

CROMOTERAPIA ASSOCIADA À FITOTERAPIA: SAÚDE GLOBAL E CONTROLE DE PARASITOS DE BEZERROS DE APTIDÃO LEITEIRA

CHROMOTHERAPY ASSOCIATED WITH PHYTOTHERAPY: GLOBAL HEALTH AND PARASITES CONTROL OF DAIRY CALVES

CROMOTERAPIA ASOCIADA A LA FITOTERAPIA: SALUD INTEGRAL Y CONTROL DE PARÁSITOS EN GANADO VACUNO LECHERO

Henrique Barbosa Hooper¹
Paula Adriane Piccolo Pieruzzi²
Juliana Helena Vaz de Lima³
Bruna Tambeli Anobi⁴
Karen Nayara Abdala Ferreira⁵
Raquel Ramiro da Silva⁶
Glauco Dente Gurtler⁷
Bianca Paola Santarosa⁸
Priscila dos Santos Silva⁹

Resumo

O carrapato é o ectoparasita que mais compromete a produtividade da pecuária bovina no Brasil. O uso de terapias integrativas, como a cromoterapia e a fitoterapia, tenta complementar à medicina alopática para prevenção e cura de várias doenças que acometem os animais. Em vista do pouco conhecimento a respeito dos efeitos da cromoterapia associada à fitoterapia sobre a saúde global dos animais de produção, o objetivo do estudo apresentado seguir é avaliar os efeitos da luz polarizada de espectro verde associada à suplementação com *Azadirachta indica* em bezerras leiteiras mestiças, relativamente à saúde global e à redução da carga parasitária. Usaram-se 20 bezerras mestiças desmamadas naturalmente infestadas com carrapatos, por dois meses. Dez animais foram alocados aleatoriamente no tratamento controle (CT), enquanto outros dez estiveram no grupo tratamento fitoterapia e cromoterapia com luz de espectro verde (TRAT). A fitoterapia consistia na suplementação alimentar com folhas desidratadas de *Azadirachta indica*. Os parâmetros ambientais foram constantemente controlados. Semanalmente, colheram-se os dados fisiológicos: frequência respiratória e cardíaca, temperaturas ocular e retal, sangue para análises de hemograma e leucograma, bem como contagem de ectoparasitas e endoparasitas. O tratamento não alterou os parâmetros fisiológicos, mas contribuiu para melhorar a concentração de proteínas plasmáticas (CT: 5,57%±0,13; TRAT: 6,23%±0,13; P=0,001) e aumentar a contagem absoluta de eosinófilos (CT: 147,78/mm³±1,03; TRAT: 167,33/mm³±1,03; P=0,04). Os animais tratados apresentaram menor porcentagem de ovos por grama de fezes. Concluiu-se que bezerros mestiços leiteiros suplementados na dieta com folhas de *Azadirachta indica* e cromoterapia com espectro de luz verde apresentam melhor nível de proteína plasmática, melhor recrutamento eosinofílico e menor contagem de ovos por grama de fezes.

Palavras-chave: bovinocultura de leite; endoparasitas; luz polarizada verde; plantas medicinais; terapia complementar.

Abstract

¹ Centro Universitário Anhanguera, Unidade Leme, São Paulo, SP. E-mail: hoopervet@gmail.com

² Centro Universitário Anhanguera, Unidade Leme, São Paulo, SP. E-mail: paula.pieruzzi@anhanguera.com

³ Centro Universitário Anhanguera, Unidade Leme, São Paulo, SP. E-mail: lima.j.helena@gmail.com

⁴ Centro Universitário Anhanguera, Unidade Leme, São Paulo, SP. E-mail: bruna.anobi.ba@gmail.com

⁵ Centro Universitário Anhanguera, Unidade Leme, São Paulo, SP. E-mail: karenabdala@hotmail.com

⁶ Centro Universitário Anhanguera, Unidade Leme, São Paulo, SP. E-mail: rachelramiro08@gmail.com

⁷ E-mail: glacamps@yahoo.com.br

⁸ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo. E-mail: biancasantarosavet@gmail.com

⁹ Faculdade Anísio Teixeira. E-mail: priscilasilva.vet@hotmail.com

The tick is the ectoparasite that most compromises cattle-ranching productivity in Brazil. Integrative therapies usage, such as chromotherapy and phytotherapy, are complementary to allopathic medicine to prevent and cure several diseases that affect the animals. Taking into account the lack of knowledge regarding color therapy effects associated with herbal medicine on the global health of production animals, the objective of the following study is to evaluate the effects of green spectrum polarized light associated with *Azadirachta indica* supplementation in dairy crossbred heifers, regarding global health and parasite load reduction. Twenty weaned crossbred calves naturally infested with ticks were used for two months. Ten animals were randomly allocated to the control group (CG), while another ten were in the herbal and green spectrum light chromotherapy treatment group (TREAT). The phytotherapy consisted of food supplementation with dehydrated *Azadirachta indica* leaves. The environmental parameters were constantly monitored. Weekly, physiological data were collected: respiratory and heart rate, eye and rectal temperatures, blood for hemogram and leukogram analysis, as well as ectoparasite and endoparasite counts. Treatment did not alter physiological parameters, but improving plasma protein concentration (CG: $5.57\% \pm 0.13$; TREAT: $6.23\% \pm 0.13$; $P=0.001$) and increasing absolute eosinophil count (CG: $147.78/\text{mm}^3 \pm 1.03$; TREAT: $167.33/\text{mm}^3 \pm 1.03$; $P=0.04$). Treated animals had lower percentage of eggs per gram of feces. It was concluded that dairy crossbred calves supplemented in the diet with *Azadirachta indica* leaves and chromotherapy with green light spectrum showed better plasma protein level, better eosinophilic recruitment and lower egg count per gram of feces.

Keywords: dairy cattle; endoparasites; green polarized light; medicinal plants; complementary therapy.

