup> ± 1,28	58,25 <sup>a</sup> ± 0,86	16,95 <sup>a</sup> ± 0,08	18,18 <sup>a</sup> ± 0,08	18,81 <sup>a</sup> ± 0,07	16,47 <sup>a</sup> ± 0,06
A2B2	17,47 <sup>a</sup> ± 0,09	50,24 <sup>a</sup> ± 0,71	32,75 <sup>b</sup> ± 0,88	24,75 <sup>b</sup> ± 0,63	17,13 <sup>a</sup> ± 0,15	17,52 <sup>a</sup> ± 0,15	18,57 <sup>a</sup> ± 0,07	16,18 <sup>a</sup> ± 0,13
A2B1	17,67 <sup>a</sup> ± 0,05	31,60 <sup>b</sup> ± 0,96	31,43 <sup>b</sup> ± 0,71	22,84 <sup>b</sup> ± 0,25	16,86 <sup>a</sup> ± 0,09	18,32 <sup>a</sup> ± 0,09	18,61 <sup>a</sup> ± 0,07	15,96 <sup>a</sup> ± 0,10
A1B1	17,34 <sup>a</sup> ± 0,06	25,09 <sup>b</sup> ± 0,46	19,22 <sup>b</sup> ± 0,48	17,56 <sup>b</sup> ± 0,29	15,97 <sup>a</sup> ± 0,12	17,41 <sup>a</sup> ± 0,04	18,11 <sup>a</sup> ± 0,10	16,48 <sup>a</sup> ± 0,04

(1) Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna indicam diferenças ( $p < 0,05$ ) obtidas pelo teste F de Fisher na Análise de Variância;  
 (2) A1B2 : sem homeopatia e com restrição alimentar; A2B2 : com homeopatia e com restrição alimentar; A2B1 : com homeopatia e sem restrição alimentar; A1B1 : sem homeopatia e sem restrição alimentar

Observa-se na tabela 2 que, para 30 e 45 dias após o início da aplicação dos tratamentos, existe uma interação entre os fatores homeopatia e restrição alimentar. Esta interação pode primeiramente ser constatada na resposta da restrição alimentar, que não é a mesma nos ovinos que receberam o complexo homeopático (os grupos A2B2 e A2B1 foram significativamente ( $p>0,05$ ) semelhantes) e nos ovinos que não receberam (os grupos A1B2 e A1B1 foram significativamente ( $p<0,002$ ) diferentes). A interação pode também ser verificada na resposta aos tratamentos homeopáticos, que não é a mesma nos ovinos submetidos à restrição alimentar (os grupos A1B2 e A2B2 foram significativamente ( $p<0,05$ ) diferentes) e nos ovinos sem restrição alimentar (os grupos A2B1 e A1B1 foram significativamente ( $p>0,05$ ) semelhantes). Estas interações nos dias 30 e 45 do período experimental ocorreram em função da concentração de cortisol nos ovinos do grupo A2B2 ter se reduzido mais intensamente do que a média do grupo A1B2. É possível que o complexo homeopático ministrado aos ovinos tenha reduzido mais rapidamente os efeitos do estresse alimentar, mesmo que os ovinos deste grupo (A2B2) ainda estejam perdendo peso.

A tabela 3 apresenta os percentuais de animais, por grupo de tratamento em diferentes momentos do período experimental, com níveis séricos de anticorpos anti-rábico acima do valor mínimo de proteção (0,5UI/mL), indicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>22</sup> como limite de cobertura imunológica em ovinos.

