

Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS NO
TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS POR
ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS HOLANDESAS**

RAYMIS BRUNO ROSA MOURA

Botucatu, São Paulo
Abril/2025

Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ

**AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS NO
TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS POR
ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS HOLANDESAS**

Tese de doutorado apresentado junto
ao Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia Animal para obtenção do
título de Doutor

Orientador: Prof. Dr. Celso Antonio
Rodrigues

Botucatu, São Paulo
Abril/2025

M929a Moura, Raymis Bruno Rosa

 Avaliação de dois protocolos terapêuticos no tratamento de
feridas cutâneas causadas por estefanofilariose em vacas
Holandesas / Raymis Bruno Rosa Moura. -- Botucatu, 2025
52 p. : il., tabs.

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Celso Antonio Rodrigues

 1. Estefanofilariose. 2. Parasitologia. 3. Feridas ulcerativas.
4. Úbere. 5. Vacas leiteiras. I. Título.

Nome do autor: Raymis Bruno Rosa Moura

Título: AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS NO
TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS POR
ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS HOLANDESAS

BANCA EXAMINADORA

Prof. Titular Dr. Celso Antonio Rodrigues
Presidente e orientador
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, UNESP, Botucatu/SP.

Prof. Assoc. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa
Membro titular
Departamento de Clínica Veterinária
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Adj. Dr. José Ricardo Barboza Silva
Membro titular
Departamento de Medicina Veterinária.
Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Prof. Colaborador Dr. José Gabriel Gonçalves Lins
Membro suplente
Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, UNESP, Botucatu/SP.

Prof. Ass. Dr. Geison Morel Nogueira
Membro suplente
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua infinita misericórdia e graça, por ter me dado força e sabedoria. Obrigado por permitir eu chegar até aqui e concluir esse sonho.

Aos meus pais, pelo amor incondicional, dedicação e esforços. Por serem meus exemplos de força e coragem. Por sempre estarem ao meu lado e mostrar que, qualquer que seja a adversidade, venceremos juntos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues, pela oportunidade que me foi dado. Obrigado por toda a orientação, conselhos e confiança.

A empresa Salmix, por todo auxílio financeiro do produto e moradia durante a realização do projeto. Ao médico veterinário Piero Henrique Teodoro, por todo suporte, companheirismo e confiança para a realização do projeto.

Aos administradores e funcionários da Fazenda Colorado, por terem disponibilizado a propriedade e os animais para este projeto.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa Ana Paula Abreu Mendonça e Heitor Cestari por toda ajuda, colaboração e companheirismo.

Aos meus colegas de Pós-Graduação por toda troca de aprendizados, experiências, conhecimento e amizade.

Agradeço a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, ao Programa de Pós-graduação Biotecnologia Animal pela oportunidade de realizar o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela concessão da bolsa de doutorado.

“O conhecimento é a base sólida sobre a qual construimos nossos sonhos.”

Walt Disney

RESUMO

MOURA, R.B.R. **AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS POR ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS HOLANDESAS**. Botucatu – SP. 2024. 52p. Defesa (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do tratamento tópico de HoofCare® em feridas cutâneas no úbere de vacas da raça Holandesa em lactação e comparar com o tratamento tópico com triclorfon com e sem a aplicação de 7,5 mg/kg de levamisol por via subcutânea. Este foi realizado em uma propriedade leiteira com mais de 2000 animais em lactação em sistema free-stall, possuía histórico de lesões ulcerativas no úbere. Inicialmente 36 animais com lesões foram submetidos ao exame direto, baseado na análise do sedimento de tecido colhido por biópsia do centro da ferida para confirmação do diagnóstico a partir. Após a confirmação do diagnóstico realizou-se inspeção durante a ordenha a fim de identificar demais animais com lesões. Identificados 112 animais os mesmos foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo HC (n=59) com aplicação tópica de HoofCare®; e grupo CON (n=53) com aplicação tópica da pasta formulada, ambos as aplicações foram realizadas a cada 48 horas até a completa cicatrização ou completar 60 dias. Junto aos protocolos de tratamentos tópico foram administradas duas aplicações de 7,5 mg/kg de levamisol por via subcutânea. Com o objetivo de avaliar a cicatrização das lesões foram efetuadas planimetria, termografia infravermelha e índice de regressão das lesões. Posterior a mensuração da área as lesões as mesmas foram separadas e categorizadas em três subgrupos: pequenas, médias e grandes. As avaliações foram realizadas em D0 (momento inicial), D30 (30º dia) e D60 (60º dia). A eficácia do tratamento foi definida com cicatrização da lesão e eliminação do parasita. Ao final 60º dia do tratamento, 30 animais foram submetidos ao exame direto do sedimento. Os dados foram analisados empregando-se o teste de Modelos Lineares Mistos. A análise termográfica não revelou diferença estatística significativa para a temperatura entre os grupos para nenhum momento. Na comparação da área entre os momentos de avaliação em pares, não se observou diferença entre os grupos nas feridas pequenas. Enquanto as lesões médias e grandes houve diferença significativa para variável área entre os momentos D30 e D60 no grupo CON. Para o grupo HC houve diferença significativa para área nas lesões grandes entre os momentos D0-D60. Ao avaliar a porcentagem do índice de redução, nos momentos D0, D30 e D60, observou-se diferença para o HC apenas para feridas pequenas, enquanto o CON, não se observou-se diferença significativa entre os momentos. Ao final dos 60 dias, 21 animais foram positivos pelo exame direto. Concluímos que as aplicações tópicas de ambos os tratamentos junto com a aplicação de levamisol apresenta eficácia sugestiva para o tratamento de lesões ulcerativas condizentes com estefanofilariose com a necessidade de prorrogar o tratamento e continuar a administração de levamisol até a completa cicatrização.

Palavra-chave: úlcera do úbere, *Stephanofilaria* sp., vacas leiteiras.

ABSTRACT

MOURA, R.B.R. **EVALUATION OF TWO THERAPEUTIC PROTOCOLS IN THE TREATMENT OF SKIN WOUNDS CAUSED BY STEPHANOFILARIASIS IN HOLSTEIN COWS.** Botucatu – SP. 2025. 52p. Defesa (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

The objective of this study was to determine the efficacy of topical treatment with HoofCare® on skin wounds on the udder of lactating Holstein cows and compare it with conventional topical treatment with and without the application of 7.5 mg/kg of levamisole subcutaneously. A dairy farm with more than 2,000 lactating animals in a free-stall system had a history of ulcerative lesions on the udder. Initially, 36 animals with lesions were subjected to direct examination of the sediment to confirm the diagnosis from tissue collected by biopsy from the center of the wound. After confirmation of the diagnosis, an inspection was performed during milking in order to identify other animals with lesions. A total of 112 animals were identified and randomly divided into two groups: group HC (n=59) with topical application of HoofCare®; and group CON (n=53) with topical application of the formulated paste. Both applications were performed every 48 hours until complete healing or 60 days. Along with the topical treatment protocols, two applications of 7.5 mg/kg of levamisole were administered subcutaneously. In order to evaluate the healing of the lesions, morphometry, infrared thermography and regression index of the lesions were performed. After measuring the area of the lesions, they were separated and categorized into three subgroups: small, medium and large. The evaluations were performed on D0 (initial moment), D30 (30th day) and D60 (60th day). The efficacy of the treatment was defined as the healing of the lesion and elimination of the parasite. At the end of the 60th day of treatment, 30 animals were subjected to direct examination of the sediment. The data were analyzed using the Mixed Linear Models test. The thermographic analysis did not reveal a statistically significant difference for the temperature between the groups at any moment. When comparing the area between the evaluation moments in pairs, no difference was observed between the groups in the small wounds. While there was a significant difference for the area variable between D30 and D60 in the CON group for medium and large lesions, there was a significant difference for the area of large lesions between D0 and D60 in the HC group. When evaluating the percentage of the reduction index at D0, D30 and D60, a difference was observed for HC only for small wounds, while no significant difference was observed between the moments in the CON group. At the end of 60 days, 21 animals tested positive by direct examination. We conclude that topical applications of both treatments together with the application of levamisole are suggestively effective for the treatment of ulcerative lesions consistent with stephanofilariasis, with the need to extend the treatment and continue the administration of levamisole until complete healing.

Keywords: filarial dermatitis or ulcerative dermatitis, *Stephanofilaria* sp., dairy cattle.

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Feridas características de estefanofilariose com formato circular, ulceradas com crostas e exsudato serossanguinolento, localizadas próximas à linha média ventral em posição cranial do úbere de vacas leiteiras 8

Figura 2. Exame histopatológico de tecido biopsado de lesão causada por *Stephanofilaria* spp, demonstrando a proliferação vascular com presença de células inflamatórias perivasculares na derme, com predominância de mononucleares 9

Figura 3. Observação de *Stephanofilaria* sp. no exame direto do sedimento.....10

Artigo científico 1

Figura 1. Representação esquemática do delineamento experimental demonstrando as avaliações, os momentos e os dias de tratamento das lesões 28

Figura 2. Estefanofilárias observadas pelo exame direto do sedimento da solução fisiológica na qual o tecido biopsado permaneceu embebido 29

Figura 3. Exame histopatológico oriundo de tecido coletado de lesão causada por *Stephanofilaria* spp. demonstrando reação inflamatória moderada na derme (HE 10x) 29

Figura 4. Comparação da planimetria da área da lesão condizente de estefanofilariose em vacas lactantes submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) Ferida ulcerativa, bordas regulares e crostas aderidas, em D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) Ferida ulcerativa, com bordas regulares, em D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento 30

Figura 5. Evolução do índice de regressão da área das lesões verificados em 3 momentos (D0, D30 e D60) durante os 60 dias de tratamento, posteriormente a realização da planimetria pelo programa software ImageJ 31

Figura 6. Comparação da termografia da área da lesão condizente de estefanofilariose em vacas lactantes submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento 32

Artigo científico 2

Figura 1. Representação esquemática do delineamento experimental demonstrando as avaliações, os momentos e os dias de tratamento das lesões 41

Figura 2. Comparação da termografia da área da lesão condizente de estefanofilariose em vacas lactantes submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento..... 44

Figura 3. Observação da evolução das lesões dos três subgrupos ao longo dos 60 dias de tratamentos de ambos dos protocolos propostos, e os momentos de avaliação com registro fotográfica das lesões e posteriormente mensuração da área (cm²) 45

Figura 4. Comparação da planimetria da área da lesão condizente de estefanofilariose em vacas lactantes submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) Ferida ulcerativa, bordas regulares e crostas aderidas, em D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) Ferida ulcerativa, com bordas regulares, em D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento..... 46

LISTA DE TABELAS

Artigo científico 1

Tabela 1. Comparação entre as medianas [Q1 – Q3] da termografia em graus celsius dos animais tratados com os dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere 30

Tabela 2. Comparação entre as medianas [Q1 – Q3] da área da lesão em cm² dos dois protocolos terapêuticos proposto em vacas com lesões de estefanofilariose no úbere 31

Tabela 3. Comparação entre as medianas da porcentagem do índice de redução da área da lesão em dos dois protocolos terapêuticos proposto em vacas com lesões de estefanofilariose no úbere..... 31

Artigo científico 2

Tabela 1. Distribuição das fêmeas bovinas com lesões ulcerativas condizentes de estefanofilariose pertencentes ao mesmo rebanho de acordo com a idade 42

Tabela 2. Comparação da diferença entre as médias e intervalo de confiança (IC) da planimetria (área cm²), termografia (C°) e índice de regressão (%) das lesões pequenas (até 10cm²) dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere..... 43

Tabela 3. Comparação da diferença entre as médias e intervalo de confiança (IC) da planimetria (área cm²), termografia (C°) e índice de regressão (%) das lesões médias (entre 11cm² até 24cm²) dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere 43

Tabela 4. Comparação da diferença entre as médias e intervalo de confiança (IC) da planimetria (área cm²), termografia (C°) e índice de regressão (%) apenas das lesões grandes (> de 25 cm²), dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere 44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm: Centímetros

et. al: Colaboradores

HC: grupo HoofCare®

CON: grupo controle

kg: Quilograma

mg/kg: Miligrama por quilograma

µg/kg: micrograma por quilograma

mg: Miligrama

NaCl: cloreto de sódio

%: Porcentagem

TIV: termografia infravermelha.

PCR: reação de cadeia em polimerase

qPCR: reação de cadeia em polimerase em tempo real

LISTA DE SÍMBOLOS

°C: graus Celsius

°F: graus Fahrenheit

Sumário

CAPÍTULO 1	2
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Agente etiológico e ciclo biológico.....	5
2.2 Epidemiologia e sazonalidade.....	6
2.3 Sinais clínicos.....	7
2.4 Diagnóstico.....	8
2.4.1 Histopatológico.....	8
2.4.2 Exame direto	9
2.4.3 Técnicas moleculares	10
2.5 Tratamento e prevenção.....	11
2.6 Termografia infravermelha.....	12
3. Composição do Hoofcare®.....	14
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	15
5. HIPÓTESES E OBJETIVOS.....	16
5.1 Hipótese(s)	16
5.2 Objetivo(s) geral(s)	16
5.3 Objetivos específicos.....	16
6. REFERENCIAS	17
CAPÍTULO 2	24
ARTIGO CIENTÍFICO I	25
ARTIGO CIENTIFICO II	38

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A estefanofilariose é uma enfermidade parasitária que pode causar lesões cutâneas a partir de um nematódeo do gênero *Stephanofilaria*. A doença acomete várias espécies, especialmente os bovinos, sendo mais prevalente no verão, período de maior proliferação dos vetores *Musca conducens* e *Haematobia irritans* (JOHNSON et al., 1981).

São descritas 11 espécies de *Stephanofilaria* ao redor do mundo, com apenas cinco associadas a lesões na pele em bovinos: *S. dedoesi*, *S. stilesi*, *S. kaeli*, *S. assamensis* e *S. okinawaensis* (MIYAKAMA; REIS; LISBÔA, 2010). Contudo, é provável que espécies tenham sido nomeadas mais de uma vez de acordo com a localização geográfica em que tenha sido registrada, visto as semelhanças morfológicas (BAIN et al., 1996). As lesões em bovinos foram descritas em diferentes regiões, tais como: cabeça, escápula, teto, jarrete (OBA et al., 1977), próximas à cauda, garupa, coxa (NOVAES et al., 1988), quartela (NOVAES; OLIVEIRA; MOREIRA, 1990) e úbere (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2007).

Os principais sinais clínicos caracterizam-se inicialmente por uma dermatite com erupção papular progredindo para nódulos, alopecia e úlcera crostosa (WHITE; EVANS, 2002; MIYAKAWA, REIS, LISBÔA, 2009). As feridas são pruriginosas com formato circular, bordas bem definidas, placas crostosas e exsudato serossanguinolento (MYAKAWA et al., 2010; SILVA et al., 2010).

O diagnóstico sugestivo baseia-se no histórico, nas características das lesões e resposta ao tratamento. A confirmação do diagnóstico se faz por técnicas que revelem as formas adultas e/ou larvares do parasita. Assim, emprega-se o exame histopatológico de tecidos biopsiados das bordas das lesões (ODUYE, 1971). O raspado da ferida ou esfregaço também pode ser usado para confecção de lâminas e posterior coloração com Giemsa ou vermelho Congo para a visualização do nematódeo (NOVAES, 2005; MAULDIN e KENNEDY, 2016).

O parasita adulto geralmente é observado em formações císticas na epiderme e na derme, próximo ao folículo piloso e glândulas sebáceas. Apesar

da histopatologia ser o mais indicado para a confirmação do diagnóstico, estudos realizados por Miyakawa e colaboradores (2009) não observaram a presença de *Stephanofilaria sp.* no exame histopatológico em mais de 24 vacas acometidas. Estes autores lançam dúvidas sobre a efetividade do exame histopatológico no diagnóstico da estefanofilariose, pois dificilmente se mostra capaz de revelar a presença do parasita.

Alternativamente, Ueno e Chibana (1977), descreveram o exame direto por microscopia. Este se baseia na migração dos parasitas contidos no interior de tecido biopsiado para a solução salina fisiológica (NaCl 0,9%) que deve embebê-lo e, após centrifugação permitiria a visualização microscópica do nematódeo na sua forma larval e adulta. Este método de diagnóstico demonstrou elevada eficácia, quando comparado ao histológico no estudo desenvolvido por Miyakawa (2009) e colaboradores.

Dentre os protocolos terapêuticos utilizados se destaca a aplicação tópica de organofosforados, como o coumafós 2% e triclorfon 6% (TAYLOR et al., 2004). A aplicação tópica de triclorfon 6%, foi descrita como capaz de eliminar o parasita na sua forma adulta e larval, bem como a aplicação tópica de ivermectina em pasta (1% e 2%) (NOVAES, 2006; MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2012). A aplicação tópica de óxido de zinco, com propriedade antisséptica e adstringente, foi descrita como coadjuvante do processo cicatricial em feridas de estefanofilariose (RAI et al., 1994; SILVA et al., 2010)

Frequentemente, recorre-se aos tratamentos parenterais com o objetivo de eliminar o parasita. Desta forma, pode-se fazer uso do levamisol (9 a 12mg/ kg PV) em dose única, associado ao uso tópico de óxido de zinco (RAI et al., 1994). A ivermectina por via parenteral (200µg/kg) em dose única, também foi testada, reduzindo o número de microfilárias nas feridas de orelha de búfalos (GILL et al., 1991).

Estas observações confirmam a necessidade de se estabelecer o diagnóstico assertivo e definitivo da estefanofilariose, bem como instituir um tratamento adequado para as vacas leiteiras.

Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia da aplicação tópica de dois protocolos em lesões ulcerativas causadas por estefanofilariose.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO BIOLÓGICO

Os “filarídeos” são nematódeos, pertencente ao Reino Animalia, filo Nematoda; classe Secernentea, superfamília Filarioidea, família Filariidae, gêneros: *Stephanofilaria*, *Parafilaria* e *Suifilaria* (TAYLOR; COOP; WALL, 2017).

O gênero *Stephanofilaria* possui abertura da boca elevada com uma cavidade anelar apresentando pequenos espinhos ao redor, um pouco atrás destes, outro círculo de 4 a 6 espinhos subdorsais em suas bordas. Existem aproximadamente 8 papilas no círculo externo. O esôfago é curto e não é segmentado (PASCOETI et al., 2016).

Os machos medem de 2,6 a 3,7 mm e as fêmeas medem de 3,7 a 6,9 mm. As microfilárias (forma L3) têm de 45 a 60 µm de comprimento e possuem como característica uma elevação peribucal com único espinho, cauda curta e arredondada. As larvas apresentam comprimento de 58-72 x 42-55 µm de comprimento (TAYLOR; COOP; WALL, 2017).

As diferenças morfológicas entre as espécies estão relacionadas ao número de espinhos labiais (interno e externo), papilas cefálicas, tamanho das microfilárias, características da vulva, cauda e corpo (BOOMKER et al., 1995). São descritos ao todo 11 espécies distribuídas em diferentes países. Porém, a literatura explica que embora haja variedade de descrição, o parasita apresenta diversas semelhanças morfológicas. Provavelmente, uma mesma espécie tenha recebido nomes distintos em cada país em que foi descrita (BAIN; VAN DER LUGT; KAZADI, 1996; SCOTT, 2018).

As espécies relacionadas ao aparecimento de lesões cutâneas em bovinos são *S. dedoesi*; *S. stilesi*; *S. kaeli*, *S. assamensis* e *S. okinawaensis*. Sendo que a espécie *S. stilesi* é encontrada nas Américas e se caracteriza com 3 a 6 mm de comprimento, localizados na derme do animal, abaixo da camada epidérmica (SUTHERST et al., 2006).

As larvas (microfilária) são envolvidas por uma membrana espessa, semi-rígida e com fluido, com formato oval, que oferece proteção, mas também impede a movimentação da larva. Entretanto, não está estabelecido se elas são ingeridas pelos vetores com a membrana intacta e saem após sua digestão, ou durante sua ingestão pelas moscas (HIBLER, 1966).

O ciclo ocorre quando os vetores (*Musca condunces* ou *Haematobia irritans*) são atraídos pelas lesões, pousam sobre o animal e ao se alimentarem ingerem as microfilárias. Estas permanecem por um período de 2 a 3 semanas no organismo do hospedeiro intermediário, até atingirem o estágio infectante (L3). Os hospedeiros intermediários podem transportar em seu interior, de duas a quatro larvas. As larvas L3 migram para o probóscide do inseto após 2 a 5 dias, facilitando a transmissão para o hospedeiro definitivo (PATNAIK, 1973; GUSMÁN ROMERO e MORALES, 1978; RIVIERA e AYCARDI, 1985). O período pré-patente na pele do bovino pode variar de 3 a 8 semanas (HIBLER, 1966).

Ao pousar sobre os hospedeiros definitivo para se alimentar das feridas, as moscas inoculam a L3. No hospedeiro definitivo o parasita completa o estágio L4 e L5, definindo suas características morfológicas na fase adulta. O parasita adulto mede 1.900 µm em L5 (1.750 a 2.150) de comprimento e 48 µm (44 a 51) de largura (MERCKY, 2002).

O tempo necessário para as larvas atingirem a maturidade na pele do hospedeiro definitivo é incerto. O parasita adulto geralmente é observado na epiderme e na derme, próximo ao folículo piloso e às glândulas sebáceas em formações císticas, sendo que as fêmeas são vivíparas e as microfilárias se apresentam profundamente na derme ou mais superficialmente, no exsudato das lesões cutâneas, facilitando a ingestão pelas moscas, reiniciando o ciclo (TAYLOR et al., 2017)

2.2 EPIDEMIOLOGIA E SAZONALIDADE

A estefanofilariose é distribuída mundialmente, tendo casos registrados em países como EUA, Japão, Austrália, Índia e Rússia, acometendo com mais frequência animais que vivem em áreas tropicais e subtropicais (Pande, 1936; Ueno e Chibana 1977). Conhecida popularmente como “Úlcera da lactação”, “Chagas de verão”, “Casado”, “Hump-sore”, “Flywarts”, “Kriansore”, entre outros (TAYLOR et al., 2015).

No Brasil, casos já foram descritos nos estados de São Paulo, Goiás, Rio Grande do Sul e Paraná (OBA et al., 1977; MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009; SILVA et al., 2010; MATOS et al., 2022). No estado de Goiás, estudos anteriores

registraram prevalência da doença em mais de 50% do rebanho leiteiro. Enquanto Miyakawa e colaboradores (2009) averiguaram a ocorrência da doença em sete rebanhos em cidades dos estados de São Paulo e Paraná. Nestes estudos a ocorrência da doença ocorreu entre os meses de dezembro a março, considerados os meses de maiores índices pluviométricos.

A sazonalidade está relacionada à proliferação dos vetores do parasita, a *Musca conducens* e a *Haematobia irritans*, apontados como hospedeiros intermediários e transmissores da *Stephanofilaria* spp. para os bovinos (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009; FONTEQUE et al., 2017).

2.3 SINAIS CLÍNICOS

Caracterizam-se inicialmente por uma dermatite com erupção papular progredindo para formação de nódulos, alopecia e posteriormente para úlcera crostosa. Prurido e exsudato serossanguinolento estão presentes na maioria dos casos (URQUHART et al., 1996; WHITE e EVANS, 2002; NOVAES et al., 2006).