Resumen

La garrapata es el ectoparásito que más compromete la productividad de la ganadería en Brasil. El uso de terapias integrativas, como la cromoterapia y la fitoterapia, trata de complementar la medicina alopática en la prevención y curación de diversas enfermedades que afectan a los animales. En vista del escaso conocimiento sobre los efectos de la cromoterapia asociada a la fitoterapia en la salud integral de los animales de producción, el objetivo del estudio que se presenta a continuación es evaluar los efectos de la luz de espectro verde polarizada asociada a la suplementación con *Azadirachta indica* en terneras mestizas lecheras, con respecto a la salud integral y a la reducción de la carga parasitaria. Durante dos meses se utilizaron 20 novillas mestizas destetadas naturalmente infestadas de garrapatas. Diez animales fueron escogidos al azar para el tratamiento de control (CT), mientras que otros diez estaban en el grupo de tratamiento de fitoterapia y cromoterapia con luz de espectro verde (TRAT). La fitoterapia consistió en la suplementación alimentaria con hojas deshidratadas de *Azadirachta indica*. Los parámetros ambientales fueron constantemente controlados. Semanalmente se recolectaron datos fisiológicos: frecuencia respiratoria y cardíaca, temperatura ocular y rectal, sangre para análisis de hemograma y leucograma, así como conteo de ectoparásitos y endoparásitos. El tratamiento no modificó los parámetros fisiológicos, pero contribuyó para mejorar la concentración de proteínas plasmáticas (CT: $5,57\% \pm 0,13$; TRAT: $6,23\% \pm 0,13$; $P=0,001$) y para aumentar el recuento absoluto de eosinófilos (CT: $147,78/\text{mm}^3 \pm 1,03$; TRAT: $167,33/\text{mm}^3 \pm 1,03$; $P=0,04$). Los animales tratados tenían un menor porcentaje de huevos por gramo de heces. Se concluyó que los terneros mestizos lecheros suplementados con hojas de *Azadirachta indica* y cromoterapia con espectro de luz verde tienen mejores niveles de proteína plasmática, mejor reclutamiento de eosinófilos y menor conteo de huevos por gramo de heces.

Palabras-clave: cría de ganadería lechera; endoparásitos; luz polarizada verde; plantas medicinales; terapia complementaria.

1 Introdução

Um dos aspectos mais relevantes da economia brasileira dos últimos anos é o forte dinamismo do agronegócio, que representa um em cada três reais gerados no país (Ministério da Agricultura, 2006). Também é responsável por 33% do Produto Interno Bruto (PIB), 42% das exportações totais, e 37% dos empregos brasileiros¹. É importante destacar que, de 2000 a 2004, esse setor cresceu, em média, 4,64% ao ano, enquanto o crescimento da economia brasileira foi de 2,66%, o que demonstra avanço superior da agropecuária em relação à indústria e ao setor de serviços no país².

O leite se destaca entre os alimentos produzidos pela agropecuária brasileira, à frente de produtos tradicionais, como o café e o arroz. Ao nível nacional, a cadeia leiteira cresce significativamente, comparada aos países que ocupam os primeiros lugares como Estados Unidos, Índia e China³. Portanto, a bovinocultura leiteira é uma atividade bem consolidada no Brasil, fundamental para o sistema de produção de alimentos e sustentabilidade das áreas rurais e urbanas. Para o sucesso econômico da empresa leiteira, considera-se tanto a quantidade como a qualidade de leite produzido⁴.

Obviamente, a saúde e o bem-estar dos animais são importantíssimos para garantir uma produção satisfatória com resultados econômicos positivos, que aumentem o crescimento da cadeia produtiva. Nesta, a fase de criação dos bezerros merece destaque, por ser o início do processo. A manutenção da sua saúde é de extrema importância para garantir um bom futuro às novilhas e vacas-leiteiras. Considerando que os ruminantes apresentam placenta adeciuada, epiteliocorial e multicotiledonária, os bezerros não recebem proteção imunológica durante a gestação, de maneira que nascem sem as imunoglobulinas necessárias para debelar os patógenos, logo, são mais suscetíveis a doenças.

A proteção imunológica provém da colostragem e se reforça gradativamente, em um processo denominado imunização. Nas primeiras horas de vida, o bezerro recebe colostro de sua mãe, que lhe fornece a primeira proteção imunológica, denominada imunidade adquirida (passiva), a qual diminui lenta e consideravelmente após quatro a seis semanas. Por não haver imunidade fortemente estabelecida no período inicial de sua vida, o bezerro é mais susceptível a doenças, como as resultantes da exposição à endo e ectoparasitas, potencialmente desafiadoras para o sistema imunológico dos bezerros.

Como ocorre em diversos países tropicais e subtropicais, o parasitismo pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* está associado a grandes quedas nos índices zootécnicos⁵. Os prejuízos gerados ao animal decorrem tanto de ação direta, como alterações hematológicas e anemias provocadas pelo hematofagismo, como por desvalorização do couro pela ocorrência de lesões. Assim, observam-se perdas indiretas relacionadas à transmissão dos agentes responsáveis pela babesiose e anaplasmose, as quais formam o complexo da Tristeza Parasitária Bovina⁵, um complexo de doenças que compreende duas enfermidades bem conhecidas: a babesiose, causada pelos protozoários *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, e a Anaplasmose, causada pela *Anaplasma marginale*^{6,7}, responsáveis por grandes prejuízos econômicos decorrentes da mortalidade no rebanho, da queda na produção de leite e da diminuição do ganho de peso, além de gastos com controle e profilaxia^{8,9,10}.

O controle convencional do carrapato se baseia em drogas carrapaticidas. Entretanto, a utilização indiscriminada de tal recurso gera resistência ectoparasita aos produtos atualmente disponíveis no mercado, além de consequências à saúde pública, como resíduos na carne, no leite e no meio ambiente, contrapondo-se à crescente demanda por alimentos mais saudáveis e uma produção mais sustentável⁵.

Terapias integrativas — tais como acupuntura, cromoterapia, musicoterapia, homeopatia, florais, entre outras — são tentativas de complementar à medicina alopática para prevenção e cura de várias doenças que acometem o homem e os animais. A medicina natural não duvida da eficácia da medicina tradicional, e, se bem empregada, contribui com as defesas naturais do organismo sem efeitos colaterais. A longo prazo, ambas colaboram para aumentar as defesas do organismo contra todo tipo de doença¹¹.

Fitoterapia (do grego *therapeia* = tratamento e *phyton* = vegetal) é o estudo das plantas medicinais e suas aplicações para a cura das doenças. É uma prática terapêutica baseada no poder curativo das plantas para o tratamento e a prevenção de patologias. São medicamentos obtidos a partir de princípios-ativos derivados exclusivamente de compostos vegetais, caracterizados pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, como também pela constância de sua qualidade¹².