Os resultados apresentados na tabela 3

evidenciam que a resposta imunológica ocorreu em todos os ovinos primovacinaados contra a raiva, com titulações séricas de anticorpos acima do nível mínimo de proteção (0,5UI/mL) indicado pela OMS. Na espécie equina pesquisadores também obtiveram resposta imunológica para a vacinação contra a raiva em 100% dos 11 animais primovacinaados.<sup>23</sup> Em bovinos primovacinaados contra raiva, pesquisadores já observaram que apenas 88,9% (de nove animais avaliados)<sup>24</sup> a 95,5% (de 22 animais avaliados)<sup>25</sup> alcançam o título mínimo de anticorpos necessários para proteção imunológica. Estas discrepâncias observadas nas respostas dos animais podem estar relacionadas às espécies animais, ao tipo de vacina empregada ou às diferenças antigênicas dos lotes das vacinas. Fatores como a qualidade da vacina, o estado fisiológico dos animais e a capacidade individual de resposta do sistema imunológico, também foram citados como elementos que podem contribuir para a redução na eficiência e eficácia das vacinações nos rebanhos<sup>26</sup>. O intervalo de tempo, a partir da vacinação, em que as primeiras avaliações são realizadas, também deve ser considerado, pois se pode verificar na tabela 3, que a totalidade dos animais com cobertura imunológica no grupo A2B1 foi obtida somente com 15 dias pós-vacinação.

Observa-se também na tabela 3, que a maioria dos animais recebendo o complexo homeopático sob restrição alimentar (A2B2) já apresentava níveis séricos de cobertura imunológica contra raiva ( $>0,5UI/mL$ ) seis dias após a primo-vacinação. Aos 15 dias pós-vacinação todos os animais de todos os grupos já passaram a apresentar titulação acima do valor mínimo de proteção

**Tabela 3** – Percentuais de ovinos primovacinaados<sup>(1)</sup>, com cobertura imunológica (níveis séricos de anticorpos anti-rábico  $> 0,5UI/mL$ ), em diferentes momentos após serem submetidos a quatro tratamentos

GRUPO <sup>(2)</sup>	DIAS DO PERÍODO EXPERIMENTAL							
	30	36	45	60	75	90	105	120
A1B2	0,00	33,33	100,00	100,00	66,67	66,67	50,00	50,00
A2B2	0,00	83,33	100,00	100,00	83,33	83,33	66,67	66,67
A2B1	0,00	33,33	100,00	83,33	83,33	66,67	50,00	33,33
A1B1	0,00	33,33	100,00	100,00	83,33	66,67	66,67	33,33

(1) A primo-vacinação dos seis animais por grupo ocorreu no 30º dia do período experimental; (2) A1B2 : sem homeopatia e com restrição alimentar; A2B2 : com homeopatia e com restrição alimentar; A2B1 : com homeopatia e sem restrição alimentar; A1B1 : sem homeopatia e sem restrição alimentar

(0,5UI/mL). Embora apenas seis ovinos por grupo tenham participado do experimento, estes fatos vêm sugerir que a resposta imunológica nos ovinos primovacinações contra raiva é rápida e eficiente já aos 15 dias pós-vacinação. A velocidade e a eficiência da resposta imunológica à vacinação anti-rábica têm sido estudadas apenas a partir de 30 dias após a primovacinação<sup>18,25,27,28,29,30,31</sup> sendo que alguns resultados apresentam baixa eficiência imunológica já a partir de um mês pós-vacinação. Com as informações contidas na tabela 3, pode-se sugerir que os estudos sobre o comportamento da resposta imunológica incluam observações antes dos 30 dias após a vacinação anti-rábica.

Na profilaxia da raiva dos herbívoros a recomendação do Instituto Pasteur<sup>32</sup> é a aplicação de uma segunda dose da vacina nos animais herbívoros primovacinações 30 dias após a primeira. Estudos comparativos com vacinas contra a raiva de uso bovino no Brasil indicam que, para alguns tipos de vacinas, não há duração de imunidade por mais de 45 dias.<sup>33</sup> Também em bovinos, pesquisadores obtiveram queda de 100% para 90% e 60% de 30 para 180 e 360 dias após a primovacinação, respectivamente.<sup>23</sup> Em eqüinos, todavia, não se tem observado queda no número de animais protegidos, obtendo 100% com níveis séricos acima de 0,5UI/mL até 360 dias pós-vacinação.<sup>23</sup> Neste experimento, como pode ser observado na tabela 3, com 30 dias após a primovacinação já se observou, no grupo A2B1, que o percentual de ovinos protegidos estava se reduzindo, o que somente foi observado 45 dias após a

primovacinação nos demais grupos. Estes resultados sugerem, portanto, que estudos com maior número de animais sejam desenvolvidos para se avaliar a recomendação do período para revacinação anti-rábica em ovinos.

