UNIVERSIDADE DO OESTE PAULISTA
UNOESTE
PRESIDENTE PRUDENTE - SP

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

‘

AVALIAÇÃO DA VACINAÇÃO ANTIRRÁBICA E DA SUPLEMENTAÇÃO COM *MATRICARIA CHAMOMILA* CH_{12} NA RESPOSTA IMUNE HUMORAL EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

KELLEN CRISTINA KUWAHARA

Presidente Prudente – SP
2012

UNIVERSIDADE DO OESTE PAULISTA
UNOESTE
PRESIDENTE PRUDENTE - SP

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

AVALIAÇÃO DA VACINAÇÃO ANTIRRÁBICA E DA SUPLEMENTAÇÃO COM *MATRICARIA CHAMOMILA* CH_{12} NA RESPOSTA IMUNE HUMORAL EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

KELLEN CRISTINA KUWAHARA

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Pardo

Presidente Prudente – SP
2012

636.213
K97a

Kuwahara, Kellen Cristina.
Avaliação da vacinação antirrábica e da suplementação como Matricaria Camomila CH12 na resposta imune humoral em bovinos da raça nelore / Kellen Cristina Kuwahara . – Presidente Prudente, 2012.
35 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2012.
Bibliografia.
Orientador: Paulo Eduardo Pardo.

1. Raiva. 2. Bovinos. 3. Vacinação. 4. Matricaria. 5.Imunidade humoral. 6. Gado Nelore. I. Título.

KELLEN CRISTINA KUWAHARA

Avaliação da vacinação antirrábica e da suplementação como *Matricaria Camomila* CH12 na resposta imune humoral em bovinos da raça nelore

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 29 de outubro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

_____
Orientador: Prof. Dr°. Paulo Eduardo Pardo
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente

_____
Profª. Drª.Cecília Braga Laposy
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente

_____
Prof. Dr°.Avelino Albas
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Polo Sorocabana - APTA
Presidente Prudente

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível, graças à orientação precisa, recebida dos professores e instituições: Dr° Paulo Eduardo Pardo, Dr°. Rogério Giuffrida, Drª Cecília B. Laposy ao proprietário dos animais avaliados Sr° Eduardo Celestino, ao Dr° Avelino Albas da APTA, assim como à APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – Polo Sorocabana bem como e a Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE e a Arenales Fauna & Flora – Homeopatia Animal pela contribuição a pesquisa.

DEDICATORIA

A DEUS por ter me dado a vida e forças para superar todos os desafios.

Aos meus avôs Kiyokichi e Fugie Kuwahara por acreditar e me impulsionar em todos os momentos.

Aos meus pais Akiyoshi e Deosdete Kuwahara pelo apoio incondicional.

Aos meus queridos irmãos Frank Akiyoshi Kuwahara e Flavio Kiyokichi Kuwahara pelo incentivo a pesquisa e ao profissionalismo.

Ao meu namorado Dirceu Martins da Costa Junior pelo companheirismo, pelo carinho e paciência.

Enfim, a todos que fizeram permitir a realização e conclusão desta etapa.

EPÍGRAFE

“Cultivar a terra e criar animais são as mais nobres atividades praticadas pelo homem. Produzir alimentos vegetais é a arte de colher o sol. Produzir proteína animal é a arte de transformação dessa magia. Imagine, então, quão nobre é o homem que cultiva a terra, cria os animais e ainda respeita e protege seu semelhante e o meio ambiente”.

Autor desconhecido.

RESUMO

Avaliação da vacinação antirrábica e da suplementação com *Matricaria Chamomila* CH_{12} na resposta imune humoral em bovinos da raça nelore.

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação com *Matricaria Chamomila* CH_{12} sobre a resposta imune humoral em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica. Vinte e oito bovinos, fêmeas, Puro de Origem (PO), com idade de 12 meses foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (14 bovinos/grupo): o grupo controle (GC) recebeu o sal mineral sem suplemento e vacina antirrábica e o grupo Teste (GT) recebeu 4 gramas de suplemento com *Matricaria Chamomila* CH_{12} adicionado ao sal mineral e por ingestão voluntária. Os títulos individuais de anticorpos neutralizantes foram determinados por meio da técnica de soroneutralização baseado no Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). Os títulos sorológicos médios observados para os dois grupos estudados aos 48 e aos 90 dias foram comparados pelo teste t não-pareado com correção de Welch, e os títulos sorológicos dentro de cada grupo, aos 48 e 90 dias pós-vacinação, pelo teste t-pareado. Dentro de cada grupo, a proporção de animais imunizados contra raiva foram comparados pelo teste de Qui-quadrado de MacNemar. Não houve diferença estatística nos títulos de anticorpos neutralizantes entre os grupos estudados. Conclui-se que o uso da *Matricaria chamomila* CH12 adicionado ao sal mineral não alterou a resposta imune humoral, e que uma única dose não foi suficiente para manter os títulos de anticorpos antirrábicos protetores pós 90 dias de vacinação.

Palavras Chaves: Raiva; Vacinação; Bovinos; Matricaria, Imunidade humoral; Gado Nelore.

ABSTRACT

Evaluation of the rabies vaccination and supplementation with *Matricaria chamomila* CH_{12} in humoral immune response in Nelore cattle.

The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with *Matricaria chamomila* CH_{12} through humoral immune response in vaccinated cattle with a single dose of antirabies vaccine. Twenty-eight female bovines, Pure Breed (PO), aged shape12 months old randomly divided into 2 groups (14 animals / group): control group (CG) received the mineral salt and rabies vaccine and group Testing (GT) received 4 grams of supplement with *Matricaria chamomila* CH_{12} added to mineral salt for voluntary intake. The individual titers of neutralizing antibodies were determined by the technique of neutralization based on the Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). The average of serological titers observed for both groups at 48 and at 90 days were compared by using unpaired t-test with Welch correction, and serological titers within each group, at 48 and at 90 days post-vaccination, by paired t test. Within each group, the proportion of animals immunized against rabies were compared by chi-square MacNemar. There was no statistical difference in antibody titers between groups. It was concluded that the use of *Matricaria chamomila* CH12 core added to the mineral salt does not alter the humoral immune response, and that a single dose was not sufficient to maintain the antirrábicos protective antibody titers 90 days post vaccination.

Key Words: Rabies, Nelore Cattle; Immunity, humoral; Vaccination; Matricaria.; Cattle.