A *Azadirachta indica*, mais conhecida como Neem, é uma árvore asiática capaz de suportar condições extremas de calor, responsável por melhorar a fertilidade do solo, reabilitar pastagens degradadas e auxiliar o controle da erosão do solo e da salinização¹³. Pode ser utilizada como fitoterápico contra os carrapatos devido a sua ação repelente e inseticida contra várias espécies de artrópodes¹⁴. Além do largo espectro de ação e ausência de ação fitotóxica, praticamente atóxica ao homem, não agride ao meio ambiente¹⁵. A planta tem sido utilizada por séculos para tratamento de inflamações, infecções virais, hipertermia, e como acaricida, anti-helmíntico e praguicida. Seus efeitos benéficos estão associados ao conteúdo antioxidante e flavonoides, bem como à sua eficiência em baixas concentrações e, principalmente, por impossibilitar desenvolvimento de resistência¹⁶. Além disso, também atua em relação à estimulação imunológica através da limpeza de toxinas corporais, assim como alívio e cura de feridas por seus ácidos graxos, que promovem maior cicatrização e auxiliam contra diversos problemas dermatológicos¹⁵.

Os primeiros relatos da cromoterapia foram encontrados na Grécia Antiga. Embora ainda pouco conhecida pelas pessoas atualmente, populariza-se como uma das terapias holísticas adotadas pela medicina natural¹⁷. A Cromoterapia, também conhecida como terapia

das cores, emprega sete cores do espectro visível para melhorar o bem-estar mental e a saúde do corpo, mantendo harmonia por meio de frequências que influenciam a homeostase celular.

A percepção das cores pelos seres vivos está associada a três fatores: fonte de luz, capacidade de diferenciar estímulos produzidos por diferentes cores, e materiais que apresentam cores distintas¹⁸. A luz branca é a mistura ou resultado da presença concomitante de luz nas seguintes cores: vermelho, alaranjado, amarelo, verde, azul, anil e violeta¹⁹. Tal conjunto de sete cores distintas polarizadas chama-se *espectro de luz visível*¹⁸. A luz polarizada é aplicada em diversas finalidades nos reinos vegetal e animal desde os primórdios. Estudos comprovam que sua detecção pelos olhos causa ações sistêmicas^{19, 20}. No século XX, o uso terapêutico das cores foi denominado Cromoterapia^{21,22}, que atua reequilibrando as alterações de energia global. Cada cor tem um efeito específico para alcançar o equilíbrio orgânico. Segundo investigações, as atividades cromáticas sobre as células do corpo são estimuladas e influem sobre os nervos, o sistema imunológico e diversos órgãos, provocando alterações químicas^{19,23}. O efeito bioestimulante celular promovido pelas cores ou frequências de ondas ativam o sistema de defesa imunológica e colaboram para prevenir e curar doenças²⁴.

Em um estudo a respeito do impacto da luz polarizada de espectros azul, verde e vermelha sobre o sistema imunológico com modelo animal, concluiu-se que as luzes azul e verde estimularam a capacidade fagocítica dos macrófagos peritoneais no modelo murinho, enquanto a luz vermelha inibiu a atividade celular¹⁹. Além disso, a cor de espectro verde tem influência calmante, produz equilíbrio e harmonia no animal, quando utilizada em qualquer condição que necessite de cura, assim como purifica o organismo de bactérias, harmoniza a digestão, aumenta a imunidade e fortalece o sistema nervoso.

Portanto, busca-se cada vez mais o uso de tratamentos integrativos para reduzir o parasitismo e manter uma conduta sustentável e ecologicamente correta durante a produção. Uma das alternativas é o uso de produtos fitoterápicos, por serem opções de tratamento viáveis aos que buscam conciliar boas práticas de produção e resultados econômicos positivos.

As plantas usadas em preparos fitoterápicos são, por vezes, encontradas em campo, o que se torna um fator de viabilidade para incrementar à produção animal, sobre a qual não têm efeitos residuais, de modo que auxiliam como medida profilática e/ou curativa. Entretanto, mesmo com a publicação de diversos estudos a respeito do uso dos fitoterápicos *Azadirachta indica in vitro*, ainda pouco se investigou a respeito dos seus efeitos para a saúde de bezerros, tampouco associado à cromoterapia. Dessa forma, objetiva-se, com este projeto, avaliar a eficiência do uso dos fitoterápicos *Azadirachta indica* para controle de carrapatos e

relativamente à saúde global dos bezerros naturalmente infestados, com e sem exposição à cromoterapia de espectro verde.

2 Material e métodos

Previamente ao início das atividades, este trabalho foi aprovado pelo Comitê Local de Ética para Experimentação Animal, sob n.º 3126-2021. O projeto de pesquisa ocorreu no município de Leme, São Paulo, Brasil (Latitude 22°18' S, Longitude 47°45'W e Altitude de 763 metros), entre 1º de agosto de 2021 e 30 de junho de 2022. As coletas a campo foram conduzidas durante dois meses, de janeiro a fevereiro de 2022, na Fazenda Leiteira, Estância Belvedere, localizada no município de Descalvado, estado de São Paulo. As colheitas a campo aconteceram no verão, evitando-se as transições de estação.

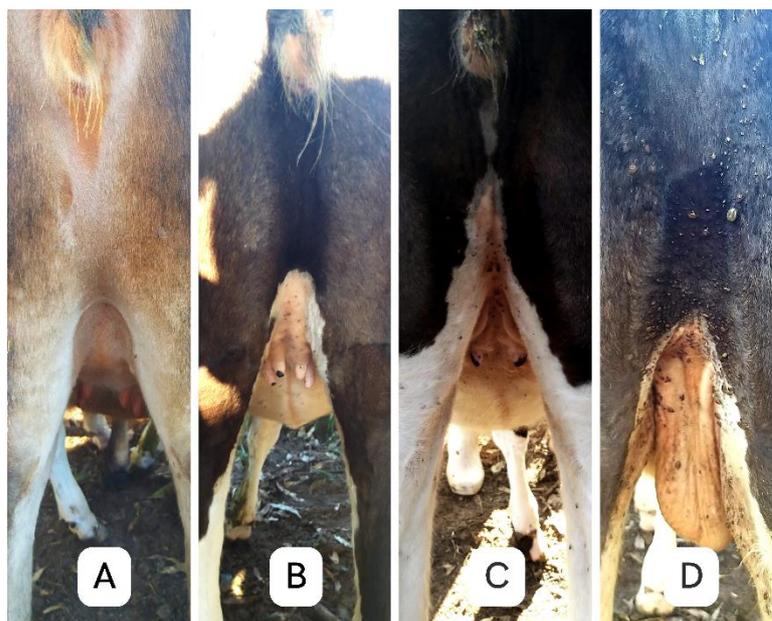
A pesquisa se desenvolveu sob os parâmetros ambientais: temperatura e umidade relativa do ar (termômetro de bulbo seco e úmido) foram mensurados a cada 15 minutos através de *data-loggers* durante todo o período experimental. Semanalmente, colheram-se dados fisiológicos, hematológicos e parasitológicos. Nos animais contidos, mensuraram-se os dados fisiológicos: frequência respiratória (contagem dos movimentos respiratórios do flanco), temperatura ocular (termômetro de infravermelho) e a temperatura retal (termômetro clínico veterinário). Além disso, para possibilitar a análise da saúde geral dos bezerros, colheu-se sangue por veia caudal com agulhas (BD Vacutainer, BD Medical, Curitiba/PR, Brasil) 30x0,8 mm, tubos (BD Vacutainer) de 5 mL com anticoagulante (EDTA). Após as coletas, as amostras foram refrigeradas e processadas no laboratório de análises clínicas da Clínica Veterinária do Centro Universitário Anhanguera, Leme/SP. O sangue foi processado por meio do analisador hematológico automatizado (Sysmex POCH-100iV Diff, Sysmex, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil) com reagentes comerciais. Dessa maneira, obteve-se a contagem total de células vermelhas, a concentração de hemoglobina, de hematócrito, de plaquetas e a contagem dos leucócitos, bem como o volume corpuscular médio (VCM) e a hemoglobina corpuscular média (CHCM).