Via de regra, as lesões apresentam um aspecto circular com 1 cm² de diâmetro na fase inicial, podendo ultrapassar 40 cm² (NOVAES et al., 2006; MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009). Quanto à localização, diversas regiões foram descritas, tais como a cabeça, região escapular, teto, jarrete, pele da bolsa escrotal, sulcos interdigitais, pescoço, peito, parte posterior da cauda, próximo à cauda, garupa, coxa e quartela (OBA et al., 1977; SILVA et al., 2010; BJVM et al., 2016; NOVAES et al., 1988; NOVAES; OLIVEIRA; MOREIRA, 1990). No entanto, há maior prevalência no úbere de vacas leiteiras, especialmente nas lactantes, com 96,7% das lesões ocorrendo na pele dos quartos anteriores e 55% na linha medial do úbere (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009). A Figura 1 demonstra um exemplo de lesões ulcerativas na região do úbere.

Quando não tratadas, as lesões podem persistir por um período de dois a três anos, com possíveis recidivas. A cura espontânea pode ocorrer, caracterizando-se pelo aspecto seco e crostoso da lesão que regride até a completa cicatrização. Contudo, é comum que permaneça por um período uma cicatriz elevada, sem pelos, no local da lesão (NOVAES et al., 2006; MITRA e MITRA, 2013).



Figura 1 – Feridas características de estefanofilariose com formato circular, ulceradas com crostas e exsudato serossanguinolento, localizadas próximas à linha média ventral, em posição cranialmente ao úbere de duas vacas leiteiras.

2.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico presuntivo baseia-se na inspeção, aspecto macroscópico e localização das lesões, sendo confirmado por técnicas que detectam as formas adultas e/ou larvares do parasita (SMITH, 2006; MIYAKAWA et al., 2010).

2.4.1 HISTOPATOLÓGICO

A confirmação do diagnóstico depende da observação das formas adultas e/ou larvares do parasita pelo exame histopatológico a partir da biópsia de tecido das lesões ou raspado da ferida ou o esfregaço é utilizado para confecção de lâminas, posteriormente coradas com Giemsa ou Vermelho Congo para a visualização do nematódeo (ODUYE, 1971; NOVAES, 2005; MAULDIN; KENNEDY, 2016).

Os achados histopatológicos oriundo de tecidos de lesões causadas pela doença são: dermatite perivascular, superficial e profunda, associada à eosinofilia e infiltrado mononuclear, predominantemente linfocitário (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009; MATOS et al., 2022). Embora a histopatologia seja indicada para a confirmação do diagnóstico, essa técnica pode não ser precisa. Fato comprovado em um estudo que não detectou a

Stephanofilaria spp na histopatologia de mais de 20 lesões ulcerativas na região do úbere de vacas leiteiras (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009), contrapondo a literatura que classifica esse exame como método eficiente para confirmação do diagnóstico (WHITE e EVANS 2002; SCOTT, 2007).

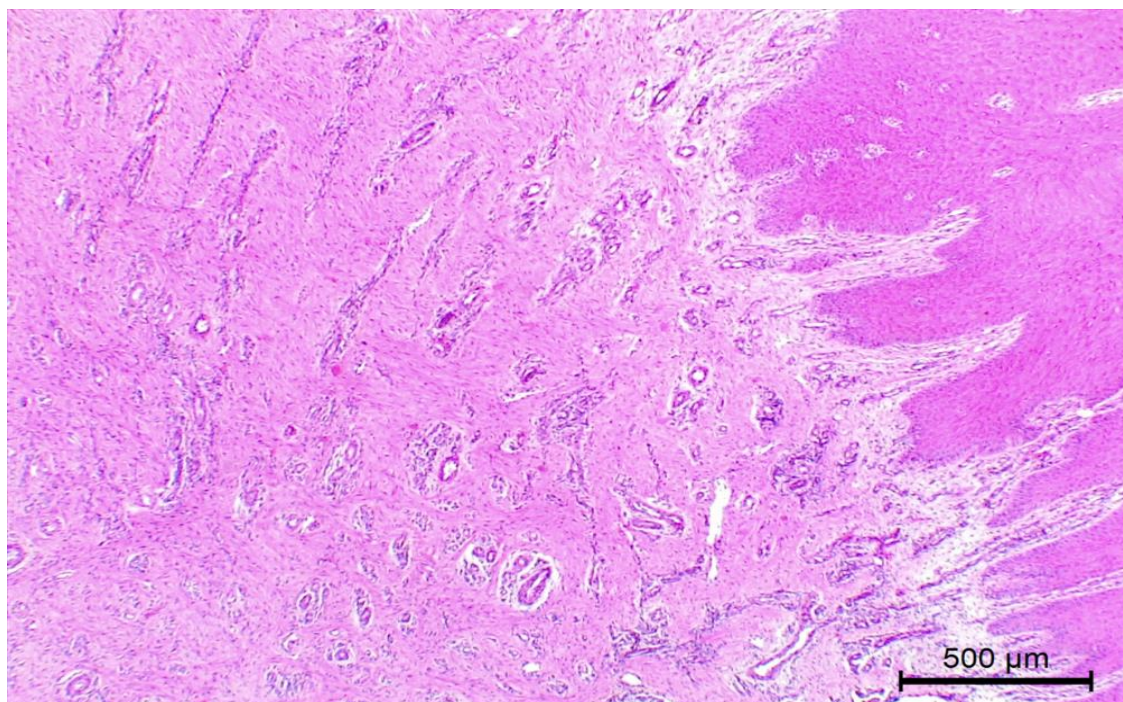


Figura 2 – Exame histopatológico de tecido coletado por biópsia de lesão causada por *Stephanofilaria* spp., demonstrando a proliferação vascular com presença de células inflamatórias perivasculares na derme, com predominância de mononucleares.

2.4.2 EXAME DIRETO

O método do exame direto por microscopia óptica descrito por Ueno e Chibana (1977) baseia-se na migração dos parasitas presentes no interior do tecido removido cirurgicamente para a solução salina fisiológica (NaCl 0,9%), esse processo é chamado de digestão do tecido. O tecido permanece submerso em NaCl 0,9% em temperatura ambiente, sendo o ideal entre 27°C e 37°C, por no mínimo três horas. Após esse período, realiza-se a centrifugação, e o exame do sedimento permite a visualização do nematódeo nas lâminas tanto em sua forma larval quanto adulta. Ao contrário do exame histopatológico, o parasita foi detectado em 100% das lesões analisadas (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009),

caracterizando o exame direto como método eficaz e de fácil realização para confirmar o diagnóstico.

Ademais, este exame possibilita a visualização de aspectos morfológicos característicos, tais como: formato da boca e seus espinhos, formato do corpo e da cauda, o espículo e presença de microfilárias no interior da fêmea, além da variação no comprimento que pode oscilar entre 1,5 a 5,0 mm. (MIYAKAWA; REIS; LISBÔA, 2009).



Figura 3 – Observação da *Stephanofilaria* spp. na lâmina obtido da realização do exame direto do sedimento.

2.4.3 TÉCNICAS MOLECULARES

As técnicas moleculares apresentam sensibilidade em quase 90% para detecção de uma pequena quantidade de DNA de nematódeos, sendo eficaz para a detecção de *Stephanofilaria* spp. A reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento do nematódeo supracitado são métodos avaliados e padronizados para sequenciamento de *Stephanofilaria* spp. por meio dos genes

COX1 e ITS-2, análises de filogenética com base nas sequências de DNA obtidas (NASEEM et al., 2021).

As sondas SYBRGreen e TaqMan por meio da qPCR (tempo real), foram testadas em protocolos para detecção de *Stephanofilaria* sp., tanto nos vetores, quanto no hospedeiro definitivo em diferentes estágios de desenvolvimento biológico (NASEEM et al., 2021).

2.5 TRATAMENTO E PREVENÇÃO

Os tratamentos de lesões granulomatosas têm como objetivo a redução do processo inflamatório, diminuição do tamanho das lesões e eliminação do parasita e seu vetor (PARRA et al., 2021; MERLO et al., 2023).

O processo de cicatrização envolve cinco fases: hemostasia, inflamação, proliferação, remodelação e maturação. Durante estas fases vários eventos celulares e moleculares acontecem de forma simultânea para restaurar o tecido (ENOCH; LEAPER, 2008).

Dentro dos eventos no processo de cicatrização, a formação de tecido de granulação (TG) é uma fase essencial, pois preenche o espaço da ferida, fornece microfibroblastos para contração da ferida, forma uma barreira contra contaminantes externos e proporciona um berço sobre o qual o epitélio pode migrar, fornecendo ainda diversos tipos celulares que têm funções importantes durante a cicatrização (THEORET; WILMINK, 2008). Logo o objetivo é trazer ao conhecimento os fatores que favorecem o desenvolvimento do TG, utilizando-o no sentido de tornar mais seguro o tratamento de feridas com a aplicação de técnicas terapêuticas, que auxiliem a evolução satisfatória do processo de cicatrização (THEORET, 2013).

A epitelização acontece depois da formação do tecido de granulação, a qual serve como estrato para as células da camada basal da epiderme migrarem (BALBINO et al., 2005; ENOCH e LEAPER, 2008).

É importante conhecer os fatores que prejudicam a cicatrização, a fim de evitar que a ferida se torne crônica ou complexa. Desta forma, infecções secundárias, presença de corpos estranhos, tecido necrótico, déficit de tecido, continuação do agente, podem atuar negativamente no processo de reparação da ferida (MIRAGLIOTTA et al., 2008; THEORET; WILMINK, 2008).

Os organofosforados como o coumafós 2% e o triclorfon 6% são comumente utilizados no tratamento das lesões cutâneas com resultados satisfatórios. Rotineiramente, o diagnóstico terapêutico presuntivo é baseado na resposta favorável ao tratamento tópico, com redução das lesões cutâneas (TAYLOR; HUNTER; ANDREWS, 2004; MIYAKAWA; REIS; LISBOA, 2012; SCHADE et. al., 2019). O uso tópico da pasta de ivermectina (1% - 2%) em feridas provocadas por *Stephanofilaria* spp. no úbere é descrita como sendo capaz de curar as lesões (MIYAKAWA; REIS; LISBOA, 2012).

Outros protocolos descreveram a utilização tópica de óxido de zinco, apontando que a substância possui propriedade antisséptica e adstringente, sendo aplicado como coadjuvante do processo cicatricial em feridas (SILVA et al., 2010).

Além disso, a aplicação subcutânea de ivermectina (200µg/kg) em dose única foi capaz de promover a redução do número de microfilárias das feridas na orelha de búfalos (GILL et al., 1991). Outros autores descrevem que a associação da administração parenteral de uma dose única de 9 a 12mg/kg de levamisol associado ao óxido de zinco tópico, uma vez ao dia, promoveu a cicatrização de 100% das lesões (RAI et al., 1994).

É importante salientar o cuidado com as terapias sistêmicas em vacas lactantes, como o uso parenteral de anti-helmínticos. Esses medicamentos podem deixar resíduos no leite, configurando risco para segurança alimentar. Dessa forma, recomenda-se evitar o uso parenteral desses fármacos durante a lactação, ou pelo menos, usá-los com cautela, respeitando o período de carência (MIYAKAWA; REIS; LISBOA, 2009; SCHADE et. al., 2019).

O tempo para a cicatrização das lesões pode variar a depender de diversos fatores, incluindo o tamanho inicial. Lesões maiores, acima de 25 cm² geralmente precisam de mais de 30 dias para completa cicatrização (Pazinato et al. 2013).

2.6 TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA

A termografia infravermelha (TIV) é uma técnica não invasiva de mapeamento térmico corpóreo, a partir da radiação infravermelha emitida pela superfície do corpo. Baseia-se no princípio de que todos os corpos formados de matéria emitem certa carga de radiação infravermelha, proporcional a sua

temperatura. Esta radiação pode ser capturada em um termograma que expressa o gradiente térmico em um padrão de cores (EDDY et al., 2001).

A radiação térmica emitida pelo animal está relacionada ao fluxo sanguíneo e a taxa metabólica dos tecidos subcutâneos, sendo captada pela câmera termográfica (NIKKHAH et al., 2005). Muitas infecções que desencadeiam processos inflamatórios como resposta imunológica alteram o fluxo sanguíneo e, por consequência, a temperatura na região afetada (BERRY et al., 2003).

Na realização do exame, são descritos dois padrões de imagens sugestivas de lesões, que podem ser: de aparência quente, que variam de escala das cores branca ao laranja, demonstrando aumento da temperatura local, geralmente oriundos de processos inflamatórios; ou de aparência fria que variam em escala de amarelo a azul, são indicativas de redução da temperatura local, sugestivo de lesões que causam dor (BASILE et al., 2010).

Alguns cuidados devem ser realizados para a execução do exame, a superfície a ser avaliada deve estar limpa e seca, sem qualquer medicação tópica ou tricotomia do local, e a TIV deve ser realizado em ambiente controlado (ALSAOOD et al., 2014).

A TIV permite a detecção de alterações de temperatura, mesmo que sutis, auxiliando no diagnóstico precoce de processos inflamatórios antes da percepção dos primeiros sinais clínicos (POLAT et al., 2010).

Nos bovinos, estudos evidenciaram uma correlação positiva entre os valores da temperatura da superfície do úbere e a contagem de células somáticas, observando que, quando os níveis de células somáticas aumentam, os valores de temperatura máxima também (BERRY et al., 2003; POLAT et al., 2010; SATHIYABARATHI et al. 2018). O estudo realizado por Polat e colaboradores (2010) observou sensibilidade de 95,6 e especificidade de 93,6%, da utilização da TIV como diagnóstico para mastite subclínica, em comparação com 88,9 e 98,9% para contagem de células somáticas.

A TIV também colabora na detecção de lesões de pele (POIKALAINEN et al., 2012), doença respiratória bovina (SCHAEFER et al., 2011), estresse térmico em vacas lactantes (DALTRO et al., 2017), diarreia neonatal de bezerro (LOWE et al., 2016), doença respiratória em bezerros (SCHAEFER et al., 2007;

SCHAEFER et al., 2011), claudicação (ALSAAOD E BÜSCHER, 2012), laminite e dermatite digital (ALSAAOD et al., 2014).

O estudo conduzido por Mendonça (2024) menciona o uso da TIV como método para avaliar a resposta terapêutica de dermatite digital, revelando diminuição da temperatura do local da lesão.

3. COMPOSIÇÃO DO HOOFCARE®

O Hoofcare® é um produto comercial que possui em sua composição ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, citrato de cobre e cloreto de zinco. O produto é frequentemente utilizado para o tratamento da dermatite digital (MENDONÇA et al., 2024).

Os óleos essenciais são metabólitos secundários extraídos de diversas partes de plantas, com ações terapêuticas (MIRANDA et al, 2016), sendo o óleo de Melaleuca extraído por destilação das folhas da *Melaleuca alternifolia*, tendo como componente principalmente o monoterpeno terpinen-4-ol (BATTISTI; CAON; CAMPOS, 2021). Pesquisas apresentam eficácia na utilização desse óleo no tratamento de feridas por conter propriedades antibacteriana, anti-inflamatória, antiviral, antifúngica e imunoestimulante (CHIN; CORDELL, 2013; DE GROOT; SCHMIDT, 2016). Ademais, a ação parasiticida *in vitro* do óleo contra larvas L3 de *Anisakis simplex* foi evidenciada Gómez e colaboradores 2014.

O papel do zinco na cicatrização de feridas foi avaliado em estudos experimentais com animais e sabe-se que ele está envolvido nos processos de replicação e migração celular, síntese de proteínas e reparo celular (LANSDOW et al., 2007). O óxido de zinco também apresenta ação antimicrobiana e antisséptica para utilização no pré e pós-dipping em vacas leiteiras (ALVES et al. 2017).

O cobre possui propriedades químicas com ação abrasiva e antisséptica, o que permite sua utilização em feridas, visando a desinfecção e debridamento sobre o tecido de granulação em equinos (ANDRADE et al., 2020). Estudos evidenciaram que a associação do zinco com cobre é vantajosa para o processo de reparação tecidual em animais (CANGUL et al., 2006; HOLZHAUER et al., 2011).

O cobre contribui na síntese e estabilização da matriz extracelular da pele, ao regular a produção de colágeno do tipo I, II e V, estimular a proliferação de fibroblastos e a angiogênese no processo de cicatrização (POLEFKA et al., 2012). Além disso, o cobre possui ação antimicrobiana, ocasionando a morte dos microrganismos pela exposição direta com aos seus íons, danificando à camada fosfolipídica, proteínas intracelulares e ácidos nucleicos dos microrganismos (BORKOW; GABBAY, 2005; BORKOW, 2014).

Na bovinocultura de leite, o cobre é utilizado no tratamento e prevenção de afecções podais, em pedilúvios na concentração de 5 a 10% (SILVA et al., 2007; CERVIGNI JUNIOR et al., 2008). Contudo, a eficácia depende do seu pH, o qual deve permanecer entre 3,5 e 4,5. Pela contaminação constante de fezes e urina no pedilúvio, o pH pode elevar para acima de 5,0, culminando em sua ineficácia (PRASTIWI et al., 2019).

A adição de ácido cítrico ao cobre (1,5%) no pedilúvio permitiu que o pH permanecesse ácido por mais tempo, garantindo a eficácia do cobre para mais passagens de vacas. O ácido cítrico é usado na indústria alimentícia, farmacêutica e química pela sua capacidade de formar sais com íons metálicos, e por controlar o pH em soluções ácidas (PAPAGIANNI, 2011; HOSCHET, 2015).

O HoofCare® é composto pela associação destes elementos e demonstrou promissora eficácia no tratamento tópico de lesões ulcerativas de dermatite digital em bovinos sem efeitos adversos (MENDONÇA et al., 2024)

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a eficácia comprovada cientificamente do Hoofcare® no tratamento de dermatite digital em bovinos, o mesmo tem sido utilizado de forma empírica em aplicações tópicas de feridas cutâneas causadas por estefanofilariose. Desta forma objetivou-se investigar sua eficácia no tratamento de feridas cutâneas na região do úbere e adjacentes em vacas no período de lactação.

5. HIPÓTESES E OBJETIVOS

5.1 HIPÓTESE(S)

Os tratamentos tópicos com pomada contendo triclorfon ou HoofCare® não possuem inferioridade no tratamento de feridas ulcerativas localizadas no úbere de vacas lactantes da raça Holandesa, diagnosticadas com estefanofilarios.

5.2 OBJETIVO(S) GERAL(S)

Avaliar e comparar os tratamentos tópicos com HoofCare® e pomada com triclorfon em feridas cutâneas no úbere de vacas lactantes da raça Holandesa causadas por estefanofilariose, associados ou não à administração subcutânea de levamisol.

5.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer o diagnóstico de estefanofilariose a partir do exame direto, em vacas lactantes com feridas cutâneas na região do úbere de variadas dimensões.

- Avaliar e comparar os tratamentos tópicos com HoofCare® e pasta formulada (Unguento® com Triclorsil®) em feridas cutâneas no úbere causadas por estefanofilariose.

- Avaliar e comparar os tratamentos tópicos com HoofCare® e pasta formulada (Unguento® com Triclorsil®), associados a administração parenteral de 7,5 mg/kg de levamisol, no tratamento de feridas cutâneas no úbere, causadas por estefanofilariose.

6. REFERENCIAS

- ANDRADE, S.F.; SANTARÉM, V.A. **Endoparasitida e ectoparasitida**. In: ANDRADE, S.F. **Manual Terapêutica Veterinária**, ed. Roca, SP, 2ª edição, p. 469- 470, 2002.
- ALVES, A. P. P. et al. Soluções de óxido de zinco e de nitrato de prata como alternativa para antissepsia de tetos de bovinos (teste in situ). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n.10, p. 1049-1056, Brasil: fevereiro, 2017.
- ALSAAOD, M.; BÜSCHER, W. Detection of hoof lesions using digital infrared thermography in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 95, p. 735-742, 2012
- ALSAAOD, C. et al. A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. **The Veterinary Journal**. v.199, p.281–285, 2014.
- ANDRADE, C.F.O. et al. Utilização de sulfato de cobre para debridamento do tecido de granulação exuberante em ferida traumática de equino. **Ciência Animal**, v. 30, n. 3, p. 126-133, 2020
- BAIN, O.; VAN DER LUGT, J.; KAZADI, L. M. *Stephanofilaria boomkeri* n.sp., as a cause of severe skin disease in pigs in Zaire. **Parasite**, Paris, v. 4, p. 377-381, 1996.
- BATTISTI, M.A.; CAON, T.; DE CAMPOS, A.M.A. Short review on the antimicrobial micro-and nanoparticles loaded with *Melaleuca alternifolia* essential oil. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p.1-8, 2021.
- BASILE, R.C. et al. Guia prático de exames termográficos em equinos. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v.6, p.24-28, 2010.
- BERRY, R.J. et al. Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: Potential for mastitis detection. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 4, p. 687-93, 2003
- BOOMKER, J.; BAIN, O.; CHABAUD, A.; KRIEK, N.P.J. *Stephanofilaria thelazoides* n.sp. (Nematoda: Filariidae) from a hippopotamus and its affinities with the species parasitic in the African black rhinoceros. **Systematic Parasitology**, Berlin, v. 32, n. 2, p. 205-210, 1995.
- BORKOW, G.; GABBAY, J. Copper as a biocidal tool. **Current Medicinal Chemistry**, v.12, p. 2163-75, 2005.
- BORKOW, G. Using Copper to Improve the Well-Being of the Skin. **Current Chemical Biology**, v.8, p. 89-102, 2014.
- BJVM, M. JONES, R.B.; ROOGAN, W.T.; FISHER, T.V. Descriptive epidemiology of stephanofilariasis (humpsore) in cattle. **Bangladesh Journal of Veterinary Medicine**, v.14, n.2, p.167-170, 2016.

BRASIL. MAPA - Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento. Mapa do leite: Políticas públicas e privadas para o leite. [s.d.] disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-doleite#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20terceiro,de%204%20milh%C3%B5es%20de%20pessoas.>

CANGUL, I.T.; GUL, N.Y.; TOPAL, A.; YILMAZ, R. Evaluation of the effects of topical tripeptide-copper complex and zinc oxide on open-wound healing in rabbits. **European Society of Veterinary Dermatology**, v.17, p.417-423, 2006.

CERVIGNI JUNIOR, N.; BARROS, R.G.; TOLEDO-PINTO, E.A. Dermatite Interdigital. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.6, n.10, p.1-7, 2008

CHIN, K.; CORDELL, B. The effect of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on wound healing using a dressing model. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v.19, n.12, p.942-945, 2013

CHICOINE, A.L.; DURDEN, D.A.; MACNAUGHTON, G.; DOWLING, P.M. Ivermectin use and resulting milk residues on 4 Canadian dairy herds. **The Canada Veterinary Journal**, v.48, p. 836-838, 2007.

DALTRO, D.D.S. et al. Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n.5, p. 374-383, 2017.

DE GROOT, A.C.; SCHMIDT, E. Tea tree oil: contact allergy and Chemical composition. **Contact Dermatitis**, v.75, n.3, p.129-143, 2016

EDDY, A.L.; VANHOOGMOED, L.M.; SNYDER, J.R. The Role of Thermography in the Management of Equine Lameness. **Veterinary of Journal**, v.162, p.172-181, 2001.