SUMÁRIO

1. REVISÃO DE LITERATURA..... 11
1.1. Pecuária Brasileira..... 11
1.2. Raiva..... 12
1.3. Homeopatia em Animais..... 14

2. REFERÊNCIAS..... 17

3. ARTIGO CIENTÍFICO..... 21

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Pecuária Brasileira

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORES DE CARNE, [2010]), o Brasil é o quinto maior país do mundo em território, com 8,5 milhões de km^2 de extensão, com cerca de 20% da sua área (174 milhões de hectares) ocupada por pastagens. Apesar de ser um país predominantemente tropical, possui uma grande variabilidade climática, refletindo nos regimes pluviométricos e consequentemente nos sistemas de produção pecuários.

Como a maior parte do rebanho de 209 milhões de cabeças é criada a pasto (estima-se que somente 3% do rebanho são terminados em sistema intensivo), as chuvas interferem diretamente na qualidade das pastagens e, portanto, na oferta e preço do gado de região para região (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORES DE CARNE, [2010]). E ainda, a crescente demanda por alimentos de origem animal, principalmente em países em desenvolvimento, em que o crescimento populacional é maior, e este aumento potencial da demanda e a necessidade de uma pecuária eficiente exige que os produtores ofereçam ao consumidor final um produto de boa qualidade e com baixo custo (FARIA et al., 2008).

Segundo Peres e Josahkian (2010), dentre os diversos setores do agronegócio, a pecuária bovina de corte é um dos que mais se evidencia quando é discutida a questão ambiental, devido às grandes extensões de áreas utilizadas na produção e pelos impactos que isso pode gerar nos recursos naturais. Produzir de forma sustentável é a única maneira que as empresas rurais possuem para se conservarem no mercado ao longo do tempo, sendo importante ressaltar que o Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina do mundo, mantendo 68% da área do seu território com florestas preservadas (LIMA et al., 2006).

A tecnologia aplicada à pecuária está cada dia mais presente no rebanho brasileiro. Aliada ao desenvolvimento de pesquisa nacional e de técnicas específicas aos sistemas produtivos, ela está impulsionando os índices de produtividade dos animais e colaborando para uma pecuária cada dia mais eficiente e sustentável

(ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORES DE CARNE, [2010]).

1.2 Raiva

A raiva é causada por um vírus RNA, envelopado (SWANEPOEL, 2004), da ordem *Mononegavirales*, família *Rhabdoviridae* e gênero *Lyssavirus* (CONSALES; BOLZAN, 2007), sendo uma zoonose extremamente importante para a saúde pública, a principal forma de prevenção da doença é a vacinação nos animais aplicada anualmente evitando assim, a transmissão para o ser humano (OLIVEIRA, 2010). O vírus da raiva é um Rhabdovirus com genoma de RNA simples de sentido negativo (a sua cópia é lida como RNAm na síntese proteica).

A transmissão dá-se pela penetração do vírus contido na saliva do animal infectado, principalmente pela mordedura de animais como cães e morcego, e mais raramente, pela arranhadura e lambedura de mucosas (BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, [2009]). O vírus afeta o sistema nervoso central, o que acarreta quadros de comportamento agressivo (FERNANDES, 2003).

Ao contrário dos demais vírus, a raiva invade as defesas imunes do hospedeiro por período longo e sua amplificação produz uma quantidade de vírus suficiente para chegar às terminações nervosas (JUBB; HUXTABLE, 1993).

A importância da raiva para a saúde pública é devida ao número de casos da enfermidade, de sua alta letalidade e seus danos econômicos, considerando-se homem/hora perdidas com o tratamento antirrábico (BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, [2009]).

Em relação à região político-administrativa, 52,0% dos casos humanos ocorreram no Nordeste, 38,0% no Norte, 6,0% no Sudeste e 4,0% no Centro-oeste do país. A região Sul não apresenta raiva humana desde 1987: o último caso, transmitido por morcego, tem por referência geográfica o estado do Paraná. Em relação à ocorrência em capitais e grandes cidades, somente Salvador, a capital da Bahia, apresentou casos de raiva nesse período (WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011).

Na América Latina, o prejuízo corresponde a 30 milhões de dólares/ano, no Brasil o valor direto é aproximadamente de 15 milhões de dólares e indiretos de 22,5 milhões de dólares, com a morte de cerca 40.000 bovinos (INSTITUTO PASTEUR, 2012).

O controle da raiva resulta na vacinação efetiva do rebanho e controle da população de transmissores dessa doença, e a população humana deve ser informada sobre as formas de transmissão, bem como as maneiras de prevenção e ainda reforça-se a necessidade de a população buscar atendimento em qualquer situação de agressão, e de profissionais de saúde permanecerem atentos à avaliação e indicação adequada e oportuna da profilaxia, quando esta se fizer necessária. (REIS et al., 2006, FERREIRA et al., 2009; MARIA et al, 2009; WADA; ROCHA; MAIA-ELKHOURY, 2011).

Quando trata - se de vacinação é possível alguns inconvenientes como o estresse, sendo que essa condição de não homeostasia, diante das alterações fisiológicas, leva ao comprometimento da produtividade de leite e carne, pelo fato de interferir no bem estar animal. É sabido que situações de estresse são comuns aos animais, visto que podem ser submetidos a essas situações ou condições por manejo, transporte, instalação, situação de medo, desconforto térmico. Sendo assim, para controle de estresse faz - se o uso de fitoterápicos ou homeopáticos, que não possuem contra indicação e efeito residual, na carne ou leite, destinado ao consumo final e melhoria na qualidade de vida (MITIDIEIRO, 2002).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda como parâmetro de imunidade antirrábica títulos protetores de anticorpos igual ou maior a 0,5 UI/ml (Unidades Internacionais/ml (ALBAS et al., 2006, CHABEL, 2007). Entretanto Rubi et al., (2003), relataram que títulos protetores em ovinos seria de 1,10 UI/ml.

No Brasil, é comum a ineficiência da vacinação na primovacinação de vacinas antirrábica, mesmo com seus parâmetros de normalidades segundo seus fabricantes (MARIA et al, 2009). Portanto é necessário buscar alternativas para aumentar a eficiência da vacinação contra o vírus rábico (FERREIRA et al., 2009).

1.3 Homeopatia em Animais

A homeopatia, genial terapêutica descoberta e desenvolvida pelo médico alemão Samuel Hahnemann no final do século XVIII, primeiramente utilizada no tratamento de moléstias em seres humanos, tem sua eficiência comprovada no tratamento das mais diversas espécies animais (CORRÊA; QUINTAS, 1997).