Após a transformação logarítmica dos dados para os quatro grupos de tratamentos e a transformação inversa das médias e desvios padrão das concentrações séricas de anticorpos anti-rábico dos ovinos, em diferentes momentos do período experimental, obteve-se os resultados apresentados na tabela 4, a seguir.

Pode ser verificado na tabela 4 que, no exame de soroneutralidade realizado com amostras colhidas momentos antes da primovacinação, isto é, no dia 30 do período experimental, o dia do desafio imunológico, nenhum animal apresentou titulação detectável para anticorpos contra raiva, o que comprova ausência do processo de imunização ativa ou passiva prévia nos ovinos do experimento.

Embora a queda na concentração de anticorpos para níveis abaixo do mínimo de proteção (0,5UI/mL) já tenha ocorrido aos 45 dias após a primeira vacinação em alguns ovinos de todos os grupos de tratamentos, como pode ser verificado na tabela 3, apenas os animais sob restrição alimentar e que receberam homeopatia (A2B2) mantiveram a concentração média acima deste nível de proteção durante os 90 dias após a primovacinação, como se observa nos dados apresentados na tabela 4.

Após a transformação logarítmica das titulações séricas de anticorpos anti-rábico nos ovinos dos quatro grupos de

**Tabela 4** – Médias<sup>(1)</sup> e desvios padrão níveis séricos de anticorpos anti-rábico (UI/mL) de ovinos primovacinações<sup>(2)</sup>, em diferentes momentos após serem submetidos a quatro tratamentos

GRUPO <sup>(3)</sup>	DIAS DO PERÍODO EXPERIMENTAL							
	30	36	45	60	75	90	105	120
A1B2	0,00 <sup>a</sup> ±0,00	0,50 <sup>a</sup> ±0,15	5,47 <sup>a</sup> ±0,77	2,60 <sup>a</sup> ±0,56	1,16 <sup>a</sup> ±0,35	0,83 <sup>a</sup> ±0,24	0,66 <sup>a</sup> ±0,19	0,40 <sup>a</sup> ±0,12
A2B2	0,00 <sup>a</sup> ±0,00	0,94 <sup>a</sup> ±0,22	12,40 <sup>a</sup> ±0,59	4,31 <sup>a</sup> ±0,55	2,35 <sup>b</sup> ±0,55	1,27 <sup>a</sup> ±0,30	0,98 <sup>a</sup> ±0,29	0,55 <sup>a</sup> ±0,17
A2B1	0,00 <sup>a</sup> ±0,00	0,52 <sup>a</sup> ±0,15	7,45 <sup>a</sup> ±0,85	3,45 <sup>a</sup> ±0,79	2,43 <sup>b</sup> ±0,63	0,82 <sup>a</sup> ±0,24	0,69 <sup>a</sup> ±0,21	0,37 <sup>a</sup> ±0,11
A1B1	0,00 <sup>a</sup> ±0,00	0,52 <sup>a</sup> ±0,15	5,96 <sup>a</sup> ±0,93	2,31 <sup>a</sup> ±0,49	1,32 <sup>a</sup> ±0,34	0,59 <sup>a</sup> ±0,17	0,47 <sup>a</sup> ±0,14	0,39 <sup>a</sup> ±0,11

(1) Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna indicam diferenças ( $p < 0,05$ ) obtidas pelo teste F de Fisher na Análise de Variância; (2) A primovacinação dos seis animais por grupo de tratamento ocorreu no 30º dia do período experimental; (3) A1B2 : sem homeopatia e com restrição alimentar; A2B2 : com homeopatia e com restrição alimentar; A2B1 : com homeopatia e sem restrição alimentar; A1B1 : sem homeopatia e sem restrição alimentar

tratamentos, em diferentes momentos do período experimental, obteve-se as curvas de regressão apresentadas na figura 1, a seguir.