Para contagem diferencial dos leucócitos, confeccionaram-se lâminas coradas com fixador comercial (Panótico Rápido® — Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda., Pinhais/PR, Brasil) para, via microscopia direta, fazer-se a contagem diferencial de 100 leucócitos, identificando neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos. Neste estágio, a morfologia (cor, formato e inclusões) das células vermelhas e das plaquetas também

foi avaliada. Dois capilares de microhematóritos foram preenchidos com sangue e centrifugados para checar os valores de hematócrito.

Os animais foram submetidos, semanalmente, à avaliação visual do posterior para a infestação de carrapatos, e classificados como infestação ausente, leve, moderada ou alta, para acompanhar a evolução do tratamento (Figura 1).

Figura 1: avaliação visual do posterior de bezerros dos grupos experimentais para infestação de carrapato ausente (A), leve (B), moderada (C) ou alta (D)



Além disso, para determinar a presença de endoparasitas, realizou-se o exame parasitológico de fezes (coprológico) por meio da coleta de fezes diretamente do reto do animal, após o que houve contagem de OPG, ou seja, ovos por gramas de fezes (método de Gordon e Whitlock). As fezes foram acondicionadas em frascos descartáveis, secos e limpos, e conservadas sob refrigeração (2 a 8°C). Quatro gramas de fezes foram trituradas e homogeneizadas com bastão, a que se adicionaram 26 mL de água e 30 mL de solução hipersaturada de NaCl (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1999); a solução formada passou por tamis de 80 malhas por polegada, depois foi homogeneizada e transferida, por meio de pipeta de Pasteur, à Câmara de McMaster, possibilitando a contagem de OPG. Animais com contagem acima de 1000 ovos por grama de fezes foram classificados com infestação alta.

Tal projeto adotou delineamento inteiramente casualizado, em que se aplicou o teste de ANOVA pelo pacote estatístico do *Statistical Analysis System* (SAS, 2008). Os dados foram previamente tratados respeitando as premissas de normalidades dos resíduos pelo procedimento

Shapiro-Wilk Univariate, do SAS, e homogeneidade das variâncias. Para as variáveis ambientais, hematológicas e os parâmetros fisiológicos recorreu-se à análise de variância através do modelo linear generalizado do SAS, no qual os tratamentos controle (CT) e fitoterapia com cromoterapia (TRAT) foram considerados como efeito fixo, e o animal como efeito aleatório. Os efeitos que mostraram resultados significativos nas análises de variância ($P < 0,05$) foram comparados a partir das médias pelo teste de Fisher, quando os dados apresentaram distribuição normal. Para as variáveis OPG e infestação por carrapatos que apresentaram distribuição não paramétrica, aplicou-se o teste Qui-Quadrado. Os resultados das análises estatísticas foram apresentados como média e erro padrão médio.

3 Resultados e discussão

Os dados ambientais estão descritos na Tabela 1. A intensidade luminosa, temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental foram para o grupo CT e TRAT, respectivamente: $76,7\text{lux} \pm 11$; $153,9\text{lux} \pm 31$ ($P=0,05$); $22,8^\circ\text{C} \pm 0,17$; $23,9^\circ\text{C} \pm 0,33$ ($P=0,01$) e $91,68\% \pm 0,7$; $88,98\% \pm 1,85$ ($P=0,002$).

Tabela 1: dados ambientais, temperatura do ar (Tar), umidade relativa do ar (UR) e intensidade luminosa (Luz) representativo dos dias de coleta dos grupos controle (CT) e tratado (TRAT), Estância Belvedere, Descalvado, São Paulo. Diferença estatística quando o valor de $P < 0,05$.

Variáveis ambientais	Tratamento		Valor de P
	CT	TRAT	
Tar ($^\circ\text{C}$)	$22,8 \pm 0,17^{\text{a}*}$	$23,9 \pm 0,33^{\text{b}}$	0,01
UR (%)	$91,68 \pm 0,7^{\text{a}}$	$88,98 \pm 1,85^{\text{b}}$	0,002
Luz (lux)	$76,7 \pm 11^{\text{b}}$	$153,9 \pm 31^{\text{a}}$	0,05

*“a” e “b”: letras diferentes na linha mostram diferença estatística ($P < 0,05$).

Como esperado, o grupo tratado com a luz estava exposto a maior incidência luminosa. A temperatura média do ar estava menor para o grupo de animais controle, porém, ainda dentro do considerado zona de conforto térmico para bovinos leiteiros, isto é, entre 4°C e 23°C ²⁵. Outros autores relataram que a temperatura de conforto térmico para bovinos leiteiros varia entre 10° e 27°C , e a umidade relativa do ar, entre 60 e 70%²⁶. Em relação à umidade relativa do ar, as trocas de calor por via evaporativa foram mais eficientes quando os valores de umidade relativa foram menores que 75%²⁷. Portanto, nas condições deste experimento, embora houvesse diferença entre os grupos, os animais estavam expostos às condições de conforto térmico. Cabe citar ainda que as coletas foram realizadas no momento mais ameno do dia.