Para entender a utilização da homeopatia na medicina veterinária, reporta-se à história da Homeopatia, que se inicia quando Hahnemannn, decepcionado com a medicina agressiva e pouco eficiente de sua época, abandona-a e dedica-se a traduzir livros e trabalhos científicos. Trabalhando na tradução de uma matéria médica sobre a utilização de *China officinalis* no tratamento de malária, algo fez com que Hahnemann, de forma inusitada, experimentasse *China* em si mesmo, resultando em que todos os sintomas da malária produziram-se de forma branda em seu organismo. A partir desse auto - experimento, Hahnemann constatou a Lei da Semelhança, enunciada por Hipócrates há vários séculos (*Similia similibus curentur*). Sendo assim, seguindo em experimentações de outras substâncias e anotando as observações, Hahnemann desenvolveu de forma brilhante a homeopatia. Essa nova "Arte de Curar" como era chamada a homeopatia por Hahnemann (SOUZA, 2002).

Nos rebanhos, com todas as particularidades das espécies envolvidas em uma determinada criação animal, é considerado pela homeopatia como um organismo único, e assim é tratado, obedecendo os passos para a conduta do tratamento individual. As vantagens da utilização da homeopatia, nos rebanhos segundo Mitidieiro (2002), inclui a facilidade de administração, para Tiefenthaler (1996), inexistência de resíduos e para Souza (2002), ausência de contaminação do meio ambiente. Há evidencias ainda que, a *Matricaria chamomila* tem efeitos, imunomodulatório e estímulos alogênicos na proliferação de linfócitos e na ativação de células T, mas esses efeitos ainda não são claramente conhecidos (YAMADA et al, 1996; AMIRGHOFRAN; AZADBAKHT; KARIMI, 2000; ZANOLI; AVALLONE; BARALDI, 2000; GHARAGOZLOO; GHADERI; GHADER, 2001). Outros estudos têm demonstrado resultados satisfatórios no uso da *Matricaria chamomilla* na resposta ao estresse como: efeito sedativo (HOLLISTER, 1970; YAMADA et al., 1996; SALGUEIRO et al., 1997; AMIRGHOFRAN;

AZADBAKHT; KARIMI, 2000), redução na produção de cortisol (OHNO et al., 2002), o extrato de camomila possui efeitos hipnóticos (YAMADA et al., 1996), ansiolítico (PALADINE et al., 1999; ZANOLI; AVALLONE; BARALDI, 2000), analgésico (YAMADA et al., 1996), espasmolítico, anti-flogístico, anti-microbiano, anti-térmico (VIOLA et al., 1995), anti-inflamatório (AMIRGHOFRAN; AZADBAKHT; KARIMI, 2000; ZANOLI et al., 2000; GHARAGOZLOO; GHADERI; GHADER, 2001), relaxante muscular (SALGUEIRO et al.,1997). Além disso, reduz a atividade locomotora (ZANOLI; AVALLONE; BARALDI, 2000).

Diante desse perfil positivo, os produtos homeopáticos tem conquistado o mercado, no tratamento de doenças dos animais de companhia como também para potencializar a produção de alimentos de origem animal, principalmente de alimentos orgânicos (EUROPEAN COUNCIL FOR CLASSICAL HOMEOPATHY, 2003).

A homeopatia é fundamentada em princípios que diferem da medicina convencional, pelo fato de aplicar o princípio de cura pela similitude, por meio de substâncias previamente experimentadas em indivíduos sadios, em doses infinitesimais, sempre na valorização da individualidade (DIAS, 2002). A homeopatia não tem apenas efeitos curativos, ela é um excelente meio preventivo que possibilita melhor desempenho produtivo e reprodutivo dos animais (DAY, 1992). Profilaticamente já foi utilizada no controle de carrapato, berne, mosca-do-chifre e das principais verminoses, não eliminando completamente os parasitos, mas levando a sua população para níveis que não causam danos econômicos (TEIXEIRA, 2003). Soto et al. (2008) analisando desempenho de leitões na primeira semana pós desmame sob efeito de medicamento homeopático observaram que os animais que receberam salina sacarose sozinha e sacarose salina com homeopatia perderam menos peso do que o controle, apesar de não terem observados perda de peso em nenhum dos tratamentos.

Segundo Teixeira (2003) em pesquisas com camundongos sob estresse de restrição alimentar com alimento a vontade, recendo um complexo homeopático tiveram maior ganho de peso em relação aos que não receberam.

Já Magalhães Neto, Benedetti e Cabral (2005), observaram redução na infestação por ectoparasitas em bovinos leiteiros tratados com homeopatia quando comparados com medicamento convencional. ALBERTI, 2004 também obteve efeito

favorável no controle de nematódeos gastrintestinais em quando se utilizou homeopatia.

O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito da suplementação com *Matricaria chamomila* sobre a resposta imune humoral em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORES DE CARNE. **Pecuária brasileira**. [2010]. Disponível em: http://www.abiec.com.br/3_pecuaria.asp. Acesso em: 06 jan. 2012.

ALBAS, A. et al. Interval between first dose and booster affect antibody production in cattle vaccinated against rabies. **Journal of Venomouns Animals and Toxins including Tropical Diseases,** v. 12, n. 3, p. 476 – 486, 2006.

ALBERTI, A. L. L. et al. **Eficácia do composto homeopático (fator ovino) no controle de nematóides gastrintestinais, em ovinos naturalmente infectados e criados a campo**. Presidente Prudente: Universidade do Oeste Paulista, 2004.

AMIRGHOFRAN, Z.; AZADBAKHT, M.; KARIMI, M. H. Evaluation of the immunodulatory effects of five herbal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, n. 1/2, p. 167 – 172, 2000.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros. Raiva em herbívoros por espécie animal, 1987/2008**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 17 out. 2009.

CHABEL, J.C. **Efeitos de um complexo homeopático em ovinos sob condições de restrição alimentar**. 2007. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.

CONSALES, C. A.; BOLZAN, V. L. Rabies review: immunopathology, clinical aspects and treatment. **Journal of Venomouns Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 13, n. 1, p. 5-38, 2007

CORRÊA, A. S. B. R.; QUINTAS, L. E. M. Similia similibuscurentur: notação histórica da medicina homeopática. **Revista da Associação Médica Brasileira,** v. 43, n. 1, p. 347-351, 1997.