Na figura 1 o comportamento da concentração de anticorpos neutralizantes da raiva, nos primeiros 45 dias após a vacinação, é avaliado por modelos quadráticos, embora a elevada variação individual na resposta imunológica tenha determinado valores baixos para os coeficientes de determinação nos quatro grupos experimentais. Em estudo com bovinos, o comportamento da concentração de anticorpos anti-rábico durante 90 dias pós-vacinação também apresentou baixo coeficiente de determinação ( $R^2=38\%$ ) para a regressão quadrática.<sup>18</sup> Esta variação individual na concentração sérica de anticorpos também pode ser observada pelos desvios padrão apresentados na tabela 4. Elevada variabilidade também foi obtida em bovinos, encontrando-se relatos de alto coeficiente de variação ( $CV=57\%$ ) na concentração de anticorpos aos 90 dias após a primeira vacinação.<sup>34</sup>

Os modelos apresentados na figura 1 estimam produção máxima de anticorpos igual a: 4,34; 8,80; 5,95 e

4,29UI/mL para os grupos A1B2; A2B2; A2B1 e A1B1, respectivamente. Estes pontos máximos indicam que houve rápido aumento na concentração de anticorpos, atingindo o pico entre 25 e 27 dias após a primo-vacinação dos animais de todos os grupos de tratamentos. Em bovinos relatam-se estimativas para o valor máximo de anticorpos neutralizantes contra raiva mais tardiamente, aos 46 dias pós-vacinação.<sup>18</sup> Outros pesquisadores reportam queda na titulação sérica de anticorpos, já aos 30 dias após a vacinação dos bovinos contra raiva.<sup>24,25</sup> A queda observada na concentração de anticorpos logo após o pico, em todos os grupos de tratamentos; a ausência de significância ( $p>0,05$ ) entre as médias de anticorpos séricos 60 dias pós-vacinação, apresentadas na tabela 4 para todos os grupos e; a ocorrência de animais, no grupo que recebeu homeopatia e não estava sob restrição alimentar (A2B1), com titulações abaixo do nível sérico de proteção (0,5UI/mL) já aos 30 dias pós-vacinação, como está apresentado na tabela 3; reflete a ausência de efeito do complexo homeopático na manutenção de elevados níveis de anticorpos séricos após a primo-vacinação.

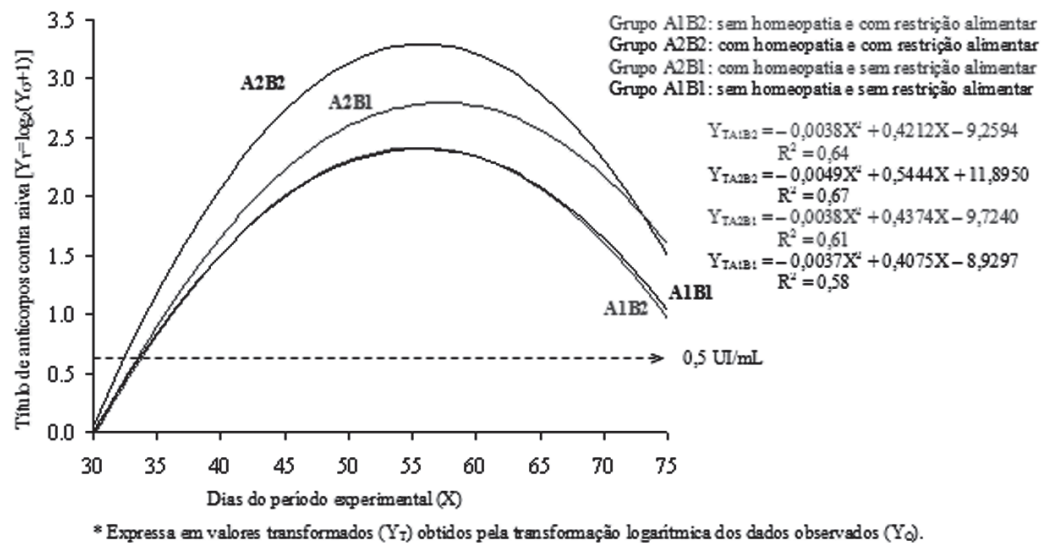


Figura 1 – Curvas de regressão que descrevem o comportamento da concentração sérica de anticorpos contra raiva\* em seis ovinos por grupo de tratamento, nos primeiros 45 dias após primo-vacinação no 30º dia do período experimental