FONTEQUE, J. H.; SCHADE, J.; SILVA CASA, M.; LOVATEL, J. C.; GRANELLA, M. C. S.; CASAGRANDE, R. A. Estefanofilariose em bovinos de corte: relato de casos. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 15, p. 19 - 20, 2017.

GILL, B. S.; BALAKRISHNAM, P.; LUMSDEN, G. G.; JONES, P. G. H. Treatment of stephanofilariosis ("earsore") with ivermectin. **Veterinary Parasitology, Amsterdam**, v. 40, n. 1/2, p. 159-163, 1991.

GÓMEZ-RINCON, C. et al. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil against L3 larvae of *Anisakis simplex*. **BioMed Research International**, 2014:549510, 2014.

GUZMÁN ROMERO, V.H.; MORALES, G. Dermatite estefanofilarial en bovinos de los Llanos Orientales: diagnóstico histopatológico. **Revista ACOVEZ**, v. 2, n. 8. p. 15-18, 1978.

HIBLER, C.P. Development of *Stephanofilaria stilesi* in the horn fly. **J. Parasitol.** 52, p. 890-898, 1966

HOBLET, K.H.; WEISS, W. Metabolic hoof horn disease: claw horn disruption. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.** v. 17, p. 111-127, 2001.

HOLZHAUER, M.; BARTELS, B. J.; VAN BARNEVELD, M.; VULDERS, C.; LAM, T. Curative effect of topical treatment of digital dermatitis with a gel containing activated copper and zinc chelate. **Veterinary Record**, v.169, p. 555 – 569, 2011.

HOSCHET, I. **Animal behaviour in relation to footbath designs and footbath management in modern dairy herds in Flanders.** 2015. 56f. Research report (Master's Dissertation) - Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Belgium, 2015.

JOHNSON, S.J.; PARKER, R.J.; NORTON, J.H; JAQUES, P.A; GRIMSHAW, A.A. Stephanofilariasis in cattle. **Australian Veterinary Journal.** v. 57, p.411-413, 1981.

JOHNSON, S.J. 1989. Studies of stephanofilariasis in Queensland. PhD thesis. James Cook University, Australia, 190 pp.

LOWE, G.L. et al. Brief communication: The use of infrared thermography and feeding behaviour for early disease detection in New Zealand dairy calves. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, p. 177–179, 2016.

MARTIN, R.J.; ROBERTSON, A.P. Mode of action of levamisole and pyrantel, anthelmintic resistance. E153 and Q57. **Parasitology**, v. 134, p. 93–104, 2007.

MAULDIN, E.A; KENNEDY, J.P. Integumentary System. **In: Jubb, Kennedy, And Palmers Pathology of domestic animals.** 6th Ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p. 686-688, 2016.

MATOS J.K.O., MALDANER S.R., GRUCHOUSKEI L., MACHADO L.P., ZULIANI F., CAVALCA A.M.B., ALVES C.E.F, ELIAS F. Stephanofilariasis in Holstein Cows – Diagnostic Approach. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.50, p. 777, 2022.

MERCKY, TH. Les Stephanofilariosis bovines, synthese bibliographique: These pour abteniz le grade Docteur Veterinarre, Universite Paul. — Sabatier de Toulouse, 2002, p.66.

MERLO, V. D. *et al.* Habronemose cutânea equina no extremo sul da Bahia. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 6, n. 2, p. 1090-1096, 2023.

MIRAGLIOTTA, V. et al. OB- cadherin cloning and expression in a model of wound repair in horses. **Equine veterinary journal**, v. 40, n. 7, p. 643-648, 2008.

MIRANDA, C.A.S.F.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; RODRIGUES, L.M.A.; FIGUEIREDO, A.C.S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, n.1, p.213-220, 2016.

MIYAKAWA, V.I.; REIS, A.C.F.; LISBÔA, J.A N. Aspectos epidemiológicos e clínicos da estefanofilariose em vacas leiteiras. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.12, p.171-172, 2007

MIYAKAWA, V.I.; REIS, A.C.F.; LISBÔA, J.A.N. Aspecto Clínicos e diagnóstico da estefanofilariose em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Brasil, v.17, n.1, p.172-174, 2008.

MIYAKAWA, V.I.; REIS, A.C.F.; LISBÔA, J.A.N. Aspectos epidemiológicos e clínicos da estefanofilariose em vacas leiteiras e comparação entre métodos de diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.11, p. 887-893, 2009.

MIYAKAWA, V.I.; REIS, A.C.F.; LISBÔA, J.A.N. Estefanofilariose em bovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina: v. 31, n. 2, p.479-486, 2010.

MIYAKAWA, V.I.; REIS, A.C.F.; LISBOA, J.A.N. Comparação entre protocolos de tratamento para a estefanofilariose em vacas leiteiras. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.33, n.1, p. 343-350, 2012.

MITRA, J.; MITRA, M. Therapeutic management of cutaneous stephanofilariasis in buffaloes. **Intas Polivet**, v.14, n. 2, p. 369-370, 2013.

NASEEM, M.N. et al. Development and Validation of Novel PCR Assays for the Diagnosis of Bovine Stephanofilariasis and Detection of *Stephanofilaria* sp. Nematodes in Vector Flies. **Pathogens**, v.10, p.1211, 2021.

NIKKHAH, A. et al. Short communication: Infrared thermography and visual examination of hooves of dairy cows in two stages of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 2749–2753, 2005.

NOVAES, A.P. et al. Dermatite ulcerosa em bovinos provocada por *Stephanofilaria*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.3, n., p.927-929, 1988.

NOVAES, A.P.; OLIVEIRA, M.C.S.; MOREIRA, D.P. *Stephanofilaria* sp: associada a casos de pododermatite em bovinos leiteiros. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.33, n.3, p.575-579, 1990.

NOVAES, A.P. Estefanofilariose e dermatite nodular ulcerativa em cão: relato de caso. **Revista de Educação Continuada do Conselho Regional de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 8, n. 2, p. 93-97, 2005.

NOVAES, A.P.; BAGNATO, V.S.; MIYASHIDA, A.Y.; FLORES, F.L.E.; KURACHI, C. Estefanofilariose: uma zoonose. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2006. 14 p. (Série Documentos, n. 21).

OBA, M.S.P.; SINHORINI, I.L.; NOVAES, A.P.; COSTA, A.J.S.; PORTO A.D. *Stephanofilaria* em bovinos do município de São Carlos, Estado de São Paulo.

In: Conferência anual da sociedade paulista de medicina veterinária, 32. Pirassununga, SP, 1977.

ODUYE, O.O. Stephanofilarial dermatitis of cattle in Nigeria. **Journal of Comparative Pathology**, Amsterdam, v. 81, p. 581-583, 1971.

PASCOETI, R. et al. Parasites in dairy cattle farms in southern Brazil. **Revista MVZ Córdoba**, v. 21, n. 2, p. 5304-5315, 2016.

PATNAIK, B. Studies on stephanofilariasis in orissa: V. treatment and control of "humpsore" in cattle due to *Stephanofilaria assamensis*. **Indian Journal Animal Science**, New Delhi, v. 40, n. 2, p. 167-174, 1970.

PAPAGIANNI, M. Organic acids. In: **The biochemical basis**. Thessaloniki: B. V. Elsevier, p. 110 – 114, 2011.

PARRA, M. A. G. et al. Habronemose cutânea equina: revisão de literatura. **NBC – Periódico Científico do Núcleo de Biociências**, v. 11, n. 22, 2021

PAZINATO, R.; KLAUCK, V.; LOPES, L.S. et al. Stephanofilariasis in dairy cattle: the need for early diagnosis and treatment. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, p.582-587, 2013.

POLAT, B. et al. Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subclinical mastitis in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3525–3532, 2010.

POIKLAINEN, V.; PRAKS, J.; VEERMAE, I.; KOKIN, E. Infrared temperature patterns of cows body as an indicator for health control at precision cattle farming. **Agronomy Research**, v.1, p.187-194, 2012.

POLEFKA, T. G.; BIANCHINI, R. J.; SHAPIRO, S. Interaction of mineral salts with the skin: a literature survey. **International Journal of Cosmetic Science**. v.34, p. 416-23, 2012.

PRASTIWI, A. et al. Effectiveness of copper sulfate solutions in footbaths in dairy cattle. **Atatürk University Journal of Veterinary Sciences**. v.14, n.3, p. 238-245, 2019.

RAI, R.B.; AHLAWAT, S.P.S.; SINGH, S.; NAGARAJAN, V. Levamisole hydrochloride: an effective treatment for stephanofilarial dermatitis (Humpsore) in cattle. **Tropical Animal Health and Production**, Berlin, v. 26, n. 3, p.175-176, 1994.

RAINWATER-LOVETT, K.; PACHECO, J. M.; PACKER, C.; RODRIGUEZ, L. L. Detection of foot-and mouth disease virus infected cattle using infrared thermography. **The Veterinary Journal**, v. 180, n. 3, p.317-324, 2009

RIVIERA, B.; AYCARDI, E. R. Epidemiological evaluation of external parasites in cattle from the Brazilian cerrados and the colombian eastern plains. **Zentralbl Veterinärmed B**, v. 32, p. 417-424, 1985

ROBERTO J.V.B.; SOUZA, B.B. Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. **Journal of Animal Behaviour and Biometeorology**, v.2, n.3, p.73-84, 2014.

SATHIYABARATHI, M. et al. Infrared thermography to monitor body and udder skin surface temperature differences in relation to subclinical and clinical mastitis condition in Karan Fries (Bos taurus × Bos indicus) crossbred cows. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.88, n.6, p.694-699, 2018.

SILVA, L.A.F. et al. Epidemiological aspects and treatment of parasitic lesions similar to *Stephanofilariasis* disease in nursing cows. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina: v. 31, n. 3, p. 689-698, 2010.

SILVA, L.A.F. et al. Dermatite digital bovina: avaliação de um protocolo terapêutico e cirúrgico para lesões nas fases inicial, erosiva e verrucosa. **ARS Veterinária**, v.23, n.1, p.023-031, 2007.

SCOTT, D.W. **Color atlas of farm animal dermatology**. New York: John Wiley & Sons, p.352. 2018.

Scott D.W. 2007. Color Atlas of Farm Animal Dermatology. Blackwell. Publ., Ames. 252p.

SCHADE, J.; CASA, M.S.; LOVATEL, J.C.; GRANELLA, M.C.S.; CRISTO, T.G.; CASAGRANDE, R.A.; FONTEQUE J.H. Stephanofilariasis in beef cattle-case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 1944-1949, 2019.

SCHAEFER, A. L.; COOK, N. J.; CHURCH, J. S.; BASARAB, J.; PERRY, B.; MILLER, C.; TONG, A. K. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. **Veterinary Science**, v. 83, n. 3, p.376-384, 2007.

SCHAEFER, A.L. et al. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 2, p.928-935, 2011.

TAYLOR, S.M.; HUNTER, A.G.; ANDREWS, A.H. 2004. Ectoparasites, tick and arthropod-borne diseases, In: Andrews A.H., B.R.N., Boyd H. & Eddy R.G. (2015) Bovine Medicine: Diseases and husbandry of cattle. Blackwell Publ, Ames, pp. 740-777.

TAYLOR, M.A., COOP, RL., WALL, R.L.2017. CAP.1 Helmintologia Veterinária. In: Parasitologia Veterinária. 4ª edi. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan. p. 64-65.

TAYLOR, M.A., COOP, RL., WALL, R.L.2017. CAP.8 Parasitas de bovinos. In: Parasitologia Veterinária. 4ª edi. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan. P 411-412.

TAYLOR, S.M.; HUNTER, A.G.; ANDREWS, A.H. 2004. Ectoparasites, tick and arthropod- borne diseases. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. N.; BOYD, H.; EDDY R. G. Bovine medicine diseases and husbandry of cattle. 2.ed. Ames: Blackwell Publishing, p. 740-777

THEORET, C. L.; WILMINK, J. M. Treatment of exuberant granulation tissue. In: Equine Wound Management. Second Edition p.445-462, 2008.

UENO, H.; CHIBANA, T. *Stephanofilaria okinawaensis* from cutaneous lesions on the teats of cows in Japan. **National of Animal Health Quarterly**, Tokyo, v. 17, n. 1, p. 16-26, 1977.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogman, 1998. p.306.

OBA, M. S. P.; SINHORINI, I. L.; NOVAES, A. P.; COSTA, A. J. S.; PORTO A. D. *Stephanofilaria* em bovinos do município de São Carlos, Estado de São Paulo. In: CONFERÊNCIA ANUAL DA SOCIEDADE PAULISTA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 32., 1977, Pirassununga. *Anais...* Pirassununga: SPMV, 1977. p.12.

WHITE, S. D.; EVANS, A. G. Parasitic skin diseases. In: SMITH, B. P. **Large animal internal medicine**. 3. ed. St. Louis: Mosby, p.1215-1222, 2002

CAPÍTULO 2

ARTIGO CIENTÍFICO I

AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS TÓPICOS NO TRATAMENTO DA ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS LEITEIRAS¹

Raymis B. R. Moura², Ana P. A. Mendonça², Piero H.M. Teodoro³, Renato Ravetti³, Júlio A.N. Lisboa⁴, Selwyn A. Headley⁴ and Celso A. Rodrigues^{2*}

R.B.R. Moura (<https://orcid.org/0000-0002-6172-0859>)

P.H.M. Teodoro (<https://orcid.org/0000-0003-3134-9128>)

A.P.A. Mendonça (<https://orcid.org/0000-0002-4238-5768>)

R. Ravetti (<https://orcid.org/0000-0003-0064-0254>)

J.A.N. Lisboa (<https://orcid.org/0000-0003-1180-703X>)

S.A. Headly (<https://orcid.org/0000-0002-1614-0185>)

C. A. Rodrigues (<https://orcid.org/0000-0002-4837-463X>)

ABSTRACT. - Moura R.B.R., Mendonça A.P.A., Teodoro P.H.M., Renato R., Lisboa J.A.N., Headley S.A & Rodrigues C.A. 2025. **Evaluation of two topical therapeutic protocols in the treatment of stephanofilariasis in Holstein cows.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 41:00, 2025. Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa s/n, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-681, Brazil E-mail: celso.a.rodrigues@unesp.br *¹ The aim of this study was to determine the efficacy of topical treatment with HoofCare® on skin wounds on the udder of lactating Holstein cows and compare it with topical treatment with trichlorfon. A dairy farm with more than 2000 lactating animals in a free-stall system, with a history of ulcerative lesions on the udder. A random sample of 36 animals with ulcerative lesions on the udder were subjected to two methods to confirm the diagnosis from tissue collected by biopsy of the edge of the lesions, histopathology and direct examination of the sediment of the isotonic saline solution, in which the tissue remained embedded. After confirmation of the diagnosis, the 36 animals were randomly divided into two groups: HC (n=15) with topical application of HoofCare®; CON (n=15) with topical application of the formulated paste, both applications were performed every 48 hours until complete healing or completing 60 days. In order to evaluate the healing of the lesions, morphometry, infrared thermography and lesion regression index were performed. The evaluations were performed on D0 (initial moment), D15 (15th day), D30 (30th day), D45 (45th day) and D60 (60th day). The data were analyzed using the Kruskal-Wallis and Wilcoxon tests (P<0.05). The efficacy of the treatment was defined as the healing of the lesion and elimination of the parasite. At the end of the 60th day of treatment, the animals were subjected to direct examination of the sediment. The histopathological examination revealed infiltration of inflammatory cells and eosinophils. The presence of the parasite was not detected in any of the sections examined. The direct examination confirmed the agent in all the samples examined, proving to be an effective method for diagnosis. The thermographic analysis did not reveal a statistically significant difference in temperature between the groups at any time point. The tests performed on the lesion area did not show any significant difference between the groups at any time point. When comparing the evaluation times in pairs, there was a difference between the D0 and D60 moments of the CON (P = 0.003). When evaluating the percentage of the reduction index at the D0, D30 and D60 moments, no difference was observed for the HC. In the evaluation of the CON, a difference was also observed between the moments (P = 0.0164) and between the groups (P = 0.0327) at D60. At the end of the 60 days, all the animals were positive by direct examination. We conclude that topical applications every 48 hours of both treatments were not effective in promoting the elimination of the agent and healing of the wound.

¹ Received on ...

² Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Corrêa s/n, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-681, Brazil. *Corresponding author: celso.a.rodrigues@unesp.br

³ Salmix Industria e Comércio Ltda, Estrada Municipal José Benedito de Oliveira, s/n - Bairro dos Leites - Piedade/SP CEP 18170-000

⁴ Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445, Km 380, Campus Universitário, Cx. Postal 10.011, CEP 86.057-970, Londrina - PR

INDEX TERMS: *Stephanofilaria* spp., dairy cows, direct examination, filarial dermatitis, HoofCare

RESUMO. - [Avaliação de dois protocolos terapêuticos tópicos no tratamento da estefanofilariose em vacas leiteiras.] O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do tratamento tópico de HoofCare® em feridas cutâneas no úbere de vacas Holandesas em lactação e comparar com o tratamento tópico triclorfon. Uma propriedade leiteira com mais de 2000 animais em lactação em sistema *free-stall*, com histórico de lesões ulcerativas no úbere. Uma amostra aleatória de 36 animais com lesões ulcerativas no úbere foi submetida a dois métodos para confirmação do diagnóstico: análise histopatológica e exame direto do sedimento da solução salina isotônica, na qual o tecido coletado por biópsia da borda das lesões permaneceu embebido. Após a confirmação do diagnóstico, os 36 animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: HC (n=15) com aplicação tópica de HoofCare®; CON (n=15) com aplicação tópica da pasta formulada, ambos as aplicações foram realizadas a cada 48 horas até a completa cicatrização ou até completar 60 dias. Com o objetivo de avaliar a cicatrização das lesões, foram efetivadas planimetria, termografia infravermelha e índice de regressão das lesões. As avaliações foram realizadas em D0 (momento inicial), D15 (15º dia), D30 (30º dia), D45 (45º dia) e D60 (60º dia). Os dados foram realizados empregando-se os testes de Kruskal-Wallis e de Wilcoxon ($P < 0,05$). A eficácia do tratamento foi definida com cicatrização da lesão e eliminação do parasita. Ao final 60º dia do tratamento, os animais foram submetidos ao exame direto do sedimento. No exame histopatológico se evidenciou infiltração de células inflamatórias e eosinófilo. A presença do parasita não foi detectada em nenhum dos cortes examinados. O exame direto constatou o agente em todas as amostras examinadas, comprovando-se como um método eficaz para o diagnóstico. A análise termográfica não revelou diferença estatística significativa para a temperatura entre os grupos para nenhum momento. Os testes realizados na área da lesão não evidenciaram diferença significativa entre os grupos em nenhum momento avaliado. Na comparação dos momentos de avaliação em pares, houve diferença entre os momentos D0 e D60 do CON ($P = 0,003$). Ao avaliar a porcentagem do índice de redução, nos momentos D0, D30 e D60, não se observou diferença para o HC. Na avaliação do CON, observou-se também diferença entre os momentos ($P = 0,0164$) e entre os grupos ($P = 0,0327$) no D60. Ao final dos 60 dias, todos os animais apresentaram resultado positivo pelo exame direto. Concluímos que as aplicações tópicas a cada 48 horas de ambos os tratamentos não foram eficazes para promover a eliminação do agente e cicatrização e da ferida.

TERMO DE INDEXAÇÃO: *Stephanofilaria* spp., vacas leiteiras, exame direto, dermatite filarial bovina, HoofCare®.

INTRODUÇÃO

A estefanofilariose é uma doença mundialmente distribuída e se caracteriza por lesões na pele causadas pelo nematódeo *Stephanofilaria* spp. É mais prevalente no verão, período de maior proliferação de moscas que atuam como vetores e hospedeiros intermediários do parasita, como *Musca conducens* e *Haematobia irritans*. Acomete várias espécies animais, sendo os bovinos de aptidão leiteira os mais acometidos (Johnson et al. 1981). Nestes, a doença se manifesta através da ocorrência de uma dermatite crônica com erupção papular que pode evoluir para queda do pelo na área afetada, formação de nódulos e formação ulcerosa com presença de crosta (Novaes et al., 2006).

No Brasil, os primeiros casos descritos foram no estado de São Paulo (Oba et al., 1977). Há relatos atuais em diversas regiões do país, como Goiás, Rio Grande do Sul e Paraná (Miyakawa et al., 2010; Silva et al., 2010). Foram observadas lesões na região da cabeça, região escapular, no teto, jarrete, na pele da bolsa escrotal, no peito (Oba et al., 1977; Silva et al., 2010), próximo à cauda, na garupa, na coxa (Novaes et al., 1988), na quartela (Novaes et al., 1990).

As lesões são encontradas nas raças de aptidão leiteira com maior frequência na porção anterior do úbere, sendo mais observadas durante a lactação. Elas podem ser únicas ou múltiplas, apresentando comumente formato circular, com diâmetro inicial de 1cm com possível evolução para mais de 25cm (Miyakawa et al., 2010).

O diagnóstico presuntivo baseia-se no histórico e na avaliação da característica da lesão. A confirmação ocorre por técnicas que revelem o parasita por meio do exame histopatológico de tecidos coletados das bordas das lesões (Oduye, 1971), e o raspado da ferida ou esfregaço para confecção de lâminas para serem corados com Giemsa ou Vermelho Congo para a visualização do nematódeo (Novaes, 2005). O estudo dirigido por Ueno e Chibana (1977) descreve o método de exame direto por microscopia que se baseia na migração dos parasitas contidos no interior do tecido removido cirurgicamente para a solução salina fisiológica (NaCl 0,9%) e, após a centrifugação do sedimento, permite a visualização do nematódeo em sua forma larval e/ou adulta.

Nos protocolos terapêuticos se destacam a utilização tópica de organofosforados, como coumafós 2% e triclorfon 6% (Taylor et al., 2004), e uso tópico de antiparasitários, como ivermectina em forma de pasta em concentração de 1% e 2% (Miyakawa et al., 2012). Além disso, a aplicação tópica de óxido de zinco pelas suas propriedades antisséptica e adstringente, pode atuar como coadjuvante do processo cicatricial em feridas de estefanofilariose (Rai et al., 1994; Silva et al., 2010). A eficácia do tratamento depende do tempo de evolução,

tamanho da lesão, e algumas dessas opções terapêuticas possuem restrição limitada de uso para vacas durante a lactação, dada a presença de resíduos no leite (Silva et al., 2010; Miyakawa et al., 2012).

O objetivo deste estudo foi avaliar o exame direto para o diagnóstico de estefanofilariose em feridas cutâneas ao redor do úbere de vacas leiteiras, bem como a eficácia de dois tratamentos tópicos para essas lesões: HoofCare® e uma pasta formulada contendo triclorfon.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos éticos. O estudo foi realizado sob as diretrizes da Comissão de Ética no uso dos animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus Botucatu, sob protocolo 0181/2022.