DAY, C. E. I. Alternative medicine. In: ANDREWS, H. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. London: Blackwell Science, 1992. 922 p.

DIAS, S. A. V. **A homeopatia e seu uso nos animais**. Salvador: Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola, 2002. 63 p.

EUROPEAN COUNCIL FOR CLASSICAL HOMEOPATHY. The homeopathic treatment of animals in Europe. 2.ed. 2003. Disponível em: www.homeopathy-ecch.org. Acesso em: 16 out. 2006.

FARIA, C. U. et al. Impactos da pesquisa científica no melhoramento genético de bovinos de corte para qualidade da carne. **Pubvet**, v. 2, n. 31, ed. 42, art. 383, 2008.

FERNANDES, C. G. Raiva. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2003. v.1, p. 149-62.

FERREIRA et al. Avaliação da vacinação anti-rábica e da suplementação com probiótico na resposta imune humoral em bovinos. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30. n. 3, p. 655 – 660, jul./set., 2009.

GHARAGOZLOO, E.; GHADERI, M; GHADER, A. Immunomodulatory effect of concentrated lime juice extract on activated human mononuclear cells. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 85 – 90, 2001.

HOLLISTER, L. E. Methodological considerations in evaluating anti – anxiety drugs. **Journal of Clinical Pharmacology and New Drugs Online**, v. 10, n. 1, p. 12 – 18. 1970.

INSTITUTO PASTEUR. **Raiva dos herbívoros**. 2012. Disponível em: http://www.pasteur.saude.sp.gov.br;informacoes/informacoes03.htm. Acesso em: 17 set. 2012.

JUBB K. V. F.; HUXTABLE, C. R. The nervous system. In: JUBB, K. V. F., KENNEDY, P. C.; PALMER, N. (Ed.). **Pathology of Domestic Animals**. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1993. v.1, p. 267-437.

LIMA, A. A. de et al. **Boas práticas agropecuárias**: bovinos de corte. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2006.

MAGALHÃES NETO, M. A.; BENEDETTI, E.; CABRAL, D. D. Homeopatia no controle de carrapatos em bovinos leiteiros. **Revista Horizonte Cientifico**, v. 2, p. 1-20, 2005.

MARIA. E. K. et al. Efeito cm a suplementação com zinco na resposta imune humoral anti-rabica em bovinos. **Arch. Zootec**., v. 58, Supl. 1, .p. 605-608, 2009.

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

OHNO, S. et al. Effects of flavonoid phytochemicals on cortisol production and activities of steroidogenic enzymes in human adrenocortical H295R cells. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 80, p. 355 – 363, 2002.

OLIVEIRA, A. V. B. A campanha Nacional de vacinação contra raiva animal nos município da microrregião de Catolé da Rocha – PB, no período de 2006 – 2007. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)**, v. 5, n. 1, p. 101 - 119 jan./mar., 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAUDE. **Rabies**. [2009]. Disponível em: <http:// http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/. Acesso em: 30 dez. 2009.

PALADINI, A. C. et al. Flavonoids and the central nervous system: from forgotten factory to potent anxiolytic compounds. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 51, p. 519 – 526, 1999.

PERES, M. A.; JOSAHKIAN, A. L. Estratégias de mitigação dos gases de efeito estufa na pecuária de corte. **Cadernos de pós-graduação da FAZU**, v. 1, 2010. Disponível em: http://www.fazu.br/ojs/index.php/posfazu/article/view/318.htm. Acesso em: 05 mai. 2012.

REIS, L. S. L .S. et al. Matricaria chamomilla CH12 decreases handling stress in Nelore calves. **J. Vet. Sci**., v. 7, p. 189-192, 2006.

RUBÍ, J. E. W. et al. Determinación de la extinction antigênica de la vacuna. V – 319. Acatlán vírus vivo atenuado em ovinos. **Técnica Pecuaria en México**, v. 41, n. 2, p. 193 – 196, 2003.

SALGUEIRO, J. B. et al. Anxiolytic natural synthetic flavonoid ligands of the central benzodiazepine receptor have no effect on memory tasks in rats. **Pharmacology Biochemistry and Bahavior**, v. 58, n. 4, p. 887 – 891, 1997.

SOUZA, M. F. A**.** Homeopatia veterinária. In: CONFERÊNCIA VIRTUAL GLOBAL SOBRE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE BOVINOS DE CORTE, 2002, Campo Grande. **Anais**... Campo Grande: Embrapa, 2002.

SOTO, F. R. M. et al. Avaliação dos índices zootécnicos de uma granja comercial com a utilização do tratamento homeopático. **Veterinária e Zootecnia**, v. 14, p. 110 – 115, 2008.

SWANEPOEL R. Rabies. In: COETZER, J. A. W.; TUSTIN, R. C. (Ed.). **Infectious Diseases of Livestock**. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, Cape Town. v. 2., p. 1123-1182, 2004.

TEIXEIRA, M. A. et al. 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.

TIEFENTHALER, A. **Homeopatia para animais domésticos e de produção**. [S.l.]: Ed. Andrei, 1996. 332 p.

VIOLA, H. et al. Apigenin, a component of Matricaria recutia flowers, is a central benzodiazepine receptors: ligand with anxiolytic effects. **Planta Medica**, v. 61, p. 213 – 216, 1995.

ZANOLI, P.; AVALLONE, R.; BARALDI, M. Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. **Fitoterapia**, v. 71, p. 117 – 123, 2000.

WADA, M. Y.; ROCHA, S. M.; MAIA-ELKHOURY, A. N. S. Situação da raiva no Brasil: 2000 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, V. 20, N. 4, p. 509-518, 2011.

YAMADA, K. et al. Effect of inhalation of Chamomilla oil vapour on plasma ACTH level in ovariectomized: rat under restriction stress. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 19, p. 1244 – 1246, 1996.

Avaliação da vacinação antirrábica e da suplementação com *Matricaria chamomila* CH_{12} na resposta imune humoral em bovinos da raça nelore.

Evaluation of rabies vaccination and supplementation with *Matricaria chamomila* CH_{12} to the response immune humoral in bovine nellore.

Kellen Cristina Kuwahara[I]; Avelino Albas[II]; Paulo Eduardo Pardo[III]; Rogério Giuffrida[III]; Helena Fabiana Reis de Almeida Saraiva[IV].