A semelhança observada entre os modelos de regressão dos grupos A1B2 e A1B1 na figura 1 para os primeiros 45 dias pós-vacinação e, a ausência de significância ( $p > 0,05$ ) na diferença entre as médias destes grupos verificada na tabela 4, para todos os momentos avaliados, sugere que o estresse causado pela restrição alimentar não provocou redução mais rápida na concentração de anticorpos anti-rábico. Em bovinos vacinados sob condições estressantes, no entanto, observou-se maior queda no título de anticorpos anti-rábicos<sup>35</sup>. É possível que o estresse imposto aos ovinos pela restrição alimentar (A1B2), embora possa ter provocado concentração média de cortisol significativamente superior ( $p < 0,002$ ) à média dos animais sem restrição (A1B1), como pode ser observado na tabela 2, não tenha ocorrido com intensidade suficiente para afetar a resposta imunológica nos animais que não receberam o complexo homeopático.

A maior titulação sérica de anticorpos, estimada com o modelo de regressão apresentado na figura 1, para o sexto dia após a vacinação em ovinos sob restrição alimentar e que receberam o complexo homeopático (A2B2), não se confirma na comparação de médias, uma vez que não se estabeleceu significância ( $p = 0,054$ ) na diferença entre a média deste grupo e as médias dos demais grupos de tratamentos, como mostram os resultados apresentados na tabela 4 para o dia 36 do período experimental. Todavia, considerar as médias semelhantes implica em elevada probabilidade de erro do tipo II ( $\beta > 0,81$ ) na conclusão. A grande variabilidade na resposta, com coeficientes de variação próximos a 30%, a ainda pequena magnitude da diferença observada entre as médias neste momento e, o reduzido número de repetições empregado, podem ter contribuído para este resultado. Desta forma, portanto, podemos apenas afirmar que houve uma propensão do nível sérico de proteção (0,5UI/mL) ter sido atingido em espaço de tempo mais curto nos animais com homeopatia e sob restrição alimentar (A2B2).

Embora os modelos apresentados na figura 1 estimarem maior e mais rápido aumento na concentração sérica de anticorpos contra raiva para os animais com homeopatia sob restrição alimentar (A2B2), as médias obtidas 15 e 30 dias pós-vacinação, apresentadas na tabela 4, para os ovinos com homeopatia sob restrição alimentar e com homeopatia sem restrição (A2B2 *vs* A2B1), não se revelaram significativamente diferentes ( $p > 0,424$  e  $p > 0,507$ , respectivamente para os dias 45 e 60 do período experimental). Com estes resultados não se pode afirmar que o efeito do complexo homeopático na resposta imunológica é mais eficiente, atingindo concentrações máximas maiores e em menor tempo nos animais em condições de estresse alimentar.

Avaliando-se o efeito do complexo homeopático com os modelos apresentados na figura 1, nota-se uma estimativa maior e mais rápida para o aumento da concentração sérica de anticorpos nos ovinos que receberam homeopatia (A2B2 e A2B1), em relação aos que não receberam (A1B2 e A1B1). Por outro lado, avaliando-se o efeito do complexo homeopático com os dados apresentados na tabela 4, verifica-se que não foi possível determinar significância 15 e 30 dias após a vacinação ( $p = 0,067$  e  $p = 0,091$ , respectivamente para os dias 45 e 60 do período experimental) para as diferenças observadas entre as médias dos animais que receberam homeopatia e que não receberam (A2B2 *vs* A1B2 e A2B1 *vs* A1B1). No entanto, com a elevada probabilidade de erro do tipo II ( $\beta > 0,81$ ), pode-se considerar que os resultados obtidos indicam uma propensão de superioridade na titulação sérica de anticorpos contra a raiva em ovinos que recebem homeopatia em relação aos que não receberam.