Descrição do local e animais. Utilizou-se um rebanho comercial estimado em 2.200 vacas da raça Holandesa preto e branco em lactação, mantidas em regime de criação intensivo *free-stall* (barracão único). A propriedade contava com um sistema de ordenha em formato carrossel, com capacidade para ordenhar 72 animais simultaneamente, sendo realizadas três ordenhas diárias. Além disso, o galpão possuía cama de areia e piso de concreto ripado, com limpeza diária realizada com auxílio de maquinário e *flushing*. O ambiente possuía iluminação especial e sistema de ventilação cruzada (*cross ventilation*), proporcionando ao rebanho uma temperatura ao redor de 21°C.

As vacas em lactação eram divididas em oito lotes de acordo com a produtividade e categoria, sendo que algumas incluídas neste estudo transitaram entre os diferentes lotes ao longo de sua lactação. Dessa forma, os animais utilizados compunham grupos padronizados, quanto ao manejo, aspectos nutricionais e ambientais, minimizando os efeitos destes sobre os parâmetros avaliados.

Delineamento experimental. Foram escolhidas aleatoriamente 36 vacas que apresentavam lesões no úbere com características condizentes com estefanofilariose. A confirmação do diagnóstico foi realizada através do exame direto por microscopia. Realizou-se a contenção em canzil sem tranquilização química, com posterior limpeza superficial das feridas com papel toalha. Após adequada antisepsia do local com álcool iodado, anestesia local infiltrativa com 2mL de lidocaína 2% sem vasoconstritor foi realizada para a colheita de amostra de tecido do centro da lesão com *punch* de 6mm de diâmetro interno.

A amostra de tecido biopsiado foi acondicionada imersa em um recipiente com solução fisiológica (NaCl 0,9%) por no mínimo três horas em temperatura ambiente com posterior remoção do fragmento e centrifugação da solução remanescente em 1.500 rpm por cinco minutos. Dessa forma, as gotas do sedimento foram colocadas entre lâmina e lamínula, e examinadas no microscópio óptico para visualização do parasita. Simultaneamente, na mesma região, também foram colhidos dois fragmentos de tecidos por biópsia com o *punch* (6 mm) da borda das lesões. Esses fragmentos de tecido foram acondicionados em frascos de 80ml contendo solução tamponada de formol 10% em proporção para subsequente exame histopatológico no laboratório de Anatomia Patológica Veterinária da Universidade Estadual de Londrina.

Aplicação dos tratamentos. Com a confirmação do diagnóstico pelo exame direto, os 36 animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos de tratamento tópico: HC (Hoofcare®) e CON (controle). O grupo HC consistiu na aplicação em forma de pincelamento do produto comercial (ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, polissacarídeo, corante azul brilhante, citrato de cobre, cloreto de zinco) sobre toda extensão da ferida; e o grupo CON de aplicação da pasta formulada com 500g de Triclorasil® (cada 100g contém 98g de triclorfon), misturado em 1kg de Unguento® (Permetrina, óxido de zinco e butóxido de piperonila). Ambos protocolos consistiram em aplicações a cada 48 horas até a completa cicatrização das lesões ou até completar 60 dias de tratamento.

Com o objetivo de avaliar o processo de cicatrização das feridas e a eficácia dos protocolos terapêuticos, realizou-se a termografia infravermelha e fotografia das lesões ao lado de uma régua para posterior análise quantitativa em cinco momentos: imediatamente antes do início dos tratamentos (D0) e a cada 15 dias, sendo a última avaliação aos 60 dias.

As avaliações com a câmera termográfica e registros fotográficos foram realizados após a ordenha e efetivadas a cada 15 dias, D0 (momento inicial dos tratamentos), D15 (15º dia após o início dos tratamentos), D30 (30º dia após o início dos tratamentos), D45 (45º dia após o início dos tratamentos) e D60 (60º dia do início das terapias). Segue a ilustração esquemática na Figura 1.

Ao término de 60 dias de tratamento, as vacas foram submetidas novamente ao exame direto para confirmar ou não a presença do parasita. Os critérios para a realização do procedimento foram os mesmos do protocolo descrito inicialmente.

Exame termográfico das lesões. A termografia foi realizada após a contenção dos animais em canzil, antes de qualquer procedimento, incluindo a limpeza das feridas, a fim de evitar alterações de temperatura durante a avaliação. As avaliações foram realizadas na posição quadrupedal com a câmera calibrada em faixa de temperatura de 26°C a 38°C. Direcionada para o úbere e a região da lesão cutânea, realizou-se a captura de

imagens com distância de 1 metro. Como as condições ambientais influenciam na temperatura detectada pela câmera termográfica, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar foram monitoradas seguindo os princípios realizado por Harris-Bridge et al. (2018).

Ao término do experimento, as imagens foram analisadas com auxílio do *software* FLIR Thermal Studio da FLIR Systems, ajustando a temperatura ambiente, a umidade relativa do ar e o grau de emissividade (0,98). Considerando as possíveis variações durante a execução do exame, optou-se pela correção matemática das temperaturas máximas com base na metodologia internacional de padronização de temperatura atmosférica (Basile et al., 2010), previamente aplicada em estudo do grupo de pesquisa (Mendonça et al. 2024).

Análise do processo cicatricial das lesões. A avaliação quantitativa do processo de cicatrização foi realizada após realização da termografia e limpeza das feridas com papel toalha. A captura fotográfica das lesões foi com a vaca em posição quadrupedal, utilizando a câmera do celular Samsung Galaxy M31 de 64 MP. Uma régua de 20 cm foi utilizada ao lado das lesões como parâmetro métrico para garantir a escala das imagens. A área das lesões mensuradas três vezes, usando o *software ImageJ*, com a média da dimensão em cm² de cada lesão usada para comparação entre os momentos dos dois protocolos terapêuticos adotados. O cálculo do índice de regressão baseou-se na área inicial ferida ulcerativa, considerando D0 como 100%.

Análise estatística. Os dados foram tabulados em Excel® e testados quando sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. A área das lesões, termografia e a porcentagem do índice de regressão foram comparadas nos diferentes momentos dentro de cada grupo e entre os dois grupos de tratamento pelos testes Kruskal-Wallis e Wilcoxon considerando valor $p < 0,05$.

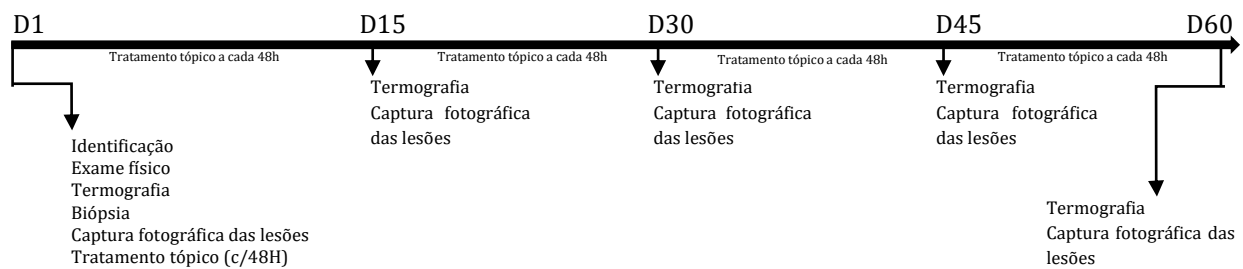


Figura 1: Representação esquemática do delineamento experimental demonstrando as avaliações, os momentos e os dias de tratamento das lesões.

RESULTADOS

O exame direto possibilitou a visualização da *Stephanofilaria* spp., em 100% das 36 amostras analisadas (Fig. 2), com a quantidade de filárias encontradas por amostra sendo elevada (3 a 4 por lâmina) e de fácil detecção. Durante a visualização da *Stephanofilaria* spp., foi observada a movimentação do parasita na lâmina. No entanto, o parasita não foi observado em nenhuma amostra analisada pela histopatologia.

Os achados do exame histopatológico foram tecidos de granulação com proliferação vasculares, presença de células inflamatórias perivasculares na derme (Fig. 3), com predominância de células mononucleares (histiócitos, plasmócitos e linfócitos) e eosinófilos.

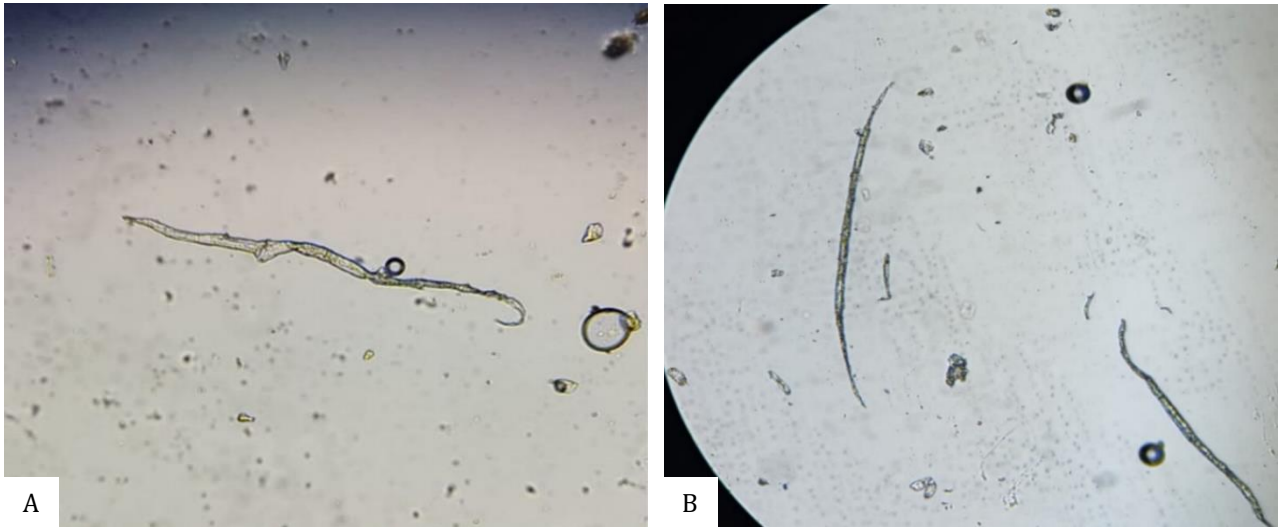


Figura 2: (A/B) *Estefanofilárias* observadas no microscópio aumentado 40x pelo exame direto do sedimento da solução fisiológica (NaCl 0,9%), na qual o tecido coletado por biópsia permaneceu embebido.

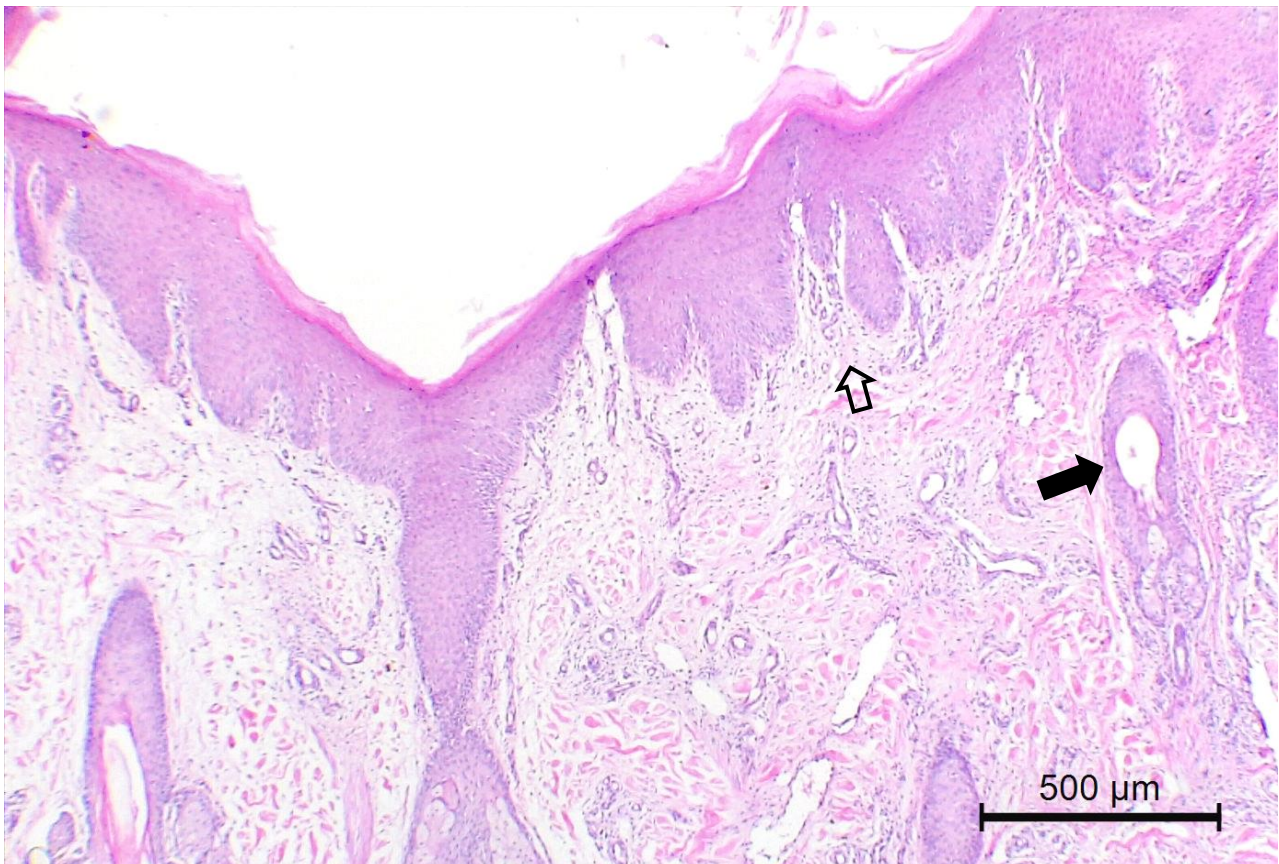


Figura 3: Exame histopatológico oriundo de tecido coletado de lesão causada por *Stephanofilaria* spp. demonstrando eosinófilos, tecido de granulação e células inflamatórias próximo a epiderme (cabeça da seta) e proliferação vascular (seta) (HE 10x).

Tabela 1: Comparação entre as medianas [Q1 - Q3] da termografia em graus celsius dos animais tratados com os dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere.

Momentos	Temperatura entre os grupos em Celsius (C°)	
	HoofCare®	Controle
D1	38,2°C [37,5° - 38,4°] Aa	37,5°C [37,4° - 38,4°] Aa
D15	38,3°C [37,7° - 38,7°] Aa	37,9°C [37,5° - 38,4°] Aa
D30	38,1°C [37,7° - 38,7°] Aa	37,7°C [38,3° - 38,5°] Aa
D45	38,31°C [37,5° - 38,6°] Aa	37,9°C [37,5° - 38,5°] Aa
D60	38,6°C [37,7° - 38,7°] Aa	37,7°C [37,4 - 38,6] Aa
P	0,2579	0,2579

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam que houve diferença estatística (P > 0,05).

Letras maiúsculas diferentes na linha indicam que houve diferença estatística (P>0,05).

Os testes Kruskal-Wallis e de Wilcoxon não evidenciaram diferença significativa das temperaturas pela análise termográfica entre os dois grupos de tratamento em nenhum momento, bem como entre os dois grupos dentro de cada momento, conforme demonstrado na tabela 1.

A figura 4 evidencia um termograma das lesões de cada grupo de tratamento em três momentos distintos com os pontos de aferição da temperatura onde as lesões se localizavam e corrigidos.

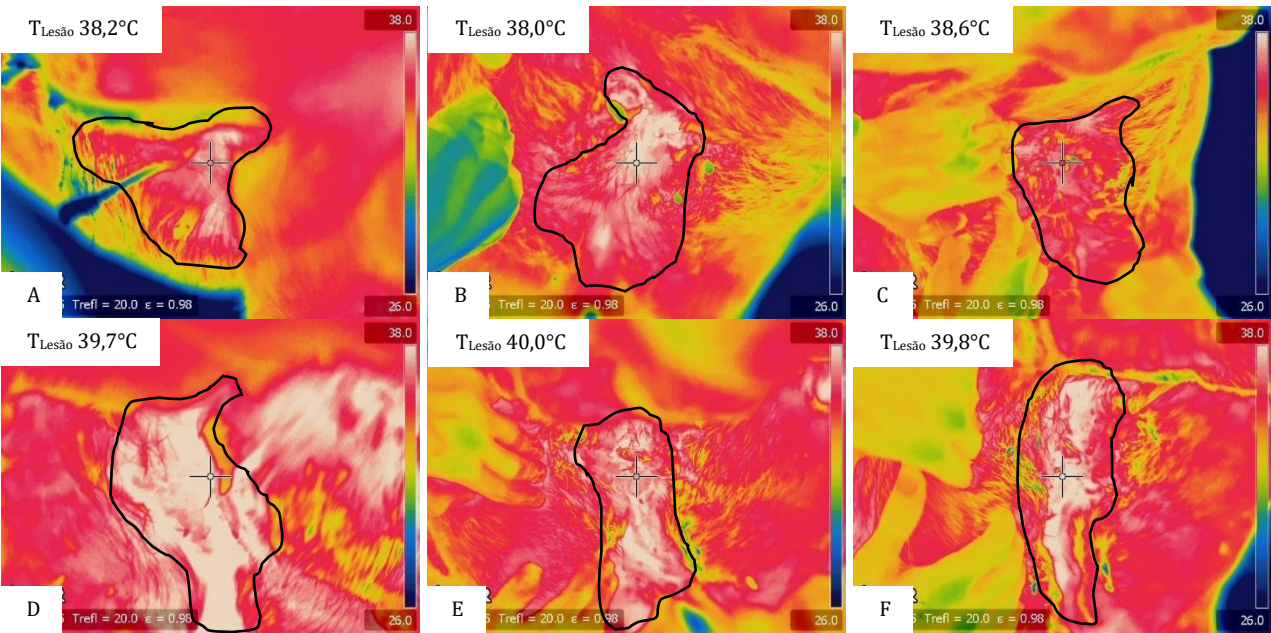


Figura 4: Comparação da termografia corrigida da lesão de estefanofilariose em vacas submetidas ao tratamento tópico com Hoofcare® e pasta formulada. (A) D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento.

A tabela 2 expõe as análises estatísticas da área da ferida entre os dois grupos, onde, pelo teste de Kruskal-Wallis, não se observou diferença estatística na comparação dos cinco momentos de avaliação entre os grupos e não se observou diferença estatística entre os dois grupos em nenhum dos momentos de avaliação. Na comparação dos momentos de avaliação em pares, observou-se diferença estatística entres os momentos D0 e D60 para o grupo CON (P = 0,003).

Tabela 2: Comparação entre as medianas [Q1 - Q3] da área da lesão em cm² dos dois protocolos terapêuticos propostos em vacas com lesões de estefanofilariose no úbere.

Momentos	Grupos de tratamento	
	HoofCare®	Controle
D1	42,66 cm ² [28,86 - 62,58] ^{Aa}	45,50 cm ² [31,97 - 77,57] ^{Aa}
D15	40,82 cm ² [16,50 - 63,90] ^{Aa}	50,62 cm ² [23,84 - 74,48] ^{Aa}
D30	54,70 cm ² [21,93 - 87,70] ^{Aa}	48,27 cm ² [25,16 - 76,39] ^{Aa}
D45	44,21 cm ² [16,10 - 101,62] ^{Aa}	34,60 cm ² [15,19 - 65,19] ^{Aa}
D60	38,40 cm ² [15,83 - 72,89] ^{Aa}	22,56 cm ² [13,72 - 35,65] ^{Ab}
P valor	0,9729	0,0570

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam que houve diferença estatística ($P > 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes na linha indicam que houve diferença estatística ($P > 0,05$).

Ao avaliar a porcentagem do índice de redução da área das feridas, a tabela 3 apresenta a avaliação dos momentos D30 e D60; não se observou diferença estatística entre os momentos para o grupo HC. Enquanto no grupo CON, houve diferença estatística de D0 dos demais momentos de avaliação ($P = 0,0164$). E, na comparação entre os dois tratamentos dentro de cada momento de avaliação, observou-se diferença estatística ($P = 0,0327$) em D60.

O índice de regressão das lesões foi calculado após a mensuração das áreas das lesões dos dois grupos, conforme demonstrado na figura 5. Ademais, a figura 6 apresenta dois exemplos de regressão de algumas lesões ao longo do tratamento. No grupo HoofCare® (linha verde), observou-se que a área inicial das lesões ulcerativas era de 42,66cm², com redução de 4,26cm² ao final dos 60 dias, finalizando o tratamento com 38,40cm².

Tabela 3: Comparação entre as medianas da porcentagem do índice de redução da área da lesão dos dois protocolos terapêuticos propostos em vacas com lesões de estefanofilariose no úbere.

Momentos	Grupos de tratamento	
	HoofCare®	Controle
D30	24,7% ^{Aa}	24,3% ^{Aa}
D60	19,23% ^{Aa}	15,7% ^{Bb}

Letras minúsculas diferentes na coluna indicam que houve diferença estatística ($P > 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes na linha indicam que houve diferença estatística ($P > 0,05$).

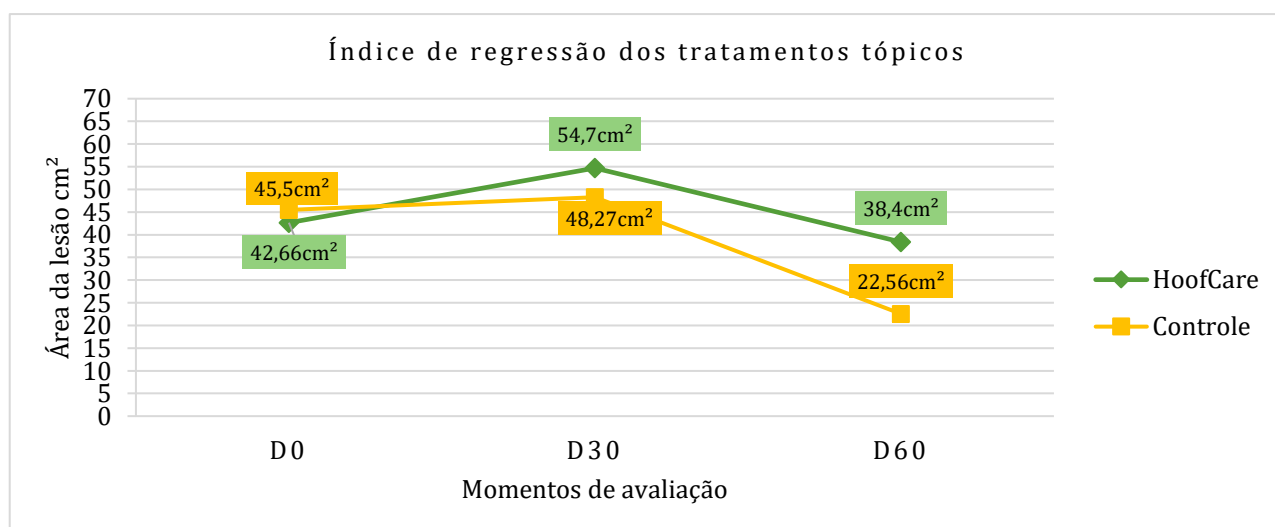


Figura 5: Evolução do índice de regressão da área das lesões verificados em momentos (D0, D30 e D60) durante os 60 dias de tratamento, planimetria pelo software *ImageJ*.