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação com *Matricaria chamomila* CH_{12} sobre a resposta imune humoral em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica. Vinte e oito bovinos, fêmeas, Puro de Origem (PO), com idade de 12 meses foram divididos aleatoriamente em 2 grupos (14 bovinos/grupo): o grupo controle (GC) recebeu o sal mineral sem suplemento e vacina antirrábica e o grupo Teste (GT) recebeu 4 gramas de suplemento contendo *Matricaria chamomila* CH_{12} adicionado ao sal mineral e por ingestão voluntária. Os títulos individuais de anticorpos neutralizantes foram determinados por meio da técnica de soroneutralização baseado no Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). Os títulos sorológicos médios observados para os dois grupos estudados aos 48 e aos 90 dias foram comparados pelo teste t não-pareado com correção de Welch, e os títulos sorológicos dentro de cada grupo aos 48 e 90 dias pós-vacinação pelo teste t-pareado. Dentro de cada grupo, a proporção de animais imunizados contra raiva foram comparados pelo teste de Qui-quadrado de MacNemar. Não houve diferenças estatísticas nos títulos de anticorpos neutralizantes entre os grupos estudados. Conclui – se que a administração do suplemento com *Matricaria chamomila* CH_{12} adicionado ao sal mineral não melhora a resposta imune humoral mediante a uma única dose de vacina antirrábica.

[I] Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: kellen.kuwahara@hotmail.com
[II] Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Polo Sorocabana - APTA. Presidente Prudente, SP, Brasil.
[III] Departamento de Medicina Veterinária, Universidade do Oeste Paulista, (UNOESTE), Presidente Prudente SP, Brasil. Rodovia Raposo Tavares, km 572. Bairro Limoeiro. CEP 19067-175.
[IV] Graduanda em Medicina Veterinária, Universidade do Oeste Paulista, (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil.

Palavras Chaves: Raiva, *Matricaria chamomila*, vacina, bovino, resposta imune.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with *Matricaria chamomila* CH_{12} on the humoral immune response in cattle vaccinated with a single dose of antirrrábica vaccine. Twenty-eight female bovines, Pure Breed (PO), with 12 months age were randomly divided into 2 groups (14 animals / group): control group (CG) no received the salt and mineral supplement without rabies vaccine group and Testing (GT) received 4 grams of supplement containing *Matricaria chamomila* CH_{12} added to salt and mineral intake voluntary. The individual titers of neutralizing antibodies were determined by the technique of neutralization based on the Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT). The average observed serological titers for both groups at 48 and 90 days were compared using unpaired t-test with Welch correction, and serological titers within each group at 48 and 90 days post-vaccination by t test -paired. Within each group, the proportion of animals immunized against rabies were compared by chi-square MacNemar. There was no statistical difference in antibody titers between groups. Concluded that administration of *Matricaria chamomila* CH_{12} added to the core mineral salt does not enhance the humoral immune response by a single dose of rabies vaccine.

Key-words: Rabies, *Matricaria chamomila* CH_{12}, vaccine, bovine, immune response.

INTRODUÇÃO

A raiva é uma zoonose causada por um vírus RNA, envelopado da ordem Mononegavirales, família Rhabdoviridae e gênero *Lyssavirus* (GIOMETTI et al., 2006; CONSALES & BOLZAN, 2007.; REIS et al., 2008). No Brasil o principal agente transmissor do vírus rábico aos animais é o morcego hematófago *Desmodus rotundus* (ALBAS et al., 2006; SCHEFFER et al., 2007). Na América Latina, o prejuízo corresponde a 30 milhões de

dólares/ano, no Brasil o valor direto aproxima - se dos 15 milhões de dólares e indiretos de 22,5 milhões de dólares, com a morte de cerca 40.000 bovinos (INSTITUTO PASTEUR, 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), 2011 recomenda como parâmetro de imunidade antirrábica títulos protetores de anticorpos igual ou maior a 0,5 UI/ml (Unidades Internacionais/mL (ALBAS et al, 2006, CHABEL et al., 2009). Entretanto RUBÍ et al., (2003), relataram que títulos protetores em ovinos seria de 1,10 UI/ml.

No Brasil, é comum a ineficiência da vacinação na primovacinação de vacinas antirrábicas, mesmo com seus parâmetros de normalidades segundo seus fabricantes (MARIA et al., 2009). Portanto é necessário buscar alternativas para aumentar a eficiência da vacinação contra o vírus rábico (FERREIRA et al., 2009).

A raiva é uma zoonose extremamente importante para a saúde pública e a população humana deve ser informada sobre as formas de transmissão, as maneiras de prevenção e como se proceder diante de acidentes provocados pelo contato direto desses animais (REIS et al., 2006, FERREIRA et al., 2009, MARIA et al., 2009). A forma de prevenção mais eficiente é a vacinação continua (OLIVEIRA, 2010), de menor custo e redução de perdas econômicas (REIS et al., 2008. FERREIRA, 2009. MARIA et al., 2009). Para tanto tem - se sugerido o uso de probióticos (FERREIRA et al.,2009), zinco (MARIA et al.,2009) e núcleo homeopático composto por *Matricaria chamomila* (REIS et al., 2008; CHABEL et al., 2009), este último como estratégia para aumentar a resposta imunológica dos animais assim como da não possibilidade de acúmulo de resíduos nos produtos de origem animal e no meio ambiente (TIIEFENTHALER, 1996; SOUZA, 2002; GRAMINHA, 2007), e ainda, a *Matricaria chamomila* tem efeito sedativo (HOLLISTER et al., 1970) e reduz a produção de cortisol (OHNO et al., 2002).