Em relação à umidade do ar, houve diferença significativa entre os grupos devido à pluviosidade inerente ao período do verão, quando ocorreram as colheitas. A umidade relativa do ar elevada prejudicou a troca de calor por mecanismos evaporativos importantes para a manutenção da homeotermia. Sabe-se que o desempenho de animais leiteiros fica prejudicado quando temperatura e umidade relativa do ar estão elevados, com velocidade do ar reduzida.

O parâmetro fisiológico temperatura retal (TR) do CT foi de $37,92^{\circ}\text{C} \pm 0,07$, e a do grupo tratado (TRAT) foi de $38,11^{\circ}\text{C} \pm 0,07$, não havendo diferença estatística entre os grupos ($P=0,07$). A frequência respiratória (FR) do CT foi de $27,07\text{mrm} \pm 0,02$ e a do TRAT foi de $28,31\text{mrm} \pm 0,02$, não diferindo entre os grupos ($P = 0,22$). A temperatura ocular (TOC) também se manteve semelhante entre os grupos (CT: $28,61^{\circ}\text{C} \pm 0,29$; TRAT: $28,84^{\circ}\text{C} \pm 0,29$; $P=0,58$).

Tabela 1: dados fisiológicos, temperatura retal (TR), temperatura ocular (TOC) e frequência respiratória (FR) das vacas dos grupos controle (CT) e tratado (TRAT), Estância Belvedere, Descalvado, São Paulo.

Parâmetros fisiológicos	TRAT		EPM	Valor de P
	CT	TRAT		
FR (mrm)	27,07	28,31	0,02	0,22
TR ($^{\circ}\text{C}$)	37,92	38,11	0,07	0,07
TOC ($^{\circ}\text{C}$)	28,61	28,84	0,29	0,58

*Dados que diferiram estatisticamente ($P<0,05$).

A mensuração dos parâmetros fisiológicos permitiu entender o estado de saúde dos animais, bem como os efeitos promovidos pelo tratamento. Neste experimento, a temperatura retal dos grupos CT e TRAT se encontrava dentro da normalidade fisiológica para bovinos, ou seja, $38,5^{\circ}\text{C} \pm 1,5$ ²⁸. Assim sendo, como a temperatura retal é um excelente parâmetro indicador de adaptabilidade, entende-se que, nas condições deste experimento, os animais estavam em normotermia. A temperatura ocular é considerada um prenunciador da temperatura corporal central, por conta de sua visível proximidade com o sistema nervoso central e com o eixo hipotálamo-hipófise²⁹. Considerando isto, e reforçando a condição de normotermia entre os animais e seus tratamentos, não houve modificações devidas ao uso da fitoterapia e da cromoterapia. A frequência respiratória foi igual entre ambos os grupos, mantendo-se dentro dos parâmetros de normalidade da espécie, entre 10 a 40 mrm³⁰. Semelhante à temperatura retal, a frequência respiratória é outro parâmetro fisiológico que denota condição de normalidade fisiológica dos animais deste experimento^{31,32}.

Em condição de estresse, os animais apresentam diferentes respostas, comportamentais ou fisiológicas, para debelar o estressor, tendo em vista que este evento se caracteriza pela

somatória de mecanismos recrutados quando da exposição a um agente estressor, afetando a homeostase do organismo³³.

Diversas práticas contribuem para melhorar o bem-estar das vacas-leiteiras e reduzi-lhes o estresse, tais como oferecer sombreamento e arrefecimento em condições de estresse térmico, bem como promover casqueamento periódico para favorecer a mobilidade e a expressão de comportamentos naturais da espécie, além de prevenir e diagnosticar precocemente doenças e proporcionar melhorias no alojamento de bezerros³⁴. A essas práticas está intimamente relacionado o perfil sanitário do animal, de modo que boas práticas de manejo podem reduzir os traumas de dor e medo das reações fisiológicas do estresse causadas por manejo inadequado. Além disso, deve-se fornecer dietas adequadas às diferentes fases do animal e água saudável à vontade^{35,36}.

O uso da fitoterapia está consolidado na medicina humana como recurso a princípios ativos não individualizados extraídos de plantas para tratamento de doenças³⁷. A *Azadirachta indica*, mais conhecida como Neem, tem ação repelente e inseticida contra várias espécies de artrópodes, além de largo espectro de ação e ausência de ação fitotóxica; não agride ao meio ambiente e é muito utilizada em tratamentos de inflamações, infecções virais, hipertermia, como acaricida anti-helmíntico e praguicida, graças ao seus compostos antioxidantes e flavonoides, além de impossibilitar o desenvolvimento de resistência^{15,16}.

Os compostos bioativos do Neem são encontrados em toda a planta, contudo, os presentes primeiramente nas sementes e folhas são os mais concentrados e acessíveis para uso. Segundo Terassani³⁸ (2012), apesar da baixa ação carrapaticida, o extrato de Neem aumenta a mortalidade do carrapato *R. microplus* fêmea, além de reduzir a taxa de eclosão dos ovos em 30%.

Assim como a fitoterapia, a cromoterapia é uma terapia integrativa utilizada complementarmente à terapia alopática para prevenção e tratamento de doenças¹¹, a qual atua reequilibrando as alterações de energia global a partir das cores, cada qual responsável por diferentes efeitos biológicos³⁹. A estrutura ocular dos bovinos é semelhante à humana, fator que lhes permite distinguir cores. Contudo, não possuem boa capacidade de diferenciação entre as tonalidades⁴⁰; as cores que melhor visualizam são o amarelo, laranja, vermelho, azul, cinza e verde. Entre estas, o espectro de luz verde é a cor do equilíbrio, calma e tranquilidade, responsável por criar harmonia através das frequências que afetam as vibrações corporais, e assim manter homeostasia corporal.

Desta forma, a fitoterapia atua na estimulação imunológica através da limpeza de toxinas corporais, alívio e cura de feridas por seus ácidos graxos inseticidas e repelentes. Em

conjunto com a cromoterapia, garantem melhor equilíbrio corporal, desenvolvimento imunológico e redução da contagem de parasitas.

A Tabela 2 apresenta os parâmetros hematológicos das vacas grupos CT e TRAT. Houve diferença significativa entre os grupos CT e TRAT para os seguintes parâmetros respectivamente: eritrócitos ($10^6/\text{mm}^3$) (CT: $5,37 \pm 0,03$; TRAT: $5,26 \pm 0,02$; $P < 0,02$), hematócrito (HCT %) (CT: $23,63 \pm 0,28$; TRAT: $20,79 \pm 0,16$; $P < 0,0001$), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM %) (CT: $33,8 \pm 0,2$; TRAT: $34,39 \pm 0,12$; $P < 0,01$), neutrófilos (%) (CT: $37,63 \pm 2,32$; TRAT: $43,76 \pm 1,45$; $P < 0,01$) e monócitos (%) (CT: $9,48 \pm 0,56$; TRAT: $3,68 \pm 0,56$; $P < 0,0001$). Os demais parâmetros hematológicos não diferiram entre os grupos.