A figura 1 mostra que, após se atingir os valores máximos, houve uma estimativa de queda mais intensa na concentração de anticorpos nos ovinos com homeopatia e sob restrição alimentar (A2B2) em relação à queda observada nos ovinos com homeopatia, mas sem restrição alimentar (A2B1). Com esta resposta, a superioridade nas estimativas das

concentrações de anticorpos observada na figura 1 para os grupos com homeopatia (A2B2 e A2B1) no período próximo ao pico, passa a ser significativa aos 45 dias pós-vacinação (A2B2 *vs* A1B2 e A2B1 *vs* A1B1 com  $p < 0,02$  para o dia 75 período experimental – tabela 4), revelando o efeito da homeopatia neste momento do período experimental.

O complexo homeopático empregado neste estudo, elaborado para ser um bioestimulador, pode estar provocando alterações fisiológicas capazes de melhorar o desempenho animal, justificando os resultados obtidos para as titulações de cortisol e de anticorpos contra a raiva.

### Conclusões

A partir dos resultados obtidos, é possível concluir que: não existem evidências para se atribuir efeito ao complexo

homeopático sobre o peso de ovinos; o complexo homeopático ministrado a ovinos sob restrição alimentar possui efeito sobre o estresse, reduzindo a concentração sérica de cortisol para níveis normais; a primo-vacinação contra raiva em ovinos é capaz de induzir o sistema imunológico, elevando em apenas 15 dias a titulação sérica de anticorpos para níveis acima do mínimo de proteção (0,5UI/mL); a redução na concentração sérica de anticorpos neutralizantes da raiva para níveis abaixo do mínimo de proteção (0,5UI/mL) pode ocorrer antes dos 30 dias após a primo-vacinação em ovinos; em ovinos primovacinados contra raiva o complexo homeopático proporciona aumento maior na concentração sérica de anticorpos e não há evidências para se atribuir ao complexo homeopático efeito sobre a manutenção de elevados níveis de concentração sérica de anticorpos em ovinos primovacinados contra a raiva.

## Effect of a homeopathic complex “Homeobase Convert H®” in sheep submitted in feed restriction conditions

### Abstract

It was evaluated the effect of a homeopathic complex in sheep distributed in four groups: without homeopathy and with alimentary restriction (A1B2); with homeopathy and alimentary restriction (A2B2); with homeopathy and without alimentary restriction (A2B1), and without homeopathy and without alimentary restriction (A1B1). After 30 days of alimentary restriction, the group with homeopathy (A2B2) had already presented an average serum level of cortisol similar ( $p > 0,05$ ) to the groups without restriction (A2B1 and A1B1). It was observed in the group without homeopathy (A1B2) only after 75 days. After 15 days post-vaccination all the groups had antibodies above the minimum level of protection of 0,5UI/mL. The medium concentrations of antibodies reached levels below the minimum of protection to the 30 days in some animals of all groups and, only the group A2B2 kept on average above this level during the 90 days of evaluation. The indicative of difference ( $p = 0,054$ ) between the titration average of antibodies from the group A2B2 and the other groups, six days after vaccination, suggests that the protection in this group occurred in smaller time than in the other groups. Regression models estimate higher serum concentrations of antibodies for the groups A2B1 and A2B2, regarding the groups A1B2 and A1B1, obtaining indicators of differences between their averages ( $p = 0,067$ ;  $p = 0,091$  and  $p < 0,05$  respectively) 15, 30 and 45 days after vaccination. It was concluded that the homeopathic administered to ovine under

### Key words:

Alimentary restriction.  
Antibodies.  
Cortisol.  
Homeopathy.  
Stress.

alimentary restriction, has effect on stress, reducing the serum concentration of cortisol which can cause a higher rise in the serum concentration of antibodies.