Nesse contexto, o objetivo desse estudo foi de avaliar o efeito da suplementação com *Matricaria camomila* CH_{12} sobre a resposta imune humoral em bovinos vacinados com uma única dose de vacina antirrábica.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no município de Pirapozinho, oeste do estado de São Paulo, Brasil. (Latitude Sul 22°12´34.98”S e Longitude W. 51°26´43.22”O, altitude 486 metros, temperatura média anual de 23,5°C e precipitação média anual é de 1300 mm). Analisou - se a concentração de anticorpos neutralizantes antirrábicos em 28 bovinos nelore (*Bos taurus indicus*), fêmeas, Puro de Origem, com idade de aproximadamente 12 meses, alimentados com capim Tanzânia, em sistema de pastejo extensivo onde os piquetes utilizados pelos grupos de animais foram semelhantes na topografia e composição botânica e divididos aleatoriamente em 2 grupos (14 bovinos por grupo). O primeiro grupo, controle (GC) recebeu o sal mineral sem suplemento e vacina antirrábica e o grupo Teste (GT) recebeu 4 gramas de suplemento com *Matricaria chamomila* CH_{12} adicionado ao sal mineral e por ingestão voluntária. Nos primeiros 30 dias, os animais foram mantidos para adaptação a pastagem e ajustes e estabelecimento do consumo do suplemento com *Matricaria chamomila* CH_{12} adicionado ao sal mineral. A quantidade desse produto adicionado no sal mineral foi calculada de maneira que cada animal ingerisse cerca de 4g de suplemento (*Matricaria chamomila* CH_{12} – Fator Estresse ; Arenales Fauna & Flora, Brasil – composto por *Matricaria chamomila* CH_{12} – 0,75 g *Bixa orellana* em 100g sucrose) por dia (ARENAS et al, 2009).

A determinação do consumo de suplemento/animal feita no primeiro mês do experimento ocorreu da seguinte forma: o sal mineral suplementado com o suplemento foi pesado e colocado no cocho e após 24 horas, retirado e pesado novamente. A diferença entre a primeira

pesagem e a segunda, dividida pelo número de animais que utilizaram o cocho foi considerada como consumo médio de sal/bovinos durante 24 horas.

Foi utilizada a vacina antirrábica contendo vírus fixo Pasteur inativado pelo BEI, produzido em cultivo celular. Esta vacina é desenvolvida nos Laboratórios Vallée S/A. A aplicação foi feita no dia zero do experimento em todos os bovinos numa dose de 2ml de vacina por via subcutânea. Os agentes estressores impostos aos bovinos foram todos os que estão presentes para o procedimento de imunização como: a condução dos animais do pasto para o curral, a vacinação dos bovinos, o manejo destes no curral e a presença das pessoas durante o manejo.

Os títulos individuais de anticorpos neutralizantes foram determinados pela técnica de soroneutralização em células BHK_{21} clone 13. Esse teste, baseado no Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test – REFIT, (SMITH et al., 1998) e modificado por Favoretto et al., 1993, foi realizado em microplacas de poliestireno com 96 orificios (Corning, USA). Os resultados corresponderam à diluição onde ocorreu decréscimo de 50% de infecção. Por meio de uma regra de três, comparou-se os resultados obtidos com o soro padrão, para verificação dos resultados dos soros, expressos em Unidades Internacionais (UI). Os títulos sorológicos médios observados para os dois grupos estudados aos 48 e aos 90 dias foram comparados pelo teste t não-pareado com correção de Welch, e os títulos sorológicos dentro de cada grupo, aos 48 e 90 dias pós-vacinação, pelo teste t-pareado. Dentro de cada grupo, a proporção de animais imunizados contra raiva foram comparados pelo teste de Qui-quadrado de MacNemar (PAGANO & GAUVREAU, 2004). Após 60 dias de cada grupo (GC e GT), observou-se a quantidade de títulos de anticorpos de cada animal e considerou-se reagente os resultados que tiveram título igual ou maior que 0,5 UI/ml (ALMEIDA, 1997, OMS, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A titulação de anticorpos neutralizantes antirrábicos é, normalmente utilizada para avaliar a resposta imune humoral após a vacinação antirrábica em bovinos e em outros mamíferos (SILHVONEM et al., 1994; ALBAS et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2000), além de ser recomendada pela Centers for Disease Control or Prevention (CDC).

Os soros de todos os animais colhidos no dia 0 foram não reativos para raiva, indicando que estes animais não haviam tido contato com o antígeno rábico. Assim, as variações encontradas nas concentrações de anticorpos neutralizantes antirrábicos nos soros dos animais durante o experimento, foram induzidas pela vacinação antirrábica administrada no dia 0. Na tabela 1 estão sumarizados os valores correspondentes às médias para cada um dos momentos, considerando-se o grupo tratado com *Matricaria chamomila* CH_{12} e controle.

Os títulos de anticorpos soroneutralizantes contra raiva não diferiram entre o grupo controle e o tratado com *Matricaria chamomila* CH_{12} aos 48 dias pós-vacinação (P = 0,090) e aos 90 dias (P = 0,277). Por outro lado, os títulos médios soroneutralizantes diferiram significativamente entre os dias 48 e 90 pós-vacinação dentro do grupo controle (P = 0,003) e dentro do grupo tratado (P = 0,020) o que confere uma maior proteção aos animais tratados com *Matricaria chamomila* CH_{12}

Os percentuais de animais com títulos protetores não foram estatisticamente diferentes entre o grupo tratado com *Matricaria chamomila* CH_{12} e controle aos 48 (P = 0,325) e 90 (P = 0,449) dias pós-vacinação. Por outro lado, as proporções de animais vacinados protegidos contra raiva diferiram significativamente entre os dias 48 e 90 pós-vacinação para o grupo controle (P = 0,008), mas não diferiram dentro do grupo tratado com *Matricaria chamomila* CH_{12} a (P = 0,500). Esse resultado corrobora com REIS et al (2006), e sugere um efeito imunomodulatário da *Matricaria chamomila* CH_{12}, e segundo relatos de AMIRGHOFRAN et al (2000) e GHARAGOZLOO et al (2001), e SILVA (2010) sugere que a homeopatia é um medicamento de ação lenta e a longo prazo.

A Organização Mundial da Saúde institui que é necessário o título de anticorpos igual ou superior a 0,5UI/ml para proteger os humanos dos riscos de contaminação com o vírus rábico. Alguns autores defendem a teoria de que este título de anticorpos neutralizantes antirrábico é o mínimo protetor para bovinos (SILHVONEN et al 1994; ALBAS et al., 1995). Assim, baseando-se nessa afirmação pode-se considerar que 90 dias pós vacinação antirrábica 42,9 e 64,3% dos animais, respectivamente para animais tratados e controle não estavam protegidos da contaminação pelo vírus da raiva. Esses resultados legitimam com o que diz SILHVONEN et al., 1994 e SILVA et al., 2002 onde demonstraram que a utilização de uma única dose não induz uma resposta imune humoral eficiente para a proteção contra o vírus rábico. Reis et al., (2008), utilizando duas doses de vacina antirrábica observou que os títulos de anticorpos neutralizantes, nos dias 0 e 30, estavam acima de 0,5 UI/ml, demonstrando que em ambos os grupos 100% dos animais ficaram protegidos.