O hemograma dos animais deste experimento evidencia parâmetros levemente abaixo do considerado referência para a espécie, devido à infestação de carrapatos típica do verão chuvoso, o que demonstra anemia hipocrômica normocítica. Em animais com tristeza parasitária bovina, de forma geral, o hemograma mostra uma contagem menor de eritrócitos, destruídos pela saída do parasita após a divisão, graças a uma alteração na membrana que se torna mais rígida e rompe-se ao entrar nos capilares⁴¹. Devido à predileção do hemoparasita nos eritrócitos, ocorre autoeritrofagocitose e fagocitose nos órgãos do sistema reticuloendotelial, além de hemólise em massa e queda na contagem do hematócrito⁴². Em consequência, pode ocorrer hemoglobinúria discreta à acentuada conforme curso da doença, por conta de maior passagem pelo filtro renal devido a anóxia e toxinas, ou ainda pela reabsorção e transformação em bilirrubina, caracterizando quadros de icterícia⁴².

Tabela 2: dados hematológicos das vacas dos grupos controle (CT) e tratado (TRAT), Estância Belvedere, Descalvado, São Paulo. Diferença estatística quando o valor de $P < 0,05$.

Parâmetros hematológicos	Tratamentos		EPM	Valor de P
	CT	TRAT		
Eritrócitos (milhões/ mm^3)	4,64	4,80	0,19	0,55
Hemoglobina (g/dL)	5,92	6,24	0,19	0,23
Hematócrito (%)	18,04	19,11	0,53	0,16
VCM (μ^3)	38,97	38,13	0,61	0,33
HCM (g/dL)	13,04	12,88	0,22	0,61
CHCM (%)	33,4	32,63	0,16	0,10
Proteína total plasmática (g/dL)	5,57	6,23	0,13	0,001
Leucócitos ($/\text{mm}^3$)	1533	1327	0,58	0,01

Neutrófilos (/mm ³)	850,35	688,58	2,02	0,21
Linfócitos* (/mm ³)	394,28	347,40	1,58	0,84
Monócitos* (/mm ³)	99,18	86,25	0,73	0,98
Eosinófilos (/mm ³)	147,78	167,33	1,03	0,04
Plaquetas (x10 ³ /μL)	353,90	378,50	22,7	0,51

*Dados não paramétricos.

Apesar dessa realidade em muitas propriedades leiteiras do nosso país, o tratamento contribuiu para a manutenção do status homeostático dos animais. Em relação à série vermelha, não houve diferença entre os grupos controle e tratado para contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração da hemoglobina corpuscular média ($P > 0,05$). Contudo, numericamente, observa-se discreta variação nos valores de eritrócitos e hemoglobina, em que o grupo tratado apresentou contagem mais alta, resultado da estimulação imunológica causada pelo tratamento instituído.

Por outro lado, a proteína plasmática total dos bezerros do grupo tratado encontra-se maior que o grupo controle, evidenciando maior concentração de constituintes como albumina e globulinas, as quais desempenham funções vitais em praticamente todos os processos biológicos. A albumina tem como principal função a regulação da pressão oncótica, enquanto as globulinas desempenham um papel fundamental no transporte de substâncias essenciais ao organismo⁴³. Além disso auxiliam na regulação hormonal e, principalmente, participam da defesa do organismo, como no caso das imunoglobulinas, as quais são proteínas especializadas em proteger o organismo de elementos estranhos, regulação da resposta a infecções e processos inflamatórios.

Portanto, os bezerros suplementados com *Azadirachta indica* e cromoterapia de espectro verde mantêm melhor os constituintes proteicos do plasma sanguíneo, por conta da estimulação imunológica gerada. Vale ressaltar que, na ocasião deste experimento, esperava-se proteínas plasmáticas acima de 7, porém, devido à infestação de carrapatos, a média dos valores esteve abaixo do esperado. As plaquetas para ambos os grupos se encontram dentro dos valores de referência⁴⁴. O leucograma (Tabela 2) evidenciou algumas alterações significativas, sendo que a contagem total de leucócitos para os animais do grupo tratado apresentou-se menor que a do grupo controle ($P=0,01$). Os valores absolutos de neutrófilos, linfócitos e monócitos não diferiram entre tratamentos. Entretanto, o valor absoluto de eosinófilos foi maior para os animais suplementados com fitoterapia e cromoterapia.

Os eosinófilos estão presentes principalmente no sangue periférico e têm importante função para mediação de processos inflamatórios associados à defesa contra parasitas, distúrbios cutâneos alérgicos ou, ainda, para remoção dos produtos de degradação da fibrina (PDF) na fase final do processo de hemostasia coagulação-fibrinólise, relacionada à eosinofilia das parasitoses intestinais, na qual há lesão da mucosa intestinal com focos de sangramento que desencadeiam processo de coagulação e fibrinólise⁴⁵. Apesar de a função dos eosinófilos na relação do carrapato com seus hospedeiros ainda não ser muito conhecida, sua função como mediador da degranulação de basófilos já foi elucidada em alguns estudos, e o aumento da sua contagem aparece em estudos que demonstram a resistência dos hospedeiros infestados contra larvas e ninfas do carrapato, ao contrário dos animais susceptíveis. Assim, o maior recrutamento de eosinófilos pode ser uma resposta positiva em relação a parasitas gastrointestinais, doenças alérgicas e outros micro-organismos. Portanto, o tratamento contribuiu para a maior resposta imunológica em resposta a infestação parasitária.

De forma geral, é importante ressaltar que as alterações encontradas nos constituintes celulares e bioquímicos do sangue são relacionadas a fatores diretos e indiretos para o animal avaliado, tais como à fase de criação em que se encontra, a estresse, e, principalmente, aos desafios imunológicos enfrentados, sendo a resposta imunológica eficiente aquela que proporciona o devido equilíbrio. Conseqüentemente, uma resposta leucocitária eficiente pode estar relacionada à rápida migração e recrutamento celular⁴⁶. Em estudos sobre o efeito da luz polarizada de espectros azul, verde e vermelho no sistema imunológico, com macrófagos peritoneais, foi possível observar uma estimulação na capacidade fagocítica dos macrófagos¹⁹. Em relação à resposta fagocitária, observou-se maior recrutamento celular de eosinófilos nos animais expostos à suplementação com fitoterapia e luz verde polarizada. Entretanto, como os animais não apresentaram leucocitose, acredita-se que, para estes animais, a melhor resposta leucocitária está expressa no maior recrutamento celular.