## Referências

- 1 ECCH. **The homeopathic treatment of animals in Europe**. 2. ed. Nortfolk, UK: ECCH, 2003 Disponível em: <<http://www.homeopathy-ecch.org>>. Acesso em: 16 out. 2006.
- 2 BRIONES, S. F. **Estudos sobre la aplicación de la homeopatía en producción animal**. Santiago, Chile: [s.n], 1987. 45 p.
- 3 TEIXEIRA, M. A.; CARVALHO, T. B. S.; LUCENA, G. A. R.; ONSELEN, V. J.; REAL, M. R.; REAL, C. M. Effect of a biostimulatory homeopathic complex on mice subjected to feed stress. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON THE FUTURE OF ANIMAL RESEARCH, 1., 2003, Rio de Janeiro. **Anais...** 2003, 56 p.
- 4 ZORZATTO, C.; TEIXEIRA, M. A.; CARVALHO, T. B. S. Effect of Convert H<sup>®</sup>, a biostimulatory homeopathic complex on the generation of mice (*Mus musculus*) In: INTERNATIONAL CONGRESS ON THE FUTURE OF ANIMAL RESEARCH, 2., 2005, Rio de Janeiro, **Anais...**, 2005, p. 57-58
- 5 FERREIRA, L. C. **Avaliação da qualidade de carcaça e da composição corporal de dois grupos genéticos, tratados ou não, com uma mistura de "calcárea carbônica" 30CH e "calcárea phosphorica" 30CH**. 2005. 22 f. Monografia (Especialização em Zootecnia) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, 2005.
- 6 MAGALHÃES NETO, M. A.; BENEDETTI, E.; CABRAL, D. D. Homeopatia no controle de carrapatos em bovinos leiteiros. **Revista Horizonte Científico**, Universidade Federal de Uberlândia, MG, v. 2, [1-20], 2005. Edição n. 5.
- 7 ALBERTI, A. L. L.; HELLMEINSTER, Z. M. M.; SANTARÉM, V.; LOPOSY, C. B. **Eficácia do composto homeopático (fator ovino) no controle de nematóides gastrintestinais, em ovinos naturalmente infectados e criados a campo**. São Paulo: Universidade do Oeste Paulista, 2004.
- 8 MEANEY, W. Treatment of mastitis with homeopathic remedies. **International Dairy Federation (Belgium) Mastitis News letter**, n. 142/20, p. 5-6, 1995.
- 9 CABARET, J. The homeopathic Cina does not reduce the egg output of digestive tract nematodes in lambs. **Revue de Medicine Veterinaire**, v. 147, n. 6, p. 445-446, 1996.
- 10 SOARES FILHO, C. V.; CAETANO, H. **Desempenho de bovinos de corte suplementados com Cr-levedura e produto homeopático**. Araçatuba: UNESP, 2000. 21 p. Disponível em: <[http://www.foa.unesp.br/pesq/centros\\_e\\_nucleos/asp](http://www.foa.unesp.br/pesq/centros_e_nucleos/asp)>. Acesso em: 25 de abr. 2006.
- 11 ZAR, J. H. **Bioestatal analysis**. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1984. 718 p.
- 12 FERREIRA, L. C. **Avaliação da qualidade de carcaça e da composição corporal de dois grupos genéticos, tratados ou não, com uma mistura de "calcárea carbônica" 30CH e "calcárea phosphorica" 30CH**. 2005. 22 f. Monografia (Especialização em Produção Animal) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, Mato Grosso do Sul, 2005.
- 13 GUYTON, A. C. **Fisiologia humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- 14 HARGREAVES, A. L.; HUTSON, G. D. The stress response in sheep during routine handling procedures. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 26, n. 1, p. 83-90, 1990.
- 15 MINTON, J. E. Stress associated concentrations of plasma cortisol cannot account for reduced lymphocyte function and changes in serum enzymes in lambs exposed to restraint and isolation stress. **Journal Animal Science**, v. 73, n. 2, p. 812-817, 1995.
- 16 FRASER, D. The effects of straw on the behaviour of sows in tethered stalls. **Animal Production**, v. 21, p. 59-68, 1975.
- 17 SAMULSKI, D.; CHAGAS, M. H.; NITSCH, J. **Stress: teorias básicas**. Belo Horizonte: Gráfica Costa & Cupertino, 1996.
- 18 GIOMETTI, J. **Resposta imune humoral em bovinos da raça nelore vacinado contra raiva e suplementada com cromo orgânico**. 2004. 79 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2004.
- 19 GWAZDAUSKAS, F. C.; PAAPE, M. J.; PEERY, D. A. Plasma glucocorticoid and circulating blood leukocyte responses in cattle after sequential intramuscular injections of ACTH. **American Journal Veterinary Research**, v. 41, p. 1052-1056, 1980.
- 20 PRZEKOP, E. Changes in circadian rhythm and suppression of the plasma cortisol level after prolonged stress in the sheep. **Acta Endocrinology**, v. 110, p. 540-545, 1985.
- 21 STARLING, J. M. C.; SILVA DA, R. G.; NEGRÃO, J. A. ; MAIA, A. S. C.; BUENO, A. R. Variação estacional dos hormônios tireoideanos e do cortisol em ovinos em ambiente tropical. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 45-48, 2005.
- 22 WHO WORLD HEALTH ORGANISATION EXPERT COMMITTEE ON RABIES. **Eight report**.