Na tabela 2 podem ser observadas as proporções de animais com títulos soroneutralizantes considerados protetores para raiva (> 0,5 UI). Os percentuais de animais com títulos protetores não foram estatisticamente diferentes entre o grupo tratado com *Matricaria chamomila* e controle aos 48 (P = 0,325) e 90 (P = 0,449) dias pós-vacinação o que confere com os relatos de REIS et al., (2006) e CHABEL (2007) e SILVA et al., (2011). Por outro lado, as proporções de animais vacinados protegidos contra raiva diferiram significativamente entre os dias 48 e 90 pós-vacinação para o grupo controle (P = 0,008), mas não diferiram dentro do grupo tratado com *Matricaria chamomila* (P = 0,500), ou seja, verificou que os animais do grupo controle teve uma queda quanto a sua proteção contra raiva, passando de 13 (número de animais com títulos ≥ 0,5 UI) aos 48 dias para 5 (número de animais com títulos ≥ 0,5 UI) aos 90 dias. Enquanto no grupo tratado com *Matricaria chamomila* a proporção foi de 10 (número de animais com títulos ≥ 0,5 UI) aos 48 dias para 8 (número de animais com títulos ≥ 0,5 UI) aos 90 dias. Na figura 1 pode ser observada a curva correspondente aos valores das médias de títulos sorológicos nos dias zero, 48 e 90 pós-vacinação.

O gráfico do tipo Box-plot referente aos dois momentos estudados para cada um dos grupos estão representados na figura 1, em que não foi observada a presença de outliers.

CONCLUSÃO

Com os resultados encontrados nesse estudo, conclui-se que o uso da *Matricaria chamomila* CH_{12} adicionado ao sal mineral não alterou a resposta imune humoral, e que uma única dose não foi suficiente para manter os títulos de anticorpos antirrábicos protetores pós 90 dias de vacinação.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA – Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) – aprovado em 26/08/2011 - protocolo 856.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBAS, F.; et al. Interval between first dose and booster affected antibody production in cattle vaccinated against rabies. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, Botucatu, v. 12, n. 3, p. 476-486, 2006. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index. php/semagrarias/article/.../2885.

ALBAS, F.; et al. Ausência de resposta imuneem bovinos vacinados contra raiva na região de Presidente Prudente, SP, Brasil, **Hora Veterinária**. 1995, 86, p. 64-66.

AMIRGHOFRAN, Z.; et al. Evaluation of the immunodulatory effects of five herbal plants**.** **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 167–172, 2000. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/biblioteca/arquivos/.../HB25_1.pdf.

ALMEIDA, M. F. Resposta imune humoral de cães à vacina inativada de cérebro de camundongos lactentes, utilizadas nas campanhas antirrábicas do Brasil. **Revista Saúde**

Pública, 502.31(5), p. 502-507, 1997. Disponível em: // http:/www.ins.gob.pe/insvirtual/images/revista/pdf/Revista%20241.pdf.

ARENAS, S.E.; et al.. Probiotic increase the antirabies humoral immune response in bovine. **Archivos de Zootecnia**. Cordoba. v.58, n.224, p.733-736, 2009.

CHABEL, J.C. **Efeitos de um complexo homeopático em ovinos sob condições de restrição alimentar**. 2007. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

CHABEL, J. C.; et al. Efeito de um complexo homeopático "Homeostase Convert H" em ovinos sob condições de restrição alimentar. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 46, n. 5, p. 412 – 423, 2009. Disponível em: < http://www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?pid=S141395962009000500010&script=sci_arttext.

CONSALES, C.A. ; BOLZAN, V.L. Rabies review: immunopathology, clinical aspects and treatment**.** Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases. 13:5-38, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992007000100002. Acesso em: 20 jan. 2012. doi: 10.1590/S1678-91992007000100002.

FAVORETTO, S.R.; et al. Simplified fluorescent inhibition microtest for titration of rabies neutralizing antibodies. Revista do Instituto de Meicina Tropical de São Paulo. V. 35, n. 2. 1993. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46651993000200009.

FERREIRA, L. A.; et al. Avaliação da vacinação antirrábica e da suplementação com probiótico na resposta imune humoral em bovinos**. Seminário: Ciências Agrarias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 655-660, jul./set., 2009.

GHARAGOZLOO, E.; et al., A. Immunomodulatory effect of concentrated lime juice extract on activated human mononuclear cells. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 77, p. 85 – 90,

2001. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00269-0. Acesso em 25 mar. 2012. doi: 10.1016/S0378-8741(01)00269-0

GIOMETTI, J.; et al. Influência da suplementação com crômio na resposta imune humoral antirrábica em bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 4, p. 421-427, 2006. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v73_4/giometti.pdf. Acesso 12 mai. 2012.

GRAMINHA, C. V. et al. Viabilidade de alguns aditivos utilizados no confinamento no Brasil. In: **Confinamento: gestão técnica e econômica**, I, Jaboticabal 2007, Jaboticabal. **Anais...**, 2007. p. 103-132.

HOLLISTER, L.E. Methodological considerations in evaluating anti – anxiety drugs. Journal of clinical pharmacology and new drugs online, v. 10, n. 1, p. 12 – 18.

INSTITUTO PASTEUR. Raiva dos herbívoros. Disponível em: http://www.pasteur.saude.sp.gov.br;informacoes/informacoes03.htm. Acesso em 17 de setembro de 2012.

MARIA, E. K. et al. Efeito com a suplementação com zinco na resposta imune humoral antirrábica em bovinos. **Arch. Zootec**., v. 58 (Supl. 1): p. 605-608. 2009. Disponível em: http:<//www.researchgate.net/publication/48168921>. Acesso em: 15 abr. 2012. doi: 49515040032.

OHNO, S. et al. Effects of flavonoid phytochemicals on cortisol production ando n activities of steroidogenic enzymes in human adrenocortical H295R cells. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 80, p. 355 – 363, 2002.

OLIVEIRA, A.V.B. A campanha Nacional de vacinação contra raiva animal nos município da microrregião de Catolé da Rocha – PB, no período de 2006 – 2007. **Revista Verde.** Mossoró. 2010, v.5, n.1, p. 101 - 119.

OLIVEIRA. N. A. et al. Immune response in cattle vaccinated against rabies. Men. Int. Osvaldo Cruz, 2000. p. 85-88.