Conjugado a esses fatores, avaliou-se o grau de infestação por teleóginas via avaliação visual, porém, não se observou diferença estatística entre os grupos. Apesar da baixa ação carrapaticida apresentada, estudos indicam que o extrato de Neem aumenta a mortalidade do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* fêmea e reduz a taxa de eclosão dos ovos em até 30%³⁸. Basicamente, o mecanismo de ação do Neem interfere no desenvolvimento dos carrapatos, altera seu comportamento, a fertilidade de adultos, e aumenta a mortalidade⁴⁷.

Portanto, neste estudo, o tratamento com fitoterapia e cromoterapia não influenciou a porcentagem de infestados por carrapatos nos animais. Talvez, se o uso do fitoterápico fosse tópico, os efeitos ectoparasiticidas seriam mais pronunciados.

Por outro lado, o grupo tratado apresentou menor porcentagem de animais com OPG alto (>1000). Assim, o tratamento reforça o melhor ataque a parasitas gastrointestinais, promovendo menor ovopostura, bem como melhor recrutamento celular contra estes parasitas.

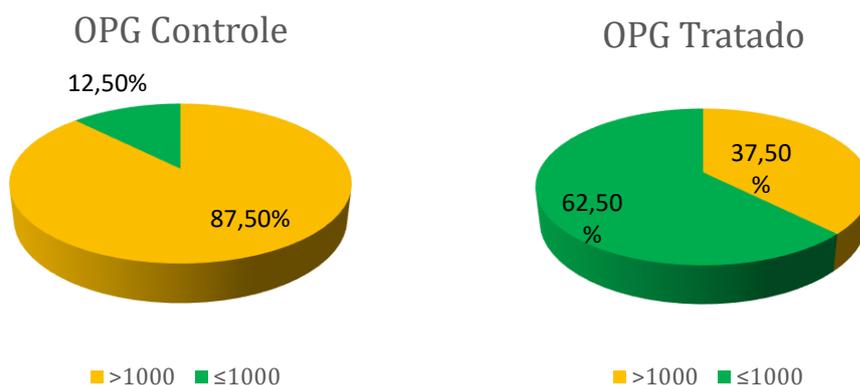
Tabela 3: parâmetros parasitários, infestação por carrapatos e OPG das vacas dos grupos controle (CT) e tratado (TRAT), Estância Belvedere, Descalvado, São Paulo. Diferença estatística quando o valor de P<0.05.

Parâmetros parasitários	Tratamentos		Valor de P
	Controle	Tratado	
	% (observados)	% (observados)	
Infestação moderada a alta	63,9 (23/36)	62,5 (40/64)	0,89
Infestação baixa	36,1 (13/36)	37,5 (24/64)	0,89
OPG score (>1000 opg)	87,5 (35/40)	37,5 (24/64)	<0,0001
OPG score (≤ 1000 opg)	12,5 (5/40)	62,5 (40/64)	<0,0001

*Dados não paramétricos.

Para o grupo controle, 87,5% dos animais observados apresentaram alta infestação parasitária (OPG > 1000), enquanto somente 12,5% tinham uma contagem correspondente à baixa infestação. Em contrapartida, os animais que receberam o tratamento do fitoterápico com Neem associado a cromoterapia de luz verde demonstraram uma contagem muito satisfatória, totalizando 62,5% com baixa infestação (OPG < 1000).

Figura 2: porcentagem de animais controle e tratados com exame de fezes maior que 1000 (infestação alta) ou menor e igual a 1000.



Ou seja, cerca de cinco vezes mais quando comparado ao grupo controle. Isto ocorre devido ao grande efeito anti-helmíntico do fitoterápico o qual, com a cromoterapia de luz verde, atua na estimulação imunológica através da limpeza de toxinas corporais, alívio e cura de por ácidos graxos¹⁵.

4 Conclusão

Bezerros mestiços leiteiros — quando suplementados na dieta com folhas de *Azadirachta indica* e cromoterapia de espectro de luz verde — apresentam melhor nível de proteína plasmática, melhor recrutamento eosinofílico e menor contagem de ovos por grama de fezes. Por outro lado, sugere-se conduzir mais estudos para aprofundar o entendimento em relação ao uso tópico do fitoterápico e seus efeitos sobre a infestação de carrapatos, o ciclo biológico do parasita e o bem-estar geral dos animais.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular (FUNADESP) pelo financiamento do projeto de pesquisa n.º 3136/2021; ao M.Sc. M.V. Glauco Dente Gurtler, por sua colaboração ao ceder a sua propriedade e seus animais para as colheitas em campo; ao Centro Universitário Anhanguera de Leme-SP.

6 Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses. Os autores são os únicos responsáveis pelo conteúdo e redação do artigo.

Referências

1. Brasil. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal, 2006.
2. Silva WW, Athayde ACR, Rodrigues OG, Araújo GMB, Santos VD, Neto AB, Coelho MCOC, Marinho ML. Efeitos do neem (*Azadirachta indica* A. juss) e do capim santo [*Cymbopogon citratus* (DC) stapf] sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) no semiárido paraibano. Rev bras plantas med. 2007;9 2 suppl 1(3):1-5.
3. Vilela D. Embrapa. A importância econômica, social e nutricional do leite; 2002 [acesso em 3 abr 2023]. Disponível em: <http://www.nupel.uem.br/importancia.pdf>.
4. Gigante ML. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: Durr JW, Carvalho MP, Santos MV, autores. O Compromisso com a Qualidade do Leite. Passo Fundo: Editora UPF; 2004.v.1.p. 235-254.
5. Biegelmeyer P, Nizoli LQ, Cardoso FF, Dionello NJL. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Arch Zootec. 2012;61:1-11.