Figura 6: Comparação da área de lesões ulcerativas de estefanofilariose em vacas Holandesas submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento.

No grupo CON (linha amarela), as lesões apresentaram área inicial de 45,50cm², e com o índice de regressão de 22,94cm² ao longo dos 60 dias, com resultado final de 22,56cm². Observou-se a cicatrização da ferida dentro dos primeiros 30 dias em apenas dois animais, um de cada grupo. Contudo, em ambos ocorreu em menos de 30 dias após cessar o tratamento.

Ao final dos 60 dias de tratamento, todos os animais de ambos os protocolos submetidos à biópsia do centro da ferida para a realização do exame direto por microscopia foram positivos, incluindo os dois animais que possuíam cicatrização das feridas.

DISCUSSÃO

O estudo foi realizado durante os meses de janeiro a março. Nesse período, houve precipitação pluviométrica com média de 300mm de chuva e altas temperaturas (Inmet, 2022). Essa sazonalidade contribui para a proliferação das moscas, vetores comprovados da doença (Miyakawa et al., 2009).

O período de ocorrência da doença durante a realização deste estudo coincide com outras pesquisas realizadas anteriormente, que averiguaram que os meses de dezembro a março, considerados meses de maiores índices pluviométricos, altas temperaturas e umidade, colaboram com a proliferação dos insetos vetores da estefanofilariose, como a *Musca conducens* e *Haematobia irritans*, principais hospedeiros intermediários deste nematódeo (Miyakawa et al., 2009; Silva et al., 2010; Fontequet et al., 2017). Assim, espera-se que, nos meses com alta umidade e temperatura, a enfermidade apresente maior prevalência, chegando a situações em que pode acometer 50% do rebanho, considerando a maior proliferação dos vetores da doença, inclusive com vestígios do parasita no interior dos insetos (Singh et al., 2014).

Todos os animais permaneceram dentro do barracão neste estudo, em ambiente com temperatura e ventilação controlados, além de limpeza três vezes ao dia, manejo que dificultaria a reprodução dos vetores. Contudo, observou-se a presença de moscas dentro do barracão, as quais não foram identificadas quanto ao gênero ou espécie. Possivelmente, a abertura dos portões para a entrada das vacas recém-paridas oriundas do barracão de vacas secas, bem como das máquinas para a realização da limpeza e fornecimento de silagem, promoveria a

entrada das moscas e a propagação da doença (Silva et al., 2010; Schade et al., 2018). Outro fato importante é que durante 30 dias do período de secagem, as vacas ficam alojadas em barracão sob sistema semiextensivo, com maior acúmulo de matéria orgânica e presença de moscas. Dessa forma, as altas temperaturas combinadas com a umidade e com a matéria orgânica são fatores que colaboram para a proliferação de vetores e a propagação da doença (Miyakawa et al., 2009; Silva et al., 2010).

Ademais, a propriedade não possuía nenhuma medida de controle para as moscas nos galpões para vacas lactantes e secas, apenas para bezerros. Todas as lesões se localizavam na região do úbere e tecidos adjacentes, com secreção serossanguinolenta, circulares, com crostas aderidas e dolorosas. Achados que condizem com as lesões causadas pela *Stephanofilaria stilesi*, uma das quatro espécies encontradas nas Américas responsáveis por causar lesões em bovinos (Suthers et al., 2006; Miyakawa et al., 2009).

O exame direto por microscopia realizado para confirmação do diagnóstico possibilitou a visualização do parasita em 100% das amostras examinadas, confirmando a eficácia e a praticidade do método descrito em estudos de feridas por estefanofilariose (Miyakawa et al. 2008). Ademais, o exame possui baixo custo de execução, requerendo apenas o microscópio óptico, sendo possível inclusive de ser realizado em campo.

As análises histopatológicas não detectaram nenhuma forma larval ou adulta da *Stephanofilaria spp*, contradizendo o conceito que o exame histopatológico é um método eficiente para a confirmação do diagnóstico decorrente da visualização do parasita (White & Evans, 2002; Scott, 2007). A realização do exame direto está baseada na migração da larva do tecido para a solução NaCl 0,9% (Miyakawa et al., 2009; Miyakawa et al., 2010). Contudo, outro estudo evidenciou a migração da larva na solução por formaldeído (Matos et al., 2022). Fato que poderia explicar a ausência de filárias nas preparações histopatológicas observadas tanto no presente estudo quanto em pesquisas anteriores que adotaram a mesma metodologia.

Os achados das análises histopatológicas apresentaram infiltração perivascular com presença de células inflamatórias mononucleares (linfócitos, neutrófilos, histiócitos) e eosinófilos, juntamente com granulação. Essas características histopatológicas são descritas em reações inflamatórias crônicas, quando ocorre persistência do agente causador, nesse caso, o parasita. Demais estudos também mencionam que a presença de eosinófilos em esfregaços obtidos de lesões contendo *Stephanofilaria spp*. é considerada um padrão característico histopatológico da doença (Silva et al., 2010; Hargis & Ginn, 2013).

Dessa forma, considerando-se tanto as observações quanto as características macroscópicas das lesões, achados do exame histopatológico e localização das lesões são indicativos condizentes com a estefanofilariose. Sendo o exame direto o método fácil e rápido para confirmação do diagnóstico (Miyakawa et al., 2009; Schade et al., 2018).

Neste estudo, não foram realizadas observações relacionadas às características morfológicas do parasita para definir qual era a espécie. Autores relatam semelhanças morfológicas entre as diferentes espécies conhecidas, tornando mais difícil sua classificação quanto à espécie. Contudo, mais pesquisas precisam ser realizadas com o objetivo de identificar as características morfológicas entre as espécies da *Stephanofilaria spp*. (Miyakawa et al., 2009, 2010).

Apesar da termografia não identificar diferença significativa da temperatura nas lesões ulcerativas entre os dois grupos avaliados, deve-se atentar que não houve uma avaliação categorizada pelas dimensões das lesões. Assim, estas compuseram somente dois grandes grupos, e lesões extremamente amplas e acima de 25 cm² de diâmetro foram avaliadas conjuntamente com aquelas que apresentavam 5 cm². Entretanto, caso a subdivisão por tamanho de lesão houvesse sido praticada, haveria o impedimento do número de animais reduzido que porventura poderia compor cada subgrupo.

Pesquisas comprovam que o uso da TIV possibilita a detecção de alterações da temperatura mesmo que sutis, auxiliando no diagnóstico de processos inflamatórios (Oliveira et al., 2022; Baccili et al., 2024). No estudo conduzido por Polat e colaboradores (2010), eles averiguaram temperatura da superfície do úbere de 62 vacas leiteiras e encontraram uma correlação positiva entre os valores da temperatura com a contagem de células somáticas, observando que, quando os níveis de células somáticas aumentavam, os valores de temperatura do úbere também se elevavam. Os autores também mencionam que a TIV apresentou sensibilidade em 95% como diagnóstico para a detecção de mastite subclínica.

Outros estudos citam que o aumento de temperatura do úbere pode ser 0,8 e 1,1°C mais alta em animais que apresentam mastite subclínica e clínica, outros mencionam 2,35°C mais alto (Polat et al., 2010; Sathiyabarathi et al., 2016).

Dessa forma, poder-se-ia reconhecer as alterações de temperatura nos quartos mamários e sua relação ou não com o aumento de células somáticas e a estefanofilariose em diferentes dimensões de lesões. Sugerindo um novo estudo para averiguar essa hipótese.

Verificou-se ainda que a análise termográfica foi de fácil execução, boa praticidade, precisão, velocidade de coleta de dados, conforme descrito por Ribeiro et al. (2023). No entanto, há necessidade de contenção física

dos animais e de pelo menos duas pessoas para execução do procedimento, visto que algumas lesões apresentam difícil localização, por exemplo, entre os quartos do úbere. Diferentemente de outros estudos que não precisaram realizar a contenção para aferição de temperatura do úbere para detectar mastite (Ribeiro et al., 2023; Velasco-Bolaños et al., 2021).

Durante as aplicações tópicas dos produtos sobre as feridas, os animais apresentavam desconforto e aparente irritação ao contato, respondendo com coices e agitação. Porém, ao longo do tratamento, observou-se aparente melhora das lesões do grupo HC, com diminuição da secreção serossanguinolenta, diminuição das sujidades aderidas e diminuição das crostas aderidas. Os funcionários da propriedade também revelaram diminuição do odor fétido das lesões dos dois protocolos propostos. Essa observação também foi notada no estudo conduzido por Deola Filho e colaboradores (2024).

Em nosso estudo, a mistura da pasta contendo 500g de triclorfon em 1kg de Unguento® resultou em concentração 33% de triclorfon, considerada alta em comparação a outros estudos que utilizaram a concentração em 6% com resultados eficientes no tratamento de lesões ulcerativas provenientes de estefanofilariose (Miyakawa et al., 2012).

Uma das observações do nosso estudo foi que, durante a preparação da pasta, o Unguento®, por ser um produto mais denso, tornou a diluição do triclorfon mais difícil. Fato que pode ter prejudicado a homogeneidade, dificultando a diluição e assim comprometendo a verdadeira penetração da concentração do triclorfon nas feridas. Diferentemente do estudo conduzido por Miyakawa e colaboradores (2012), em que a mistura com 6% de triclorfon foi com vaselina, sendo uma substância mais fácil para preparação e diluição do triclorfon, tendo melhor homogeneidade.

Os testes utilizados para análise da área da lesão não comprovaram diferença entre os dois grupos de tratamentos tópicos ao longo do estudo. Contudo, observou-se redução da área das lesões dos dois grupos ao longo dos 60 dias, e dois animais (sendo um de cada um de cada grupo) obtiveram cicatrização das lesões. Entretanto, o período estabelecido, de 60 dias, foi insuficiente para a efetiva cicatrização das lesões. Essa observação também foi averiguada por Deola Filho et al. (2024), apurando que apenas o tratamento tópico não reduziu a área das lesões.

Uma das hipóteses observadas para a ausência da diferença estatística relacionada à área foi o agrupamento de diferentes tamanhos de lesões em um mesmo grupo, o que pode ter influenciado nos resultados das análises. O mesmo pode ser observado quanto ao índice de regressão, pois lesões de diferentes tamanhos podem apresentar diferentes graus de redução. Mesma observação também averiguada em estudos anteriores (Silva et al., 2010; Miyakawa et al., 2010). Assim, sugere-se que estudos futuros realizem uma subdivisão das lesões com base na área, com o objetivo de averiguar com mais exatidão a resposta dos diferentes tamanhos das lesões e também avaliar o índice de redução das mesmas. O estudo conduzido por Rai et al. (1994) agrupou as lesões como leves, moderadas e graves, sendo instituído igual tratamento para todas.

Análoga à estefanofilariose, a habronemose cutânea é uma enfermidade causada por larvas do parasita *Habronema* spp. e caracteriza-se pela presença de lesões granulomatosas que não cicatrizam devido à presença do agente. Em ambas as doenças, ocorre uma reação inflamatória crônica devido à presença dos parasitas vivos ou mortos nos tecidos, que impede o processo de cicatrização das lesões, pois a constante presença do parasita estimula a formação do tecido de granulação exuberante e mantém o processo inflamatório ativo, impedindo a progressão da cicatrização (Hargis & Ginn, 2013; Mauldin & Kennedy, 2016). O tratamento de feridas granulomatosas de origem parasitária consiste em reduzir o tamanho da lesão, reduzir a inflamação associada às lesões e eliminação do agente (Pugh et al., 2014).

Dessa forma, a eliminação dos parasitas é um fator importante para concretização do tratamento (Pugh et al., 2014). Estudos apontam que lesões ulcerativas de origem parasitária têm como objetivo redução do processo inflamatório, colaboração com o processo de cicatrização das lesões e eliminação do parasita. O que consiste na aplicação de pomadas cicatrizantes, antissépticos, administração de anti-helmínticos por via parenteral ou tópica e em alguns casos e realização do desbridamento cirúrgico ou químico (Merlo et al., 2023; Pliego et al., 2023).

Ao término dos 60 dias de tratamento, todos os animais apresentaram resultado positivo no exame direto, evidenciando que ambos os protocolos não eliminaram o agente causador. Além disso, embora dois animais tenham apresentado cicatrização das lesões ulcerativas, eles também tiveram resultado positivo no exame direto. A presença do parasita impede a cicatrização das lesões. Permanecendo em forma latente, dentro do período de 30 dias, haverá aparecimento das lesões, como observado neste estudo. As larvas permanecem na lesão por um período mínimo de quatro semanas. Estudos apontam que a presença do parasita, morto ou vivo, continua estimulando o processo inflamatório local com a liberação de histamina, causando reação de hipersensibilidade, além disso, pode ocorrer contaminação bacteriana ou fúngica secundária, contribuindo assim para manutenção e expansão da lesão (Pugh et al., 2014; Santos et al., 2016).

Dessa forma, deveriam ser instituídas concomitantemente terapias anti-helmínticas sistêmicas, com o intuito de eliminar o agente e colaborar com o processo cicatricial. Estudos anteriores exibem eficácia da associação parenteral de anti-helmíntico com tratamento tópico em lesões provenientes de estefanofilariose, por exemplo: aplicação de levamisol (9 a 12mg/kg PV) em dose única associado ao óxido de zinco com uso tópico, uma vez ao dia até a cicatrização da lesão, o que promoveu a cura de 100% das feridas (Rai et al., 1994).

CONCLUSÃO

Conclui-se que o exame direto do sedimento baseado na migração do nematódeo do tecido para a solução fisiológica que o embebe, é eficaz para a confirmação do diagnóstico de estefanofilariose em vacas em lactação, acometidas com feridas cutâneas na região do úbere de variadas dimensões.

Os protocolos estabelecidos com aplicações tópicas a cada 48 horas de HoofCare® e pasta formulada (Unguento® com Tricloril®) não obtiveram êxito na cicatrização de feridas cutâneas no úbere causadas por estefanofilariose dentro do período de 60 dias. Sugerindo a associação de aplicação parenteral de um anti-helmíntico para a eliminação do parasita.

REFERÊNCIAS

- Ackermann MR. Inflamação e Cicatrização. In: James F. Zachary & M. Donald McGavin, Bases da Patologia em Medicina Veterinária, 5ª ed., Elsevier Edi; 2013.
- Ayres MCC & Almeida MAO. 2006.Considerações gerais sobre os anti-helmínticos. In: Spinosa HS, Gorniak SL, Bernardi MM. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 4º ed. Rio de Janeiro; 2006.
- Baccili CC, Santarosa BP, Nichi M, Martin CC, Ramos JS, Decaris N, Benesi FJ & Gomes V. Infrared thermography used to detect local adverse reactions induced by reproductive vaccine adjuvants in Holstein heifers. Pesq Vet Bras 2024; <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7507>.
- Basile RC, Basile MT, Ferraz GC, Pereira MC & Queiroz-Neto A. Equine inflammatory process evaluation using quantitative thermographic methodology. ARS Veterinária 2010; 26(2): 77-81.
- Bridge G, Young L, Handel I, Farish M, Mason C, Mitchell MA & Haskell MJ. The use of infrared thermography for detecting digital dermatitis in dairy cattle: What is the best measure of temperature and foot location to use? Vet J 2018; <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.05.008>
- Deola Filho PD, Werle CH & Fukumoto NM. Estefanofilariose em bovinos leiteiros – relato de caso. Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação 2024; 10(10):1752 – 1762.
- Fonteque JH, Schade J, Silva Casa M, Lovatel JC, Granella MCS. & Casagrande RA. Estefanofilariose em bovinos de corte: relato de casos. Rev Acad Ciênc Ani 2017;15(19):20.
- Hargis AM & Ginn PE. O Tegumento. In: James F. Zachary & M. Donald McGavin, Bases da Patologia em Medicina Veterinária, 5ª ed., Elsevier Edi; 2013.
- Harris-Bridge G, Young L, Handel I, Farish M, Mason C, Mitchell MA, & Haskell MJ. The use of infrared thermography for detecting digital dermatitis in dairy cattle: What is the best measure of temperature and foot location to use?. Vet J 2018; <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.05.008>.
- INMET 2022. Instituto Nacional de Meteorologia, Ministério da Agricultura e Pecuária. Available at <https://portal.inmet.gov.br/>> Accessed on February 17, 2025.
- Johnson SJ, Parker RJ, Norton JH, Jaques PA & Grimshaw AA. Stephanofilariasis in cattle. Aust Vet J 1981; <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1981.tb00544.x>
- Mauldin EA & Kennedy JP. Integumentary system. In: Maxie MG, Jubb, Kennedy and Palmer's. Pathology of Domestic Animals. 6th ed. Vol.2. Elsevier, St Louis, Missouri.2016.
- Matos JKO, Maldaner SR, Gruchouskei L, Machado LP, Zuliani F, Cavalca AMB, Alves CEF & Elias F. 2022. Stephanofilariasis in Holstein Cows – Diagnostic Approach. Acta Sci Vet 2022; <https://doi.org/10.22456/1679-9216.118203>
- Merlo VD, Maciel SC, Jadjescki CAR, Aguiar TN, Salvador AZ, Rondon DA, Melotti VD & Pereira CM. 2023. Habronemose cutânea equina no extremo sul da Bahia. BJAER 2023; <https://doi.org/10.34188/bjaerv6n2-011>
- Miyakawa VI, Reis ACF, Lisbôa JAN. Aspectos clínicos e diagnóstico da estefanofilariose em vacas leiteiras. Rev Bras Parasitol Vet 2008; 17(1):172-174.
- Miyakawa VI, Reis ACF & Lisbôa JAN. Aspectos epidemiológicos e clínicos da estefanofilariose em vacas leiteiras e comparação entre métodos de diagnóstico. Pesq Vet Bras 2009; <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009001100004>
- Miyakawa VI, Reis ACF & Lisbôa JAN. Estefanofilariose em bovinos. Rev Ciênc Agrár 2010; DOI: 10.5433/1679-0359.2010v31n2p479
- Miyakawa VI, Reis ACF & Lisboa JAN. 2012. Comparação entre protocolos de tratamento para a estefanofilariose em vacas leiteiras. Semina. Ciênc. Agrár 2012; DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n1p343.

- McGavin MD & Zachary JF. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis, Missouri. 2007.
- Novaes AP, Costa AJS, Barbosa RT, Moreira DP, Ruzza FJ. Dermatite ulcerosa em bovinos provocada por *Stephanofilaria*. Pesq Agropec Bras 1988; 3(80):927-929.
- Novaes AP, Bagnato VS, Miyashida AY, Flores FLE & Kurachi C. 2006. Estefanofilariose: uma zoonose. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária 2006; (21):14.
- Oba MSP, Senhorini IL, Novaes AP, Costa AJS & Porto AD. *Stephanofilaria* em bovinos do município de São Carlos, Estado de São Paulo. In: Conferência anual da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 32., 1977, Pirassununga. Anais... Pirassununga: SPMV, 1977. p.12.
- Oduye OO. Stephanofilarial dermatitis of cattle in Nigeria. J Comp Pathol 1971; [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(71\)90089-2](https://doi.org/10.1016/0021-9975(71)90089-2)
- Oliveira AVD, Reis EMB, Ferraz PFP, Barbari M, Santos GS, Cruz MVR., Silva GF & Silva AOL. Infrared thermography as a technique for detecting subclinical bovine mastitis. Arq Bras Med Vet Zootec 2022; <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12834>
- Pliego CM, Silva NC, Turner SP & Oliveira AIC. Utilização da criocirurgia no tratamento de habronemose cutânea em equino. Braz J Dev 2023; <https://doi.org/10.34117/bjdv9n4-072>
- Polat B, Colak A, Cengiz M, Yanmaz LE, Oral H, Bastan A, Kaya S & Hayirli A. 2010. Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subclinical mastitis in dairy cows. JDS 2010; <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2807>
- Pugh D.G.; Hu X.P. & Blagburn B. Habronemiasis: biology, signs, and diagnosis, and treatment and prevention of the nematodes and vector flies. J. Equine Vet. Sci. 2014; <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.06.004>
- Rai RB, Ahlawat SPS, Singh S & Nagarajan V. Levamisole hydrochloride: an effective treatment for stephanofilarial dermatitis (Humpsore) in cattle. Trop Anim Health Prod 1994; PMID:7809991
- Ribeiro IP, Gonçalves PHD, Rodrigues MS, Nascimento GB, Baptista RS, Filho JRLC, Wolf A & Wolf SHG. 2023. Termografia infravermelha na detecção de mastite clínica e subclínica em bovinos de leite: comparação entre as raças Girolando e Jersey. Ciênc Anim Bras 2023; <https://doi.org/10.1590/1809-6891v24e-76726E>
- Sathiyabarathi M, Jeyakumar S, Manimaran A, Jayaprakash G, Pushpadass HA, Sivaram M, Ramesha KP, Das DN, Katakatalware MA, Arul Prakash M & Dhinesh Kumar R. Infrared thermography: A potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. Vet World 2016; <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.1075-1081>
- Silva LAF, Rabelo RE, Moura MI, Fioravanti MCS, Borges LMF & Lima CRO. Epidemiological aspects and treatment of para sitic lesions similar to *Stephanofilariasis* disease in nursing cows. Ciênc Agrár Londrina 2010; <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n3p689>
- Singh KS, Mukhopadhyay SK, Majumder S, Laha R, Niyogi D & Ganguly S. Study on different aspects of stephanofilarial dermatitis infection in cattle population of West Bengal. IIOABJ 2014; 5(1):19-22.
- Sutherst RW, Bourne AS, Maywald GF & Seifert GW. Prevalence, severity and heritability of Stefanofilaria lesions on cattle in central and southern Queensland. Aust J Agric Res 2006; <https://doi.org/10.1071/AR05265>
- Schade J, Casa MS, Lovatel JC, Granella MCS, Cristo TG, Casagrande RA & Fontequê JH. Stephanofilariasis in beef cattle - Case report. Arq Bras Med Vet Zootec 2019; <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-10950>
- Scott DW. Color Atlas of Farm Animal Dermatology. Blackwell Publ., Ames; 2007.
- Taylor SM, Hunter AG & Andrews AH. Ectoparasites, tick and arthropod-borne diseases. In: Andrews AH, Blowey RN, Boyd H. & Eddy RG. Bovine medicine diseases and husbandry of cattle. 2ª ed. Ames: Blackwell Publishing; 2004.
- Velasco-Bolaños J, Ceballes-Serrano CC, Velásquez-Mejía D, Riaño-Rojas JC, Giraldo CE, Carmona JU & Cabellos-Márquez A. Application of udder surface temperature by infrared thermography for diagnosis of subclinical mastitis in Holstein cows located in tropical highlands. J Dairy Sci 2021; <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19894>.
- White SD & Evans AG. 2002. Parasitic skin diseases. In: Smith BP Large Animal Internal Medicine. 3rd ed. Mosby, St Louis; 2002.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30

31

32

33

34

35

36

37

Capítulo 2

ARTIGO CIENTÍFICO II

AVALIAÇÃO DE DOIS PROTOCOLOS TÓPICOS ASSOCIADOS AO LEVAMISOL NO TRATAMENTO DE FERIDAS CUTÂNEAS CAUSADAS POR ESTEFANOFILARIOSE EM VACAS LEITEIRAS¹

Raymis B. R. Moura², Ana P. A. Mendonça², Piero H.M. Teodoro³, Renato Ravetti³, Júlio A.N. Lisboa⁴, Celso A. Rodrigues^{2*},

R.B.R. Moura (<https://orcid.org/0000-0002-6172-0859>)

P.H.M. Teodoro (<https://orcid.org/0000-0003-3134-9128>)

A.P.A. Mendonça (<https://orcid.org/0000-0002-4238-5768>)

R. Ravetti (<https://orcid.org/0000-0003-0064-0254>)

J.A.N. Lisboa (<https://orcid.org/0000-0003-1180-703X>)

C. A. Rodrigues (<https://orcid.org/0000-0002-4837-463X>)

ABSTRACT: Moura R.B.R., Mendonça A.P.A., Teodoro P.H.M., Renato R., Lisboa J.A.N. & Rodrigues C.A. 2024. **Evaluation of two therapeutic protocols in the treatment of skin wounds caused by Stephanophilariasis in Holstein cows.** Brazilian Veterinary Research. Department of Veterinary Surgery and Animal Reproduction, São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho", School of Veterinary Medicine and Animal Science – Rubião Jr. District, unnumbered, Botucatu, SP CEP 18618-970, Brazil. E-mail: celso.a.rodrigues@unesp.br *

The objective of this study was to determine the efficacy of topical treatment with HoofCare® on skin wounds on the udder of lactating Holstein cows and compare it with topical treatment with trichlorfon. A dairy farm with more than 2,000 lactating animals in a free-stall system, with a history of ulcerative lesions on the udder. A random sample of 36 animals with ulcerative lesions on the udder were subjected to direct examination to confirm the diagnosis. After confirmation of the diagnosis, visual inspection was performed during milking in order to locate other animals with ulcerative lesions. A total of 112 animals were identified and randomly divided into two groups: group HC (n = 59) with topical application of HoofCare®; and group CON (n = 53) with topical application of the formulated paste. Both applications were performed every 48 hours until complete healing or 60 days. Along with the topical treatment protocols, two applications of 7.5 mg/kg of levamisole were administered subcutaneously. In order to evaluate the healing of the lesions, morphometry, infrared thermography and regression index of the lesions were performed. After measuring the area of the lesions, they were separated and categorized into three subgroups: small, medium and large. The evaluations were performed on D0 (initial moment), D30 (30th day) and D60 (60th day). The efficacy of the treatment was defined as the healing of the lesion and elimination of the parasite. At the end of the 60th day of treatment, 30 animals were subjected to direct examination of the sediment. The data were analyzed using the Mixed Linear Models test. The thermographic analysis did not reveal a statistically significant difference for the temperature between the groups at any moment. When comparing the area between the evaluation moments in pairs, no difference was observed between the groups in the small wounds. While there was a significant difference for the area variable between D30 and D60 in the CON group for medium and large lesions, there was a significant difference for the area of large lesions between D0 and D60 for the HC group. When evaluating the percentage of the reduction index at D0, D30 and D60, a difference was observed for HC only for small wounds, while no significant difference was observed between the moments for CON. At the end of 60 days, 21 animals were positive by direct examination. We conclude that topical applications every 48 hours of both treatments together with the application of levamisole present suggestive efficacy for the treatment of ulcerative lesions consistent with stephanophilariasis, with the need to extend the treatment and continue the administration of levamisole until complete healing.