- Genova: WHO, 1992. (WHO Technical Report Series, nº 824).
- 23 ALBAS, A.; JUNQUEIRA, J. R. C.; PARDO, P. E.; BREMER NETO, H. Resposta imune humoral em eqüinos e bovinos vacinados contra a raiva. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 71, p. 1-749, 2004.
- 24 ALBAS, A.; PARDO, P. E.; BREMER NETO, H.; GALLINA, M. N. F.; MOURÃO FUCHES, R. M.; SARTÓRIO, A. Vacina anti-rábica em Bovinos: comparação de cinco esquemas vacinais. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, p. 153-159, 2005.
- 25 SILVA, Q. L. H.; CARDOSO, T. C.; PERRI, S. H. V.; PINHEIRO, D. M.; CARVALHO, C. Pesquisa de anticorpos anti-rábicos em bovinos vacinados da região de Araçatuba. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 70, n. 4, p. 407-413, 2003.
- 26 MONTAÑO, J. A.; POLACK, G. W.; MORA, E. F. Raiva bovina em animais vacinados. II – Situação epidemiológica no Estado do Paraná, Brasil – 1984. **Arquivo de Biologia e Tecnologia**, v. 30, n. 2, p. 367-380, 1987.
- 27 ALBAS, A. **Vacina anti-rábica em bovinos: efeito de doses de reforço**. 2003. 68 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2003.
- 28 CIUCHINI, F.; IRSARA, A.; PESTALOZZA, S.; TRANI, L.; ANTONUCCI, G. Risposta immunitaria in bovini vaccinati contro la rabia com virus attenuato ceppo ERA. **Revista di Zootecnia Veterinária**, v. 9, p.176-184, 1981.
- 29 OLIVEIRA, A. N.; ANDRADE, M. C. R.; SILVA, M. V.; MOURA, W. C.; CONTREIRAS, E. C. Immune response in cattle vaccinated against rabies. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 1, p. 83-88, 2000.
- 30 PIZZA, A. T.; PIERI, K. M. S.; LUSA, G. M.; CAPORALE, G. M. M.; TERRERAN, M. T.; MACHADO, L. A.; ZANETTI, C. R. B. Effect of contents and form of rabies glycoprotein on thepotency of rabies vaccination in cattle. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 2, p. 265-268, 2002.
- 31 UMEHARA, O.; DE LUCCA NETO, D.; MORO, E.; BERNARDI, F.; ITO, F. H.; RODRIGUES, C. A. Rabies virus neutralizing antibody profile in cattle vaccinated with inactivated vaccine adjuvanted with either aluminum hydroxide alone or combined with avridine. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 23-28, 2002.
- 32 INSTITUTO PASTEUR. **Controle da raiva dos herbívoros**. São Paulo: Instituto Pasteur, 1999. 32 p. (Manual Técnico, n.3).
- 33 RIBEIRO NETTO, A.; NILSSON, M. R.; DE ANGELIS CORTES, J.; MIZUNO, M.; MIGUEL, O. Comparative study of cattle antirabies vaccine. **Zentralbl Veterinaermed B**, v. 20, p. 398- 404, 1973.
- 34 ALBAS, A.; PARDO, P. E.; GOMES, A. A. B.; BERNARDI, F.; ITO, F. H. Effect of a booster-dose of rabies vaccine on the duration of virus neutralizing antibody titers in bovines. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 4, p. 367- 371, 1998.
- 35 BURTON, J. L. Supplemental chromium: its benefits to bovine immune system. **Animal Freed Science and Technology**, v. 53, n. 2, p. 115-135, 1995.