6. Almeida MB, Tortelli FP, Riet-Correa B, Ferreira JLM, Soares MP, Farias NAR, Riet-Correa F, Schild AL. Tristeza parasitária bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. *Pesqui vet bras* 2006;26(4):237-242.
7. Guedes Junior DS, Araújo FR, Silva FJM, Rangel CP, Barbosa Neto JD, Fonseca AH. Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern region of the State of Pará, Brazil. *Rev bras parasitol vet.* 2008;17(2):105-109.
8. Gonçalves PM. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. *Ciênc Rural.* 2000;30(1):187-194.
9. Grisi L, Massard CL, Borja GEM, Pereira JB. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária.* 2002;21(125):8-10.
10. Barros SL, Madruga CR, Araújo FR, Menk CF, Almeida MAO, Melo EPS, Kessler RH. Serological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* antibodies in cattle from the semi-arid region of the state of Bahia, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assays. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2005;100(6):613-617.
11. Cazzamatta CA. O que é Fitoterapia? *Revista Plantas Curativas.* 2002;1:5-8.
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Memento fitoterápico. *Farmacopeia Brasileira.* Brasília;2016.
13. Saber M, Hejazi MJ, Hassan SA. Effects of azadirachtin on different stags adult life table parameters of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J Econ Entomol.* 2004;97(3):905-10.
14. Barnard DR, XUE RD. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). *J Econ Entomol.* 2004;41(4):726-30.
15. Carvalho SM, Ferreira DT. Santa Bárbara contra vaquinha. *Ciênc Hoje.* 1990;11(65):65-7.
16. Mossini SAG, Kimmelmeier C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. *Acta farma bon.* 2005;24(1):139-148.
17. Peron AP, Rocha CLMSC, Neves GYS, Vincentini VEP. Medicina Alternativa II. *Arq Apadec.* 2004;8(1):33-39.
18. Grupo de Reelaboração do Ensino da Física – GREF. Óptica. Física 2: física térmica, óptica. 5. ed. São Paulo: EDUSP; 2005.
19. Cardoso CC, Campos JC, Gabriel WC, Passeti TA. Ação da luz polarizada de espectros vermelho, verde e azul sobre a atividade fagocítica das células mononucleares inflamatórias peritoneais murinas. *Rev Saúde.* 2008;2(1).
20. Pérez AR, Gómez, JAA. Uso terapéutico del color como método tradicional. *Rev Cub Enf.* 2001;13(17):163-7.

21. Gerber R. Medicina Vibracional: uma Medicina para o Futuro. 14. ed. São Paulo: Cultrix; 2004. 228 p.
22. Walker M. El poder del color. El arte y la ciencia de curar utilizando los colores. Buenos Aires: Ediciones Arkano Books; 1998.
23. Goodman R. Yantrológia. Las sorprendentes propiedades curativas de la luz. Cromoterapia. Barcelona: Editorial RED; 1994.
24. Weiss JM. La curación por los colores. Barcelona: Ediciones Robin Book; 1995.
25. Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N, Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livest Prod Sci.* 2002;77(1):59–91.
26. Baêta FC, Souza CF. *Ambiência em edificações rurais — conforto animal.* Viçosa:1997.
27. Antunes MM, Pazinato PG, Pereira RA, Chneider A, Bianchi I, Corrêa MN. Efeitos do estresse calórico sobre a produção e reprodução do gado leiteiro. NUPEEC: Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, Universidade Federal de Pelotas; 2009.
28. Kolb E, Ketz A, Gurtler H. *Fisiologia Veterinária.* 4. ed. Rio de Janeiro: [s. n.]; 1987.
29. Arnold GW, Morgan PD. Behaviour of the ewe and lamb at lambing and its relationship to lamb mortality. *Appl Anim Ethol.* 1975;2(1):25–46.
30. Feitosa FLF. *Semiologia Veterinária – A arte do Diagnóstico.* 3. ed. São Paulo: Editora Roca;2018. 704 p.
31. Cheung SS, Mclellan TM. Heat acclimation, aerobic fitness, and hydration effects on tolerance during uncompensable heat stress. *J Appl Physiol.* 1998;84(5):1731-1739.
32. Silva RG. *Introdução à bioclimatologia animal.* São Paulo: Nobel; 2000.
33. Nogueira JL, Silva MVM, Fernandes RA, Ambrósio CE. O comportamento animal e a utilização de terapias alternativas. *Arq ciênc vet zool UNIPAR.* 2010;13(2):121-124.
34. Santos FPC, Pereira TF, Jayme DG. Bem-estar de bovinos. *Cad téc vet zootec.* 2015;(78):28-38.
35. Paranhos C. *Boas práticas de Manejo de Embarque.* Jaboticabal: Funep; 2008.
36. *Boas práticas agropecuárias de bovinos de corte: manual de orientações.* 2. ed. rev. ampl. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte; 2011.
37. Silva LA. *O uso de homeopatia e fitoterapia no controle de ectoparasitas no manejo sanitário de bovinos de leite.* [tese]. Pontão: Universidade Federal da Fronteira Sul; 2018. 41 p.

38. Terassani E, Dos Santos HJ, Da Silva ID, Cardoso BK, De Souza SGH, Gazim ZC. Efeito do extrato de *Azadirachta indica* em carrapatos (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*). *Arq ciênc vet zool UNIPAR*. 2012;15(2).
39. Nunes R. *Cromoterapia Técnica*. 4. ed. Brasília: Linha Gráfica e Editora; 1992. 343 p.
40. Rosa MS, Chiquitelli Neto M, Paranhos da Costa MJR. A visão dos bovinos e o manejo. 2003 [acesso em 4 abr 2023]. Disponível em:
http://www.grupoetco.org.br/arquivos_br/pdf/a_visao_dos_bovinos_e_o_manejo.pdf
41. Lemos AA. Principais enfermidades de bovinos de Corte do Mato Grosso do Sul. Reconhecimento e diagnóstico. Campo Grande: [s.n.]; 1998. p. 358-365.
42. Farias NAR. Diagnóstico e Controle da tristeza Parasitária Bovina. Guaíba: Agropecuária; 1995.
43. Brandão MOC, Ribeiro LM, Calegari SM, Resende IV, Borges KIN. Desvendando as proteínas plasmáticas. In: 6º Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar UNIFIMES; 4º Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar; 3º Feira de Empreendedorismo da Unifimes; 16-18 maio 2022; Mineiros, Minas Gerais: UNIFIMES; 2022.
44. Costa MJRP, Tonhati H, Oliveira PSPF et al. Polimorfismo da hemoglobina, hematócrito e taxa de hemoglobina em vacas Jersey. *Vet. Zootec*. 1985;1:23-30.
45. Naoum FA, Naoum PC. *Hematologia Laboratorial*. São José do Rio Preto: Edição da Academia de Ciência e Tecnologia; 2006.
46. Burton JL, Erskine RJ. Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease. *The Vet Clin North Am food anim pract*. 2003;119:1-45.
47. Martinez SS. *O Nim, Azadiractina indica: natureza, usos múltiplos, produção*. Londrina: IAPAR; 2002. 142 p.