¹ Received on ...

² Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Corrêa s/n, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-681, Brazil. *Corresponding author: celso.a.rodrigues@unesp.br

³ Salmix Industria e Comércio Ltda, Estrada Municipal José Benedito de Oliveira, s/n - Bairro dos Leites - Piedade/SP CEP 18170-000

⁴ Departamento de Clínica Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445, Km 380, Campus Universitário, Cx. Postal 10.011, CEP 86.057-970, Londrina - PR

INDEX TERMS: *Stephanofilaria* sp., udder skin lesion, dairy cow.

RESUMO. - [Avaliação de dois protocolos terapêuticos tópicos associados ao levamisol no tratamento de feridas cutâneas causadas por estefanofilariose em vacas leiteiras.] O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do tratamento tópico de HoofCare® em feridas cutâneas no úbere de vacas Holandesas em lactação e comparar com o tratamento tópico com triclorfon. Uma propriedade leiteira com mais de 2000 animais em lactação em sistema *free-stall*, com histórico de lesões ulcerativas no úbere. Uma amostra aleatória de 36 animais com lesões ulcerativas no úbere foi submetida ao exame direto para confirmação do diagnóstico. Após a confirmação do diagnóstico, realizou-se inspeção visual durante a ordenha a fim de localizar demais animais com lesões ulcerativas. Identificados 112 animais, eles foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo HC (n=59) com aplicação tópica de HoofCare®; e grupo CON (n=53) com aplicação tópica da pasta formulada. Ambas as aplicações foram realizadas a cada 48 horas até a completa cicatrização ou até completar 60 dias. Junto aos protocolos de tratamento tópico foram administradas duas aplicações de 7,5 mg/kg de levamisol por via subcutânea. Com o objetivo de avaliar a cicatrização das lesões, foram efetuadas planimetria, termografia infravermelha e índice de regressão das lesões. Após a mensuração da área, as lesões foram classificadas em três subgrupos: pequenas, médias e grandes. As avaliações foram realizadas em D0 (momento inicial), D30 (30º dia) e D60 (60º dia). A eficácia do tratamento foi definida com cicatrização da lesão e eliminação do parasita. Ao final do 60º dia do tratamento, 30 animais foram submetidos ao exame direto do sedimento. Os dados foram analisados empregando-se o teste de Modelos Lineares Mistos. A análise termográfica não revelou diferença estatística significativa para a temperatura entre os grupos para nenhum momento. Na comparação da área entre os momentos de avaliação em pares, não se observou diferença entre os grupos nas feridas pequenas. Nas lesões médias e grandes, observou-se uma diferença significativa na variável área entre os momentos D30 e D60 no grupo CON. No grupo HC, essa diferença significativa foi identificada nas lesões grandes entre os momentos D0 e D60. Ao avaliar a porcentagem do índice de redução, nos momentos D0, D30 e D60, observou-se diferença para o HC apenas para feridas pequenas, enquanto no CON, não se observou diferença significativa entre os momentos. Ao final dos 60 dias, 21 apresentaram resultado positivo no exame direto. Concluímos que as aplicações tópicas a cada 48 horas de ambos os tratamentos junto com a aplicação de levamisol apresenta eficácia sugestiva para o tratamento de lesões ulcerativas condizentes com estefanofilariose com a necessidade de prorrogar o tratamento e continuar a administração de levamisol até a completa cicatrização.

Palavras-chave: *Stephanofilaria* spp., lesão ulcerativa, vaca de leite.

INTRODUÇÃO

A estefanofilariose é uma doença caracterizada por dermatite crônica cujo agente são nematódeos do gênero *Stephanofilaria* spp. (Taylor et al., 2017). São descritas 11 espécies de *Stephanofilaria* spp. em diferentes partes do mundo. Dentre elas, as espécies *Stephanofilaria dedoesi*, *Stephanofilaria stilesi*, *Stephanofilaria kaeli*, *Stephanofilaria assamensis* e *Stephanofilaria okinawawnsis* são as mais comumente relacionadas à manifestação da doença em bovinos (Ueno & Chibana, 1977). Devido às semelhanças morfológicas, é provável que uma espécie tenha recebido diferentes nomenclaturas de acordo com a localização geográfica em que tenha sido descrita (Bain et al., 1996; Miyakawa et al., 2010).

Na espécie bovina, a doença evolui com erupção papular, progredindo para queda do pelo na área afetada, formação de nódulos e formação ulcerosa com presença de crosta (Novaes et al., 2006; Miyakawa et al., 2007).

No Brasil, os primeiros casos foram no estado de São Paulo (Oba et al., 1977). No gado brasileiro, as lesões foram observadas na região da cabeça, região escapular, no teto, jarrete, na pele da bolsa escrotal, nos sulcos interdigitais, no peito e na parte posterior da cauda (Oba et al., 1977; Silva et al., 2010), próximo à cauda, na garupa, na coxa (Novaes et al., 1988), na quartela (Novaes et al., 1990) e na porção anterior do úbere de vacas leiteiras lactantes (Miyakawa et al., 2007).

As feridas possuem aspecto circular com bordas bem definidas, com presença de prurido e exsudato serossanguinolento e placas crostosas (Miyakawa et al., 2010; Silva et al., 2010). As feridas podem ser únicas ou não, normalmente apresentam formato circular, medindo inicialmente 1cm de diâmetro e com sua evolução podem ultrapassar 50cm de diâmetro (Miyakawa et al., 2010; Islam et al., 2018).

A doença ocorre com maior prevalência no verão, período de maior proliferação de moscas, como *Musca conducens* e *Haematobia irritans*, consideradas vetores do parasita e acomete várias espécies animais (Johnson et al., 1981).

O diagnóstico presuntivo baseia-se no histórico do animal, na observação das características das lesões e na resposta ao tratamento. A confirmação do diagnóstico ocorre por meio de técnicas que revelem as formas adultas e/ou larvares do parasita. Assim, emprega-se o exame histopatológico de tecidos biopsiados das bordas das lesões (Oduye, 1971). O raspado da ferida ou esfregaço também pode ser utilizado para confecção de lâminas, sendo estes corados com Giemsa ou vermelho Congo para a visualização do nematódeo (Novaes, 2005).

O método descrito por Ueno e Chibana (1977) apresenta o exame direto por microscopia. Este se baseia na migração dos parasitas contidos no interior do tecido removido cirurgicamente para a solução salina fisiológica (NaCl 0,9%) na qual o tecido fica embebido e, após a centrifugação do sedimento, permite a visualização nas lâminas do nematódeo em sua forma larval e/ou adulta. O método apresentou eficácia comprovada no estudo desenvolvido por Miyakawa (2009) e colaboradores.

Dentre os métodos de tratamento tópicos, destacam-se a utilização tópica de organofosforados, como coumafós 2% e triclorfon 6% (Taylor et al., 2017). A aplicação tópica de antiparasitários, como ivermectina em forma de pasta em concentração de 1% e 2%, também foi relatada (Miyakawa et al., 2012). Outros autores descreveram a aplicação tópica de óxido de zinco, sendo uma substância com propriedade antisséptica e adstringente, atuando como coadjuvante do processo cicatricial em feridas de estefanofíliose (Rai et al., 1994; Silva et al., 2010).

A eficácia do tratamento depende do tempo de evolução e do tamanho da lesão, e algumas dessas opções terapêuticas não podem ser utilizadas para o tratamento de vacas em lactação, por causarem a presença de resíduos no leite (Silva et al., 2010).

Este estudo objetivou avaliar dois protocolos tópicos associados ao levamisol no tratamento de feridas cutâneas causadas por estefanofíliose em vacas leiteiras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos éticos. O estudo foi realizado sob as diretrizes da Comissão de Ética no uso dos animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus Botucatu, sob protocolo 0181/2022.

Descrição do local e animais. A propriedade contava com um rebanho de aproximadamente 7000 bovinos da raça Holandesa preto e branco e aproximadamente 2.200 vacas em lactação. Os animais permaneciam alojados em um único galpão, sob regime de criação intensivo (*free-stall*). Este possuía iluminação especial e sistema de ventilação cruzada (*cross ventilation*), proporcionando ao rebanho temperatura ao redor de 21°C. O piso era de concreto ripado, com cama de areia; eram procedidas três ordenhas diárias, simultaneamente à limpeza com auxílio maquinário e *flushing*.

As vacas em lactação eram divididas em oito lotes de acordo com a produtividade; algumas das vacas analisadas neste estudo transitaram entre os diferentes lotes ao longo de sua lactação. Dessa forma, os animais utilizados compunham grupos padronizados quanto ao manejo, aspectos nutricionais e ambientais, reduzindo qualquer efeito destes sobre os parâmetros avaliados.

Designer experimental. A propriedade possuía histórico de animais com lesões ulcerativas na região do úbere e/ou adjacentes. O protocolo de tratamento tópico destas feridas baseava-se empiricamente em uma pasta contendo Unguento® misturado com triclorfon. A fazenda não possuía um método para confirmação do diagnóstico da causa das feridas. Com o objetivo de confirmar o diagnóstico, uma quantidade amostral de 36 animais em lactação com lesões características condizentes à estefanofíliose na região do úbere foram selecionados para a realização do exame direto. Os animais foram contidos em um canzil, sendo realizada a limpeza das sujidades com papel toalha e posteriormente antisepsia do local com álcool iodado e realização de anestesia local infiltrativa, com 1-2ml de lidocaína 2% (sem vasoconstritor) para a colheita de tecido conjuntivo do centro da lesão com biópsia por *punch* (6mm de diâmetro interno).

Posteriormente, a amostra de tecido ficou imersa em um recipiente com solução fisiológica (NaCl 0,9%) por no mínimo 3 horas em temperatura ambiente e, após a remoção do fragmento, a solução do recipiente foi centrifugada em 1.500 rpm por 5 minutos, sendo gotas do sedimento examinadas entre lâmina e lamínula, com auxílio do microscópio óptico.

Levando-se em consideração os resultados preliminares do estudo, que constatou a ineficácia de utilizar apenas o tratamento tópico para cicatrização de lesões oriundas de estefanofíliose (Moura et al., 2024), acrescentou-se neste estudo a aplicação parenteral de levamisol 18,8% (Ripercol 150®), associada ao tratamento tópico, com o objetivo de eliminar o agente e junto ao tratamento tópico colaborar com a cicatrização das lesões.

Assim, procedeu-se a inspeção visual durante a ordenha, com o objetivo de identificar as vacas com lesões no úbere, condizentes com estefanofíliose.

Aplicação dos protocolos. Posteriormente a inspeção, os animais identificados foram divididos aleatoriamente em dois grupos, levando em consideração o protocolo de tratamento realizado. Sendo assim, os grupos foram estabelecidos como: grupo HC (HoofCare® – ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, polissacarídeo, corante azul brilhante, citrato de cobre e cloreto de zinco) que recebeu aplicação em forma de pincelamento sobre toda a extensão da ferida; grupo CON recebeu aplicação tópica da pasta formulada contendo 500g de Tricloril® (Triclorfon) misturado em 1kg de Unguento® (permetrina, óxido de zinco e butóxido de piperonila).

Nos dois protocolos, as aplicações tópicas foram realizadas a cada 48 horas até a completa cicatrização

das lesões ou até completar 60 dias de tratamento. Junto aos protocolos de tratamentos tópicos, foram administradas duas aplicações de 7,5 mg/kg de levamisol (Ripercol®150) por via SC (subcutânea) com intervalo de 30 dias. A escolha deste anti-helmíntico considerou sua eficácia comprovada, bem como período de carência curto (48h de acordo com a bula). Durante a execução do projeto, não houve alteração do manejo dos animais, ou seja, todos mantidos sob a mesma condição de ambiente e dieta.

Com o objetivo de avaliar o processo de cicatrização das feridas e a eficácia dos protocolos terapêuticos, realizou-se a termografia infravermelha e fotografia das lesões ao lado de uma régua para posterior análise quantitativa. As avaliações com a câmera termográfica e registros fotográficos foram procedidos após a ordenha e efetivadas a cada 30 dias, D0 (momento inicial dos tratamentos), D30 (30º dia após o início dos tratamentos e D60 (60º dia do início das terapias), conforme ilustração esquemática na Figura 1.

A eficácia do tratamento foi definida com cicatrização da lesão e eliminação do parasita com resultado negativo pelo exame direto. Dessa forma, ao término de 60 dias de tratamento, as vacas foram submetidas novamente ao exame direto para confirmar ou não a presença do parasita. Os critérios para a realização do procedimento foram os mesmos do protocolo descrito inicialmente.

Avaliação termográfica das lesões. A captura das imagens termográficas foi realizada com a FLIR Systems, antes da biópsia das lesões, a fim de evitar alterações de temperatura durante a avaliação. Para a realização das avaliações, os animais foram contidos em um canzil de contenção, em posição quadrupedal, a câmera com faixa de temperatura de 26°C a 38°C foi direcionada para o úbere e a região da lesão cutânea, seguida pela captura da imagem com distância de 1 metro. Como as condições ambientais influenciam na temperatura detectada pela câmera termográfica, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar foram monitoradas durante cada imagem realizada conforme Harris-Bridge et al. (2018).

Ao término do experimento, as imagens foram analisadas com auxílio do *software* FLIR Thermal Studio da FLIR Systems corrigindo a temperatura ambiente, umidade relativa do ar e grau de emissividade (0,98). Posterior padronização dos valores das temperaturas máximas obtidas foi realizada com base na metodologia internacional de padronização de temperatura atmosférica, utilizando a fórmula descrita por Basile e colaboradores (2010).

Planimetria das lesões. A avaliação quantitativa do processo de cicatrização foi feita após a realização da termografia e a limpeza das feridas com papel toalha. A captura fotográfica das lesões foi com a vaca em posição quadrupedal, utilizando a câmera do celular Samsung Galaxy M31 de 64 MP. Uma régua de 20 cm foi utilizada ao lado das lesões como parâmetro métrico para garantir a escala das imagens. Usando o *software ImageJ*, a área das feridas ulcerativas fora mensurada três vezes, com a média destas três mensurações foi constituída a área em cm² de cada lesão, para comparação entre os momentos dos dois protocolos terapêuticos adotados. Posteriormente à mensuração da área das feridas, estas foram separadas e categorizadas em três subgrupos: pequenas (até 10cm²), médias (>11cm² até 24cm²) e grandes (acima de 25 cm²), sendo comparadas quanto as variações de temperatura, áreas das feridas e porcentagens de redução. O cálculo do índice de regressão das feridas dos subgrupos baseou-se na área inicial ferida ulcerativa, considerando D0 como 100%.

Ao término de 60 dias de tratamento, 30 animais (15 de cada grupo) foram selecionados de forma aleatória para o exame direto, seguindo o protocolo do início do estudo.

Análise estatística. Com o objetivo de comparar os dois grupos em relação a variáveis explanatórias, temperatura, área da ferida e porcentagem de redução junto com o momento de coleta em tempos distintos, utilizou-se o método de Modelos Lineares Mistos, a partir do programa R para a realização das análises.

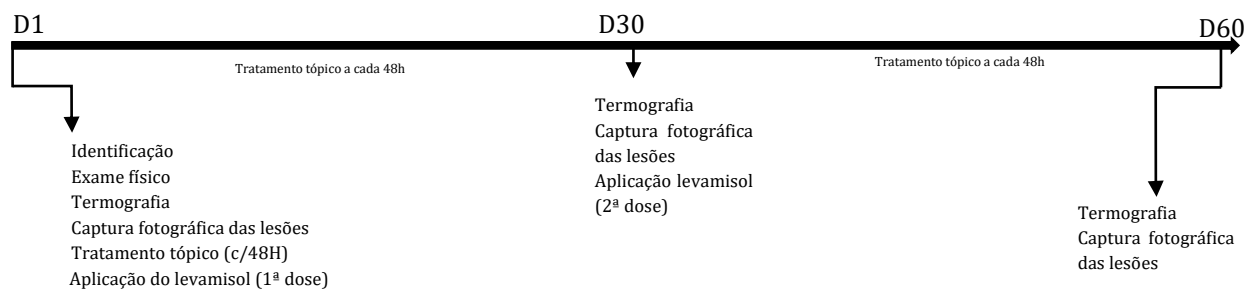


Figura 1: Representação esquemática do delineamento experimental demonstrando as avaliações, os momentos e os dias de tratamento das lesões.

RESULTADOS

As análises das 36 vacas selecionadas inicialmente foram positivas para pesquisa de estefanofilária pelo exame direto. Elas também estavam incluídas nos protocolos de tratamento. Ao todo, das 2.200 vacas em lactação, foram identificados 126 animais com lesões na região ou adjacente ao úbere; contudo, ao longo do estudo, alguns animais foram vendidos ou descartados pela propriedade. Sendo assim, 112 animais concluíram os 60 dias de tratamento, sendo distribuídos aleatoriamente nos dois protocolos o GHC (n=59) e GCN (n=53). A idade dos animais acometidos variou entre 2 e 8 anos de idade (tabela 1), sendo que a maioria estava entre 4 e 5 anos idade.

Nenhum dos animais incluídos na pesquisa tinha histórico de tratamento das lesões, não sabendo se as mesmas tinham a enfermidade pela primeira vez ou se as lesões eram recidivantes. O projeto ocorreu entre os meses de maio a julho, considerados meses de maior precipitação pluviométrica e de maior reprodução dos hospedeiros intermediários.

Tabela 1: Distribuição das vacas da raça Holandesa com lesões ulcerativas condizentes de estefanofilariose pertencentes ao mesmo rebanho de acordo com a idade.

Idade	Quantidade de animais	%
2 – 3 anos	21	19%
4 anos	28	25%
5 anos	34	29%
6 anos	19	17%
7 anos	9	9%
8 anos	1	1%
Total	126	

A maioria das vacas apresentava uma única lesão. Somente duas vacas exibiam duas lesões concomitantes. Todas as 36 vacas escolhidas aleatoriamente para avaliação dos protocolos e que apresentaram feridas ulcerativas com características condizentes com a enfermidade, tiveram resultado positivo no exame direto do sedimento por microscopia. Isso demonstra a boa eficácia e aplicabilidade do exame como método eletivo para triagem do diagnóstico (Fig. 2).

A maioria das lesões se localizava na pele dos quartos anteriores do úbere (95%), principalmente na linha média em posição cranial (81%). As demais lesões cutâneas localizavam-se na região cranial das glândulas mamárias anteriores direita (5%) e esquerda (9%). Apenas um animal apresentou lesão ulcerativa no peito (1%) e quatro entre os tetos (4%). Não houve ocorrência de miíase ao longo do tratamento.

A tabela 2 apresenta os resultados das variáveis estudadas em relação às feridas classificadas como pequenas (<10cm²) onde não se observou diferença significativa entre os dois protocolos terapêuticos ao longo dos momentos de avaliação em relação à mensuração da área (cm²), temperatura e índice de regressão (%). Na análise do índice de regressão, o grupo HC apresentou diferença significativa na comparação de D0 com os demais.

A tabela 3 apresenta os resultados das variáveis estudadas em relação às feridas médias (entre 11cm² e 24cm²), sendo averiguado que os animais que receberam o protocolo do grupo controle apresentaram diferença significativa da análise da área da lesão, entre os momentos de avaliação D30-D60 e D0-D60. Diferentemente do grupo HC em que não se observou diferença significativa ao longo dos momentos.

Nas comparações da variável temperatura, houve diferença significativa apenas para o grupo HC entre os momentos D30-D60. Enquanto que o índice de regressão o grupo CON apresentou diferença significativa entre os momentos D0-D60, apresentando porcentagem da redução menor em comparação ao grupo HC.

A tabela 4 apresenta os resultados das análises das variáveis estudadas referentes às feridas grandes (>25cm²), sendo observado diferença significativa da área da lesão dos dois protocolos de tratamento nos momentos D0-D30 e D0-D60, sendo que o grupo CON apresentou diferença entre as médias da área maior em comparação ao grupos HC.