OMS. **Rabies.** World Health Organization, set. 2011 Acesso em 30 abril., 2012. Disponível em:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>.

PAGANO, M., GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2 ed. São Paulo: Pioneira, 2004.

PAGANO, M., GAUVREAU, K. Princípios de bioestatística. 2 ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learneing, 2004.

REIS, L.S.; et al**.** *Matricaria chamomilla* CH_{12} decreases handling stress in Nelore calves. **Journal of Veterinary Science**, v.7, p.189-192, 2006, jun. 2006. Disponível em < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3242113/>. Acesso em 27 mai. 2012. doi: 10.4142/jvs.2006.7.2.189.

REIS, S. L.; et al. Efficiency of *Matricaria chamomilla* CH_{12} and number of doses of rabies vaccine on the humoral immune response in cattle. **Journal of Veterinary Science**, v. 9, n. 4, p. 433-435, dez. 2008. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2811788/. Acesso em 27 mai. 2012. doi: 10.4142/jvs.2008.9.4.433

RUBÍ, J. E. W.et al. Determinación de la extinction antigênica de la vacuna. V – 319. Acatlán vírus vivo atenuado em ovinos. Téc. Pecu. Méx; v. 41, n. 2, p. 193 – 196, 2003.

SCHEFFER, K. C.; et al. Vírus da raiva em quirópteros naturalmente infectados no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 3, p. 389-395, jun. 2007. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102007000300010. Acesso em 04 jun. 2012. .doi.org/10.1590/S0034-89102007000300010.

SILHVONEN, L.; et al. Immunization of cattle against rabies using inactivated cell culture vaccines**. Acta Veterinaria Scandinavica**. 1994, 35 p. 371 – 376.

SILVA, A. E; SANTOS, T. M. B. P. Análise do ganho de peso de leitões no período de creche sob efeito de terapia homeopática, Aquidauana, MS, 2010. **Anais do Enic – Ciências Agrárias**. 2010. v. 1; n. 1, 5p. Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Aquidauana, MS.

SILVA, J.R.M. et al. Suplementação de vacas leiteiras com homeopatia: células somáticas do leite, cortisol e imunidade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, vol.63, n.4, Aug. 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000400003. Acesso em 04 jun. 2012. doi: 10.1590/S0102-09352011000400003.

SILVA, L.H.Q. et al. Comparison between the Counter Immunoelectrophoresis test and mouse neutralization test for the detection of antibodies against rabies virus in dog. Men. Inst. Osvaldo Cruz. 2002. P. 259-261.

SMITH, J.S., et al. A rapid fluorescent focus inhibition test (REFIT) fo determining rabies virus-neutralizing antibodies. In: Meslin, F.X.; Kaplan, N.M.; Koprowsky, H. (eds) Laboratory techniques in rabies, Genova: **WHO**, 1998, p. 182-192.

SOUZA, M. F. A. Homeopatia Veterinária. Conferência Virtual Global sobre Produção Orgânica de Bovinos de Corte. 02 de setembro à 15 de outubro de 2002. Editored by: University of Contestado - UnC - Concordia Unit - Concordia - SC – Brazil

TIEFENTHALER, A. Homeopatia para animais domésticos e de produção. Ed. ANDREI Ltd., 1996. 332p.

Tabela 1- Médias e desvios-padrão dos títulos de anticorpos soroneutralizantes contra vírus rábico cepa vírus Pasteur mensurados aos 48 e 90 dias pós-vacinação, em 14 bovinos tratados com *Matricaria chamomila* CH_{12} (GT) e 14 bovinos do grupo controle (GC), Presidente Prudente, 2011.

Grupo	48 dias	90 dias
GT	$0,7893^{Aa} \pm 0,3809$	$0,5793^{Ab} \pm 0,1693$
GC	$1,144^{Aa} \pm 0,6432$	$0,5029^{Ab} \pm 0,1941$

Obs: Valores na mesma coluna seguidos de letras maiúsculas diferentes e na mesma linha seguidos de letras minúsculas diferentes apresentam diferenças significativas ($P<0,05$).

Tabela 2- Número de animais com títulos soroneutralizantes em Unidades Internacionais (UI/ml) considerados protetores (≥0,5) mensurados aos 48 e 90 dias pós-vacinação com vírus cepa Pasteur em 14 bovinos tratados com *Matricaria chamomila* CH_{12} e 14 bovinos do grupo controle, Presidente Prudente, 2011.

	48 dias		90 dias	
	Número de animais			
Grupos	Títulos ≥ 0,5	Títulos < 0,5%	Títulos ≥ 0,5	Títulos < 0,5
GT	10	4	8	6
GC	13*	1	5	9

*Diferenças significativas as proporção de animais considerados protegidos aos 48 e 90 dias (P = 0,008).
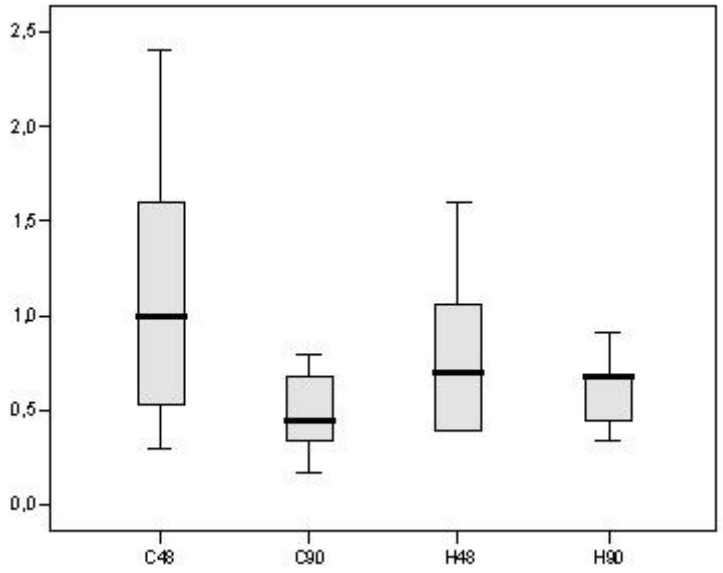
Figura 1 – Títulos soroneutralizantes de 14 bovinos tratados com *Matricaria chamomila* CH_{12} (GT) aos 48 (H48) e 90 dias (H90) pós-vacinação e 14 bovinos do grupo controle (GC) aos 48 (C48) e 90 dias (C90) pós-vacinação.