Tabela 2: Comparação da diferença entre as médias e intervalo de confiança (IC) da planimetria (área cm²), termografia (C°) e índice de regressão (%) das lesões pequenas (até 10cm²), dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere.

Momentos	Grupos de tratamento					
	HoofCare®			Controle		
Área da lesão (cm ²)	Dif. Médias	IC (95%)	p valor	Dif. Médias	IC	p-valor
D0-D30	-3.57	(-8,47;1,34)	0.326	-1.20	(-5,81; 3,41)	0,865
D0-D60	-5.13	(-9,98;-0,28)	0.095	3.45	(-1,14;8,04)	0,301
D30-D60	-1.56	(-6,47;3,34)	0.805	4.65	(0,04;9,26)	0,117
Termografia (C°)						
D0-D30	-0.202	(-0,46;0,06)	0.279	-0.184	(-0,41;0,04)	0.243
D0-D60	-0.253	(-0,51; 0,0)	0.123	-0.021	(-0,25;0,20)	0.982
D30-D60	-0.052	(-0,31;0,21)	0.918	0.163	(-0,06; 0,39)	0.329
Regressão (%)						
D0-D30	-83.72	(-127,48;39,96)	0,003*	-20,34	(-64,10;23,42)	0,63
D0-D60	-104.91	(-148,67;-61,15)	<0,001*	26,78	(-16,98;70,54)	0,449
D30-D60	-21,19	(-64,95;22,57)	0,684	47,13	(3,37;90,89)	0,087

* Indica diferença estatística (P<0,05)

Tabela 3: Comparação da diferença entre as médias e intervalo de confiança (IC) da planimetria (área cm²), termografia (C°) e índice de regressão (%) das lesões médias (entre 11cm² até 24cm²), dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere.

Momentos	Grupos de tratamento					
	HoofCare®			Controle		
Área da lesão (cm ²)	Dif. Médias	IC (95%)	p valor	Dif. Médias	IC (95%)	p-valor
D0-D30	1,948	(-2,41; 6,30)	0,652	4,31	(-0,18; 8,81)	0,144
D0-D60	2,690	(-1,69; 7,07)	0,448	11,27	(6,78; 15,76)	<0,001*
D30-D60	0,742	(-3,61; 5,10)	0,94	6,958	(2,46; 11,45)	0,007*
Termografia (C°)						
D0-D30	-0,068	(-0,28;0,14)	0,068	-0,116	(-0,34;0,11)	0,570
D0-D60	-0,067	(-0,28;0,15)	0,067	-0,226	(-0,45;0,0)	0,120
D30-D60	0,001	(-0,21;0,21)	0,001*	-0,111	(-0,34;0,11)	0,599
Regressão (%)						
D0-D30	-11,04	(-54,80;32,72)	0,858	32,65	(-11,11;76,41)	0,306
D0-D60	12,08	(-31,68;55,84)	0,835	60,18	(16,42;103,94)	0,020*
D30-D60	23,12	(-20,64;66,88)	0,511	27,53	(-16,23; 71,29)	0,43

* Indica diferença estatística (P<0,05)

A figura 2 demonstra o registro termográfico, com foco na lesão na região ou úbere ou adjacentes de dois animais submetidos aos protocolos de tratamento ao longo dos 60 dias de tratamento.

Tabela 4: Comparação da diferença entre as médias e intervalo de confiança (IC) da planimetria (área cm²), termografia (C°) e índice de regressão (%) apenas das lesões grandes (> de 25 cm²), dois protocolos terapêuticos com lesões de estefanofilariose no úbere.

Momentos	Grupos de tratamento					
	HoofCare®			Controle		
Área da lesão (cm²)	Dif. Médias	IC (95%)	p valor	Dif. Médias	IC (95%)	p-valor
D0-D30	7,524	(3,23; 11,82)	<0,001*	9,890	(5,10; 14,68)	<0,001*
D0-D60	6,422	(2,15 ; 10,69)	<0,001*	15,004	(10,21;19,79)	<0,001*
D30-D60	-1,101	(-5,40; 3,20)	0,091	5,114	(0,32; 9,90)	0,091
Termografia (C°)						
D0-D30	- 0,209	(-0,41;0,0)	0,204	-0,220	(-0,47;0,03)	0,204
D0-D60	- 0,117	(-0,32; 0,09)	0,371	-0,173	(-0,43;0,08)	0,371
D30-D60	0,091	(-0,11;0,30)	0,930	0,047	(-0,21;0,30)	0,930
Regressão (%)						
D30	22,36	(-21,15; 66,12)	0,509	21,28	(-22,48; 65,04)	0,67
D45	12,78	(-30,98; 56,54)	0,801	40,37	(-3,39;84,13)	0,24
D60	-9,58	(- 53,34; 34,18)	0,883	19,09	(-24,67; 62,85)	0,725

* Indica diferença estatística (P<0,05)

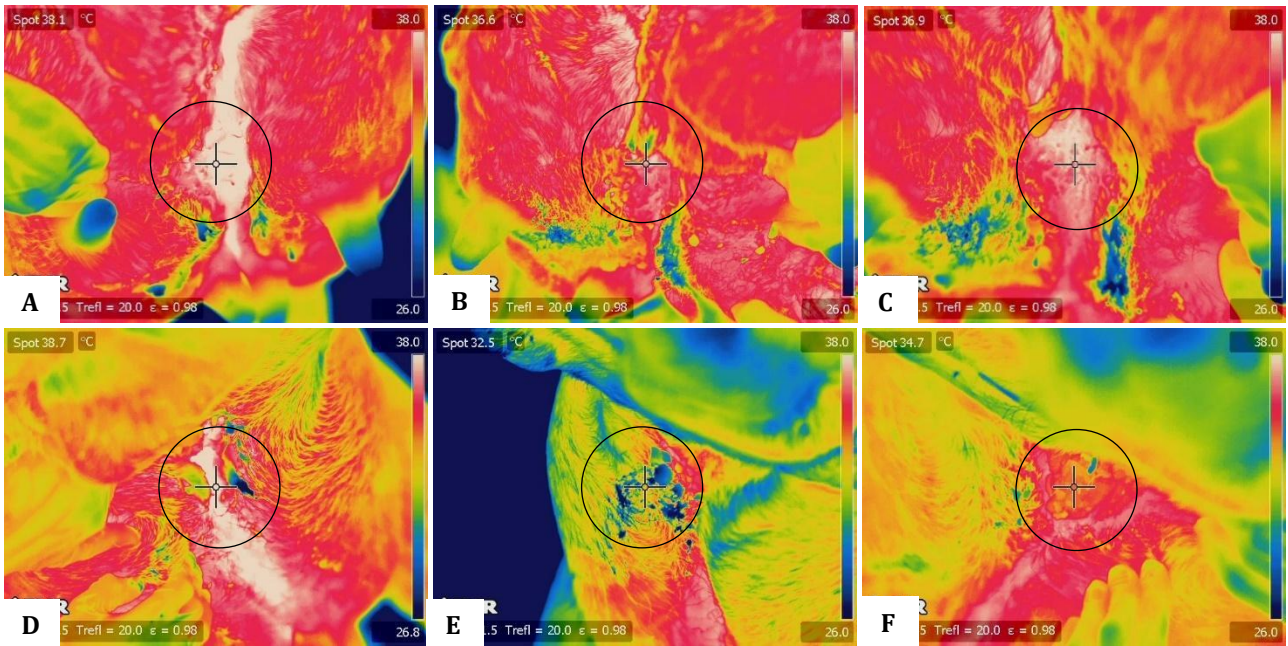


Figura 2: Comparação termográfica das lesões, submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento.

306

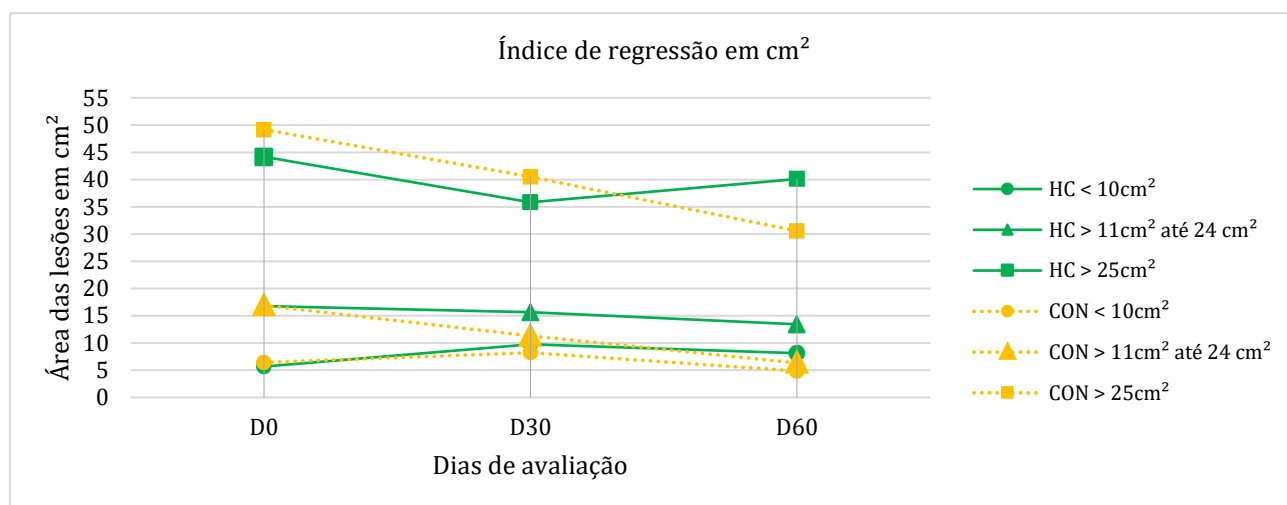


Figura 3: Observação da evolução das lesões dos três subgrupos ao longo dos 60 dias de tratamentos de ambos dos protocolos propostos, e os momentos de avaliação com registro fotográfico das lesões e posteriormente mensuração da área (cm²).

307

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324

325

326

327

328

329

330

331

332

333

Tabela 5: Resultado do exame direto do sedimento após o termino de 60 dias de tratamento

Grupos	Exame direto		Total
	Positivo	Negativo	
GHC	11	4	15
GCN	10	5	15
Total	21	9	

334

335

336

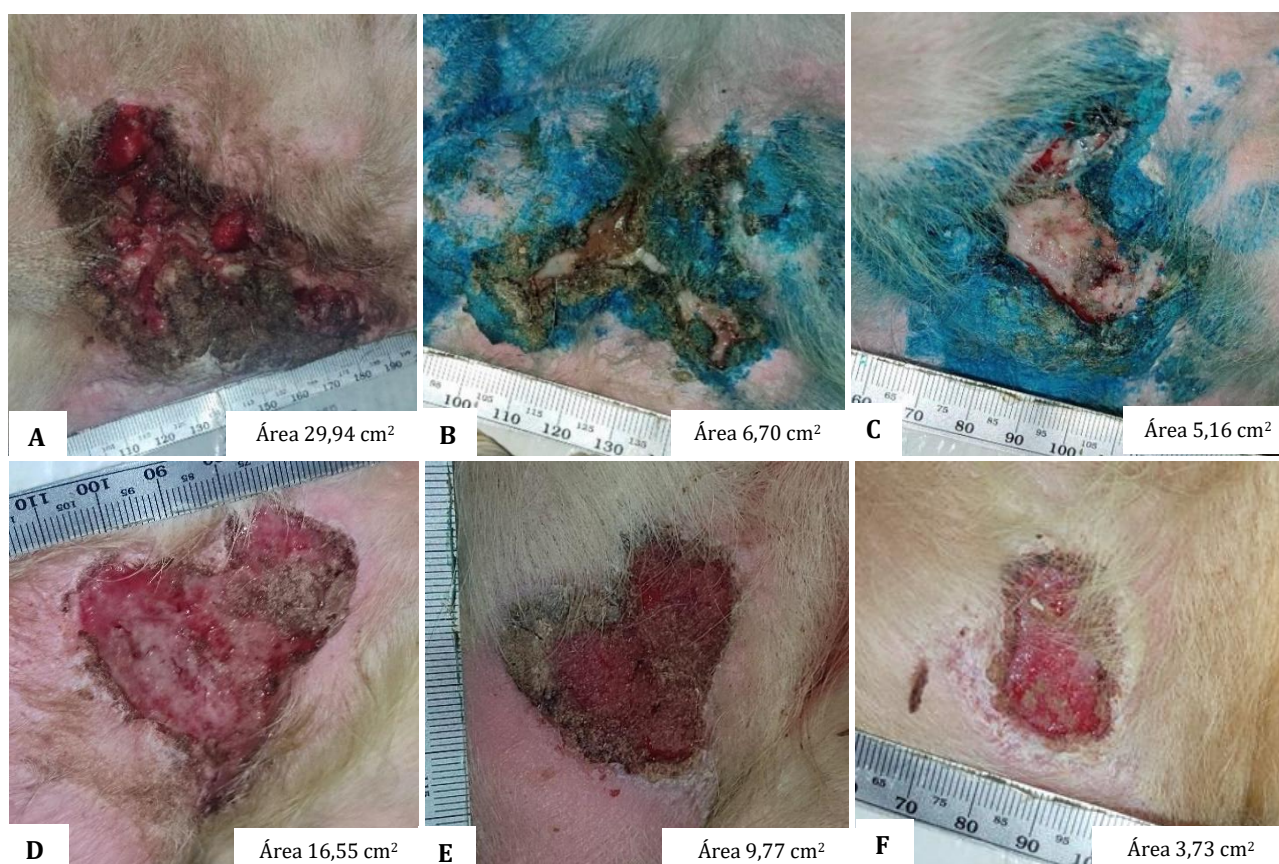


Figura 4: Comparação da planimetria da área da lesão condizente de estefanofilariose em vacas lactantes submetidas ao tratamento com Hoofcare® e pasta formulada. (A) Ferida ulcerativa, bordas regulares e crostas aderidas, em D0 antes do tratamento com Hoofcare®. (B) D30, 30º dia do tratamento com Hoofcare®. (C) D60, término do tratamento Hoofcare®. (D) Ferida ulcerativa, com bordas regulares, em D0 antes do tratamento com pasta. (E) D30, 30º dia do tratamento com pasta. (F) D60, término do tratamento.

DISCUSSÃO

Considerada uma doença de origem parasitária, a estefanofilariose acomete em suma bovinos em período de lactação, mas sem predileção de idade, fase de lactação, raça e escore de condição corporal. Neste estudo os animais com idade entre 4 e 5 anos, sendo menor com o avançar da idade. Estudos anteriores apontam que a prevalência de casos diminui em animais mais velhos por causa da função imunológica adquirida, sendo os animais mais jovens os mais susceptíveis (Miyakawa et al., 2010).

O estudo foi realizado durante os meses de abril a junho, meses que apresentaram precipitação pluviométrica com média de 300mm de chuva e altas temperaturas (Inmet, 2022). Essa sazonalidade está relacionada com a proliferação das moscas *Musca conducens* e *Haematobia irritans*, considerados hospedeiros intermediários e vetores do parasita (Miyakawa et al., 2009; Silva et al., 2010).

Resultados semelhantes também foram observados em outros trabalhos, onde foram investigados os aspectos epidemiológicos de diferentes rebanhos pertencentes às regiões Sul e Sudeste do Brasil, em que se averiguou prevalência da doença em 40% do rebanho, corroborando com meses de maiores índices pluviométricos, altas temperaturas e proliferação dos vetores (Miyakawa et al., 2009; Silva et al., 2010; Fonteque et al., 2017). Essas observações também foram averiguadas em outros países, onde os meses com alta umidade e temperatura resultaram em ocorrência da doença em quase 50% do rebanho examinado, constatando maior proliferação dos principais vetores, sendo encontrados vestígios do parasita no interior dos insetos (Singh et al., 2014).

A maioria das lesões localizavam-se nos quartos anteriores ou adjacentes do úbere e próximo aos tetos. Essa observação corrobora com outros estudos que descrevem que no Brasil as lesões ulcerativas oriundas da

doença são predominantes na pele do úbere e dos tetos em bovinos de aptidão leiteira, principalmente durante a lactação (Silva et al., 2010; Miyakawa et al., 2012; Deola Filho et al., 2024).

Apenas um animal neste estudo apresentou lesão na região do peito, sendo que, em outros estudos, as lesões já foram observadas em outras regiões do corpo em bovinos, como região dos olhos, pescoço, escápula, no teto, coxa, base da cauda, garupa e quartela. A variação do local da lesão pode estar relacionada ao comportamento e aos hábitos alimentares dos vetores da *Stephanofilaria* spp. (Novaes et al., 1988; Sutherst et al., 2006; Singh et al., 2014).

Os animais eram mantidos em sistema *free-stall*, alojados em um galpão que possuía iluminação e sistema de ventilação cruzada (*cross ventilation*), com temperatura controlada. A limpeza era realizada 3x ao dia com auxílio de maquinários e *flushing*, durante as ordenhas. Contudo, com a superlotação dos lotes, havia excesso de matéria orgânica, fezes moles e úmidas nas áreas de manejo dos animais. Quando no período de secagem, os animais são condicionados em um sistema semi-intensivo, fora do galpão, onde também era visível grande acúmulo de matéria orgânica (fezes) e fossas de esterco construídas ao lado dos lotes. Todos estes são fatores que contribuíam para a maior incidência de moscas, principalmente no período de maior precipitação pluviométrica (Silva et al., 2010).

A presença de secreção serossanguinolenta, crostas aderidas, sensíveis ao toque e circulares, foram características observadas nas lesões deste estudo. Essas observações condizem com lesões causadas pelo parasita da espécie *Stephanofilaria stilesi*, uma das cinco espécies encontrada nas Américas responsáveis por causar lesões em bovinos. No Brasil, ainda não há informações precisas sobre quais espécies são prevalentes, tornando necessários estudos adicionais para sua identificação (Suthers et al., 2006; Silva et al., 2010; Pazinato et al., 2013).

Neste estudo, não foram realizadas observações relacionadas às características morfológicas do parasita para definir qual era a espécie em específico. Outros estudos descrevem semelhanças morfológicas entre as diferentes espécies conhecidas, tornando mais difícil sua classificação quanto à espécie. (Miyakawa et al., 2010). Sugerem-se mais pesquisas as quais precisam ser realizadas com o objetivo de identificar as características morfológicas entre as espécies da *Stephanofilaria* spp.

Nos animais submetidos ao exame direto por microscopia para confirmação do diagnóstico antes da realização dos protocolos terapêuticos, foi possível a visualização do parasita em 100% das amostras examinadas (Fig. 2). Confirmando a eficácia na identificação do diagnóstico, esse método apresenta baixo custo de execução, além de ser simples e fácil de aplicar. Sua realização exige apenas um microscópio óptico, permitindo que seja conduzido diretamente na propriedade (Miyakawa et al., 2009; Matos et al., 2022). Até o momento, a fazenda não possuía um método para confirmação do diagnóstico.

No presente estudo, observou-se que a utilização da termografia infravermelha (TIV) apresentou, mesmo que em um único momento de avaliação, uma resposta na mensuração de lesões oriundas da estefanofilariose na região do úbere. Até o presente trabalho, não foram encontrados estudos que avaliassem a variação de temperatura em úberes com lesões provenientes de estefanofilariose em vacas lactantes. Sugere-se novos estudos, a fim de verificar se existe correlação ou influência da temperatura do úbere com a enfermidade e sua possível relação com a ocorrência de mastite (Silva et al., 2010; Souza et al., 2022).

Pesquisas já comprovaram que a TIV permite a detecção de alterações sutis da temperatura, auxiliando no diagnóstico precoce de processos inflamatórios antes da visualização de sinais clínicos mais pronunciados, como inchaço ou rubor (Polat et al., 2010; Oliveira et al., 2022; Baccili et al., 2024). Segundo o estudo dirigido por Sathiyabarathi e colaboradores (2016), a TIV pode ser utilizada como uma ferramenta de diagnóstico e monitoramento da saúde do úbere, usada para a detecção de mastite em rebanhos leiteiros. Outros estudos indicam que o aumento da temperatura do úbere pode variar entre 0,8°C e 1,1°C em animais com mastite subclínica e clínica, enquanto alguns relatos mencionam que essa elevação pode atingir até 2,35°C (Polat et al., 2010; Sathiyabarathi et al., 2016).

O estudo também confirmou que a termografia apresenta fácil aplicabilidade, execução, precisão e velocidade de coleta de dados, conforme descrito por Ribeiro et al. (2023). Contudo, necessita-se da contenção física do animal e de pelo menos duas pessoas para execução do procedimento, visto que algumas lesões apresentam difícil localização, por exemplo, entre os quartos do úbere. Diferentemente de outros estudos que não precisaram realizar a contenção para aferição de temperatura do úbere para detectar mastite (Ribeiro et al., 2023; Velasco-Bolanós et al., 2021).

Apesar da falta de informações para uma correlação entre lesões parasitárias e episódios de mastite, acredita-se que esse tipo de lesão e a doença possam estar intimamente ligados, principalmente quando se leva em conta a contaminação bacteriana secundária da lesão e a facilidade de contato com o óstio do teto, principalmente durante a ordenha (Silva et al., 2010).

As terapias das lesões provenientes de estefanofilariose são comumente realizadas diariamente até a completa cicatrização das lesões (Silva et al., 2010; Miyakawa et al., 2012; Fonteque et al., 2017). Contudo, nesta

avaliação optou-se pela realização das aplicações tópicas dos produtos a cada 48 horas, durante a ordenha, com o objetivo de adequar a rotina da propriedade devido ao grande número de animais afetados.

Durante as aplicações tópicas dos produtos sobre as feridas, os animais apresentavam desconforto e aparente irritação ao contato, respondendo com coices e agitação. Porém, ao longo do tratamento, observou-se aparente melhora das lesões do grupo HC, com diminuição da secreção serossanguinolenta, diminuição das sujidades aderidas e diminuição das crostas aderidas. Os funcionários da propriedade também revelaram diminuição do odor fétido das lesões nos dois protocolos propostos. Essa observação também foi notada no estudo conduzido por Deola Filho e colaboradores (2024).

O tratamento de feridas granulomatosas de origem parasitária consiste em eliminar o agente, reduzir a inflamação associada e colaborar com o processo de cicatrização (Pugh et al., 2014). Isso consiste na aplicação de pomadas cicatrizantes, antissépticos, administração de anti-helmínticos por via parenteral ou tópica e, em alguns casos, de realização do desbridamento cirúrgico ou químico (Merlo et al., 2023; Pliego et al., 2023). Em relação aos protocolos de tratamentos, são propostas terapias com administração de substâncias por via tópica com associação de terapia antiparasitária sistêmica, buscando evitar recidivas (Miyakawa et al., 2010). Assim, procedeu-se nesta análise, associando-se um anti-helmíntico reconhecidamente eficaz contra estefanofilariose, levamisol, via parenteral, com dois diferentes tratamentos tópicos.

Nesta pesquisa, optou-se pela utilização do levamisol, uma vez que seu uso já era rotineiro na propriedade e estudos anteriores confirmaram sua eficácia no tratamento de lesões causadas pela estefanofilariose (Rai et al., 1994). Esse anti-helmíntico possui ação contra nematódeos, com boa atividade contra parasitas gastrointestinais adultos e estágios larvares em desenvolvimento, contudo, este não possui ação contra ovos e/ou estágios em que os parasitas se encontram encapsulados (Almeida et al., 2017).

Após a sua aplicação, o levamisol apresenta meia-vida plasmática de quatro horas e sua metabolização ocorre no fígado em metabólitos inativos. Sua eliminação em 40% pela urina ocorre entre 12h-24h (McDonald & Booth 1992; Almeida et al., 2017). Dessa forma, tornar-se-ia necessário mais que as duas aplicações administradas às vacas, considerando a farmacologia do levamisol em relação às dimensões das lesões e o tempo superior a 60 dias para recuperação completa dos animais.

Nesta avaliação, foi respeitado o período de carência seguindo as indicações da bula do medicamento, alternando as aplicações nos animais. Todavia, é importante ressaltar que os tratamentos sistêmicos podem acarretar descarte de leite por um período até 28 dias (ivermectina), e o levamisol tem período de descarte curto (Alvinerie et al., 1987; Toutain, 1988; Ayres & Almeida, 2006).

Ao final dos 60 dias de tratamento, dos 30 (15 de cada grupos) animais submetidos ao exame direto do sedimento, 21 apresentaram resultado positivo, mesmo recebendo as duas aplicações de levamisol por via subcutânea no intervalo de 30 dias. Uma das hipóteses levantadas foi que, devido à meia-vida curta do levamisol, sua ação pode não ter sido suficiente para eliminar todos os parasitas presentes nos animais. Além disso, o medicamento não possui eficácia contra nematódeos encapsulados. Sendo que, durante o período do ciclo larval da *Stephanofilaria* spp., esta apresenta forma encapsulada por uma membrana, sendo assim protegida contra anti-helmínticos (Hibler, 1966; Almeida et al., 2017).

Outra hipótese também averiguada foi a possibilidade de os animais terem sido reinfectados entre o intervalo das aplicações do levamisol, pois a propriedade não possuía nenhuma medida preventiva para o controle de moscas, não interrompendo, portanto, o ciclo da doença. A presença de moscas era perceptível dentro e fora do barracão, principalmente dentro dos lotes onde havia acúmulo de matéria orgânica (fezes) (Sutherst et al., 2006).

Com isso, sugere-se a implementação de ações sanitárias e de biossegurança, a serem incluídas nas medidas de manejo com objetivo de impedir a disseminação dos vetores — como remoção do excesso de fezes de currais, baias, salas de ordenhas e demais ambientes em que ocorra trânsito de animais (Urquhart et al., 1998; Silva et al., 2010).

A classificação das lesões de acordo com a área teve como objetivo observar a evolução das lesões em relação aos protocolos terapêuticos, pois outros estudos evidenciaram que o tamanho influencia no tempo de cicatrização das lesões (Silva et al., 2010; Miyakawa et al., 2012). Dessa forma, avaliar qual o mais indicado de acordo com a extensão da lesão.

Em relação à comparação dos dois protocolos sobre índice de redução, uma hipótese levantada para justificar a ausência de diferença estatística foi a variação entre os diferentes grau de redução da área das lesões, sendo que algumas tiveram pouca redução ou alta redução, enquanto outras não evoluíram.

Observamos que as feridas pequenas de ambos os tratamentos aumentaram a área ao longo do acompanhamento, como observado na figura 3, o que levou ao maior tempo para começar a regredir. Uma das hipóteses levantadas foi que elas apresentavam margens íntegras, mas abaixo no nível da pele havia espaço morto; com a limpeza da ferida com o papel toalha, associada com aplicação tópica dos produtos, houve desbridamento das bordas. O desbridamento da ferida consiste na remoção de tecidos desvitalizados; esse procedimento serve

para remover contaminantes superficiais, permite o exame da profundidade da ferida e reduz o volume de tecido suficiente para permitir o fechamento do ferimento (Theoret et al., 2004).

Outra hipótese verificada seria que as filárias podem migrar do centro da ferida para as bordas, para pele íntegra, como já verificado em outros estudos (Miyakawa et al., 2010; Mattos et al., 2022). Essa migração dificulta a ação tópica dos tratamentos contra o parasita. Outra observação é que feridas de maior extensão apresentam uma absorção mais elevada.

Enquanto as lesões médias e grandes do grupo CON apresentaram diferença significativa na análise da área na comparação entre os momentos, principalmente em D30, apresentando maior diferença entre as médias em comparação com o grupo HC.

Essa observação demonstra que o triclorfon continua sendo uma das escolhas para aplicação tópica no tratamento de lesões provenientes de estefanofilariose (Miyakawa et al., 2012; Pazinato et al., 2013; Fontequ et al., 2017). O mesmo pode ser utilizado em associação com antiparasitário, com objetivo de eliminar o agente e colaborar com a cicatrização. Essa associação foi evidenciada em outros estudos (Silva et al., 2010; Pazinato et al., 2013; Matos et al., 2022).

Neste estudo, a pomada formulada contendo triclorfon misturado com Unguento® era utilizada pela propriedade para o tratamento das lesões, com isso optou-se por mantê-lo. Em nossas observações, a mistura da pasta contendo 500g de triclorfon em 1kg de Unguento® resultou em concentração 33% de triclorfon, sendo alta em comparação a outros estudos que utilizaram a concentração em 6% com resultados eficientes no tratamento de lesões ulcerativas provenientes de estefanofilariose (Miyakawa et al., 2012).

Uma das observações do nosso estudo foi que, durante a preparação da pasta, o Unguento®, por ser um produto mais denso, tornou a diluição do triclorfon mais difícil. Fato que pode ter prejudicado a homogeneidade, dificultando a diluição e assim comprometendo a verdadeira penetração da concentração do triclorfon nas feridas. Diferentemente do estudo conduzido por Miyakawa e colaboradores (2012), em que a mistura com 6% de triclorfon foi com vaselina, sendo uma substância mais fácil para preparação e diluição do triclorfon, tendo melhor homogeneidade.

Uma das vantagens quanto à utilização do Unguento® é seu uso rotineiro para o tratamento de feridas em animais. Este atua também como repelente contra vetores (moscas). Em sua composição, possui permetrina, sendo amplamente utilizado como um inseticida (Nakamura et al., 2007) e óxido de zinco, que atua colaborando no processo cicatricial e também tem a capacidade de degradar tecidos necróticos (Silva et al., 2023).

Nas lesões grandes, o grupo HC apresentou diferença significativa para área, apresentando como uma opção para aplicações tópicas em lesões acima de 25cm², com associação de um antiparasitário. O HoofCare® é utilizado em larga escala em campo para o tratamento de lesões podais em bovinos e teve sua eficácia para o tratamento de dermatite digital comprovada em estudos recentes (Mendonça et al., 2024), sua composição em forma de gel é livre de antibióticos; é composto por antimicrobianos e agentes cicatrizantes (cobre, zinco e óleo essencial de melaleuca).

O óleo essencial de melaleuca é composto de hidrocarbonetos terpenos e sua atividade biológica é atribuída ao terpinen-4-ol, sendo o principal componente do óleo. Dentre as propriedades do óleo, destacam-se ação bactericida, antisséptico, anti-inflamatório, inseticida e imune-estimulante (Souza et al., 2014; Battisti et al., 2021). Tanto o zinco quanto o cobre influenciam no processo de reparação tecidual e apresentam forte ação antimicrobiana (Polefka et al., 2012; Hobman & Crossman 2014). Estudos evidenciam que a aplicação tópica de íons de cobre sobre feridas estimula de forma direta ou indireta fatores importantes para a proliferação de queratinócitos e fibroblastos, síntese de colágeno. Estimulam a angiogênese por meio da indução do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), remodelamento da matriz extracelular e estabilização das proteínas extracelulares da pele, resultando na aceleração da cicatrização de feridas (Borkow et al., 2010, 2014; Salvo & Sandoval, 2022).

Além disso, o cobre possui ação antibacteriana, agindo sobre bactérias gram positivas e negativas, e outros micro-organismos. Dentre os mecanismos de ação incluem: morte por contato direto e danos causados pela exposição a íons de cobre liberados, danos da camada fosfolipídica dos microrganismos, proteínas da membrana e ácidos nucleicos (Borkow et al., 2010, 2014; Bleichert et al., 2014).

Ao mesmo tempo, o cobre também possui ação abrasiva, antisséptica e cáustica, debrida o tecido de granulação através de necrose tecidual, podendo prorrogar o tempo do processo cicatricial (Silva et al., 2007; Theoret et al., 2016; Resende et al., 2019). Dessa forma, a melhora observada no subgrupo das feridas maiores, nos primeiros 30 dias, poderia encontrar explicação, sendo neste período realizado o debridamento da ferida. Entretanto, após os 30 dias, o cobre pode ter atrapalhado o processo cicatricial, especialmente a epitelização das feridas, devido à ação do cobre. De modo similar à estefanofilariose, a habronemose cutânea é uma enfermidade causada por larvas do nematódeo *Habronema* spp. e caracteriza-se pela presença de lesões granulomatosas que não cicatrizam devido à presença do agente. Observa-se que em ambas as doenças ocorre uma reação inflamatória crônica devido à presença dos parasitas vivos ou mortos nos tecidos, que impedem o processo de cicatrização das

lesões, pois a constante presença do parasita estimula a formação do tecido de granulação exuberante e mantém o processo inflamatório ativo, impedindo a progressão da cicatrização (Hargis & Ginn, 2013; Mauldin & Kennedy, 2016). O tratamento de feridas granulomatosas de origem parasitária consiste em reduzir o tamanho da lesão, reduzir a inflamação associada às lesões e eliminar o agente (Pugh et al., 2014)

Pesquisas anteriores indicam que o tratamento de lesões ulcerativas de origem parasitária busca reduzir o processo inflamatório, favorecer a cicatrização das lesões e eliminar o parasita. Esse manejo consiste na aplicação de pomadas cicatrizantes, antissépticos, administração de anti-helmínticos por via parenteral ou tópica e em alguns casos na realização do desbridamento cirúrgico ou químico (Merlo et al., 2023; Pliego et al., 2023).

Estudos anteriores evidenciaram a eficácia da associação de aplicação por via parenteral de antiparasitário com aplicação tópica de substâncias que cooperam com a cicatrização de lesões cutâneas provenientes de estefanofilariose (Rai et al., 1994; Silva et al., 2010). Contudo, é importante observar que o tempo de cicatrização das lesões está diretamente relacionado ao seu tamanho (Silva et al., 2010; Miyakawa et al., 2012).

Em ambos os protocolos terapêuticos, o período de 60 dias não foi o suficiente para que ocorresse a consolidação da cicatrização da maioria das lesões nos diferentes tamanhos. Dessa forma, sugere-se a continuidade das aplicações tópicas e administração subcutânea do levamisol, focando não só apenas na cicatrização das lesões, mas também na eliminação do agente. Pois a presença dos parasitas vivos ou mortos nos tecidos impede o processo de cicatrização das lesões, mantendo o processo inflamatório ativo e impedindo a progressão da cicatrização (Hargis & Ginn, 2013; Mauldin & Kennedy, 2016).

Uma sugestão observada para a realização de pesquisas futuras seria a aplicação da pasta de triclorfon e Hoofcare® em diferentes momentos, a fim de avaliar qual o melhor período para a aplicação de ambos sobre as lesões.

CONCLUSÃO

Os protocolos de aplicações tópicas a cada 48 horas de HoofCare® e pasta formulada (Unguento® com Tricloril®) com associação de duas aplicações 7,5 mg/kg de levamisol foram pouco eficazes no tratamento de feridas cutâneas de diferentes dimensões, na região do úbere ou adjacentes oriundas de estefanofilariose. Havendo a necessidade de prolongar o tratamento acima de 60 dias e de se instituir aplicações sucessivas de levamisol, sendo o número de aplicações condicionadas as dimensões das lesões. O tratamento tópico deve ser sempre associado ao parenteral e procedido até a completa cicatrização da ferida.

REFERÊNCIAS

- Ackermann M.R. 2013. Inflamação e Cicatrização, p.320-329. In: James F. Zachary & M. Donald McGavin, **Bases da Patologia em Medicina Veterinária**, 5ª ed., Elsevier Edi.
- Almeida MAO, Ayres MCC, Santarem VA & Lambert SM 2017. Agentes Antinematódeos. Cap.44, p. 860-864. In: Spinosa H.S. et al. **Farmacologia aplicada a Medicina Veterinária**, 6ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Alvinerie M, Sutra JF, Galtier P, Toutain PL. Determination of ivermectin in milk by high performance liquid chromatography. *Annales de Recherches Vétérinaires* 1987; 24:288-291.
- Ayres MCC. & Almeida MAO. 2006.Considerações gerais sobre os anti-helmínticos. Cap.43, p.519-526.In: Spinosa H.S. et al. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Battisti MA, Caon T & Campos AM. 2021. A short review on the antimicrobial micro- and nanoparticles loaded with *Melaleuca alternifolia* essential oil. *J. Drug Deliv. Sci. Technol*, 2021; <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102283>
- Bain O, Van Der Lugt J & Kazadi LM. *Stephanofilaria boomkeri* n.sp., as a cause of severe skin disease in pigs in Zaire. *Parasite*. 1996; <https://doi.org/10.1051/parasite/1996034377>
- Bleichert P, Espirito SC, Hanczaruk M, Meyer H. & Grass G. Inactivation of bacterial and viral biothreat agents on metallic copper surfaces. *Biometals.*, 2014; DOI: 10.1007/s10534-014-9781-0
- G Borkow, Gabbay J, Dardik R, Eidelman AI, Lavie Y, Grunfeld Y, Ikher S, Huszar M, Zatcoff RC & Marikovsky M. Molecular mechanisms of enhanced wound healing by copper oxide-impregnated dressings, *Wound Rep. Reg.* 2010; <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2010.00573.x>.
- G Borkow. Using Copper to Improve the Well-Being of the Skin. *Curr. Chem. Biol.*, 2014; DOI: 10.2174/2212796809666150227223857.
- Deola Filho P, Werle CH & Fukumoto NM. Estefanofilariose em bovinos leiteiros – relato de caso. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 2024; <https://doi.org/10.51891/rease.v10i10.16027>

- 593 Fonteque JH, Schade J, Silva Casa M, Lovatel JC, Granella MCS & Casagrande RA.2017. Estefanofilariose em bovinos
594 de corte: relato de casos. Rev. Acad. Ciênc. Ani., 2017;
595 <https://doi.org/10.7213/cienciaanimal.v15iSuppl%202.16758>
- 596 Hargis AM & Ginn PE. O Tegumento. In: James F. Zachary & M. Donald McGavin Bases da Patologia em Medicina
597 Veterinária, 5th ed., ST Louis: Elsevier; 2013.
- 598 Hibler CP. Development of *Stephanofilaria stilesi* in the horn fly. J Parasitol 1966;
599 <https://doi.org/10.2307/3276527>
- 600 Hobman JL. & Crossman LS. Bacterial antimicrobial metal ion resistance. J. Med. Microbiol 2014;
601 <https://doi.org/10.1099/jmm.0.023036-0>.
- 602 Islam M, Azad L, Akther M, Sen A, Avi R & Juli M. Dermatopathological study of stephanofilariasis (humpsore) in
603 cattle and its therapeutic approaches. IJCRLS 2018;7(6):2314-2319.
- 604 Johnson SJ, Parker RJ, Norton JH, Jaques PA & Grimshaw, AA. Stephanofilariasis in cattle. Aust. Vet. J 1981;
605 <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1981.tb00544.x>
- 606 Loke Y & Ramachandran C.1967.The pathology of lesions in cattle caused by *Stephanofilaria kaeli* Buckley. J
607 Helminthol 1967; <https://doi.org/10.1017/S0022149X0002157X>
- 608 Mauldin EA & Kennedy JP. Integumentary system. In: Maxie M.G., Jubb, Kennedy and Palmer's. Pathology of
609 Domestic Animals. 6th ed. Vol.2. Elsevier, St Louis, Missouri; 2016.
- 610 Matos JKO, Maldaner SR, Gruchouskei L, Machado LP, Zuliani F, Cavalca AMB, Alves CEF & Elias F. 2022.
611 Stephanofilariasis in Holstein Cows – Diagnostic Approach. Acta Sci Vet 2022; [https://doi.org/10.22456/1679-](https://doi.org/10.22456/1679-9216.118203)
612 [9216.118203](https://doi.org/10.22456/1679-9216.118203)
- 613 Merlo VD, Maciel SC, Jadjescki CAR, Aguiar TN, Salvador AZ, Rondon DA, Melotti VD & Pereira CM. Habronemose
614 cutânea equina no extremo sul da Bahia. BJAER 2023; <https://doi.org/10.34188/bjaerv6n2-011>
- 615 Miyakawa VI, Reis ACF & Lisbôa JAN. Aspectos epidemiológicos e clínicos da estefanofilariose em vacas leiteiras.
616 Arch Vet Sci Supl 2007; 12:171-172.
- 617 Miyakawa VI, Reis ACF & Lisbôa JAN.2008. Aspectos clínicos e diagnóstico da estefanofilariose em vacas leiteiras.
618 Rev Bras Parasitol Vet 2008; 17(1):172-174
- 619 Miyakawa VI, Reis ACF & Lisbôa JAN. 2009. Aspectos epidemiológicos e clínicos da estefanofilariose em vacas
620 leiteiras e comparação entre métodos de diagnóstico. Pesq Vet Bras 2009; [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009001100004)
621 [736X2009001100004](https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009001100004).
- 622 Miyakawa VI, Reis ACF & Lisbôa JAN. Estefanofilariose em bovinos. Rev Ciênc Agrár 2010;
623 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n2p479>.
- 624 Miyakawa VI, Reis ACF & Lisboa JAN. 2012. Comparação entre protocolos de tratamento para a estefanofilariose
625 em vacas leiteiras. Semina. Ciênc. Agrár 2012; DOI: [10.5433/1679-0359.2012v33n1p343](https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n1p343).
- 626 Moura RBR, Mendonça APA, Teodoro PHM, Revetti R, Cestari H, Rodrigues CA. Avaliação da eficácia de dois
627 tratamentos tópicos para a estefanofilariose em vacas holandesas (II Simpósio Internacional em Sanidade
628 Bovina, São Paulo). Anais II Simpósio Internacional em Sanidade Bovina, 2024, 104 (Resumo).
- 629 McDonald LE & Booth NH. Quimioterápico Parasitology Disease. In: Veterinary Pharmacology and the Therapeutic.
630 6th, Iowa: University Press. 1992
- 631 Nakamura Y, Sugihara K, Soneb T, Isobeb M, Ohtaa S & Kitamura S. The in vitro metabolism of a pyrethroid
632 insecticide, permethrin, and its hydrolysis products in rats. Enviro. Res 2007;
633 <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.03.016>.
- 634 Naseem MN, Raza A, Allavena R, McGowan M, Morgan JAT, Constantinoiu C, Tabor AE & James P. Development and
635 validation of novel PCR assays for the diagnosis of bovine stephanofilariasis and detection of *Stephanofilaria*
636 sp. nematodes in vector flies. Pathogens 2021; <https://doi.org/10.3390/pathogens10091211>.
- 637 Novaes AP, Costa AJS, Barbosa RT, Moreira DP, Ruzza FJ. Dermatite ulcerosa em bovinos provocada por
638 *Stephanofilaria*. Pesq Agropec Bras 1988 3(8):927-929.
- 639 Novaes AP, Bagnato VS, Miyashida AY, Flores FLE & Kurachi C. Estefanofilariose: uma zoonose. São Carlos:
640 Embrapa Instrumentação Agropecuária 2006; 21:14.
- 641 Pazinato R, Klauck V, Lopes LS, Stefani LM & Silva AS. Stephanofilariases in dairy cattle: the need for early diagnosis
642 and treatment. Veterinária e Zootecnia 2013; 20(4): 582-587.
- 643 Polefka TG, Bianchini RJ & Shapiro S. Interaction of mineral salts with the skin: a literature survey. Int J Cosmet Sci
644 2012; DOI: [10.1111/j.1468-2494.2012.00731.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2012.00731.x)
- 645 Pugh DG, Hu XP & Blagburn B. Habronemiasis: biology, signs, and diagnosis, and treatment and prevention of the
646 nematodes and vector flies. J Equine Vet Sci 2014; <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.06.004>.
- 647 Pliego CM, Silva NC, Turner SP & Oliveira AIC. Utilização da criocirurgia no tratamento de habronemose cutânea
648 em equino. Braz J Dev 2023; <https://doi.org/10.34117/bjdv9n4-072>.
- 649 Rai RB, Ahlawat SPS, Singh S & Nagarajan V. Levamisole hydrochloride: an effective treatment for stephanofilarial
650 dermatitis (Humpsore) in cattle. Trop Anim Health Prod 1994; <https://doi.org/10.1007/BF02241079>

- 651 Resende C, Aguiar DF, Dias AMN & Oshio LT. Uso de triancinolona no tratamento do tecido de granulação
 652 exuberante em equinos: Relato de três casos clínicos. PUBVET 2019;
 653 <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n6a358.1-8>.
- 654 Sathiyabarathi M, Jeyakumar S, Manimaran A, Jayaprakash G, Pushpadass HA, Sivaram M, Ramesha KP, Das DN,
 655 Kataktaalware MA, Arul Prakash M. & Dhinesh Kumar R.2016. Infrared thermography: A potential noninvasive
 656 tool to monitor udder health status in dairy cows. Vet World 2016;
 657 <https://doi:10.14202/vetworld.2016.1075-1081>.
- 658 Salvo J & Sandoval C. Role of copper nanoparticles in wound healing for chronic wounds: literature review, Burns
 659 Trauma 2022; <https://doi.org/10.1093/burnst/tkab047>.
- 660 Silva LAF, Rabelo RE, Fioravanti MCS, Silva MAM, Moura MI, Trindade BR, Franco LG, Soares LK & Barbosa VT.
 661 Dermatite digital bovina: avaliação de um protocolo terapêutico e cirúrgico para lesões nas fases inicial, erosiva
 662 e verrucosa. ARS Veterinária 2007; <https://doi.org/10.15361/2175-0106.2007v23n1p23-31>.
- 663 Silva LAF, Rabelo RE, Moura MI, Fioravanti MCS, Borges LMF & Lima CRO. Epidemiological aspects and treatment
 664 of para sitic lesions similar to *Stephanofilariasis* disease in nursing cows. Ciênc Agrár 2010;
 665 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n3p689>
- 666 Silva LL, Almeida R, Verícimo MA, Macedo HW & Castro HC. Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca
 667 (*melaleuca alternifolia*). Uma revisão de literatura. Braz J Health Ver 2019;
 668 <https://doi.org/10.34119/bjhrv2n6-094>.
- 669 Silva MAG, Mendonça CC, Canola PA, Sousa LF, Lopes PLB, Ribeiro APC & Almeida KS. Eficácia de produto à base
 670 de alantofina e óxido de zinco na cicatrização cutânea de feridas induzidas em equinos. Ciênc. Anim 2023;
 671 33(4):1-09.
- 672 Singh KS, Mukhopadhyay SK, Majumder S, Laha R, Niyogi D & Ganguly S. Study on different aspects of
 673 stephanofilarial dermatitis infection in cattle population of West Bengal. IIOAB J 2014; 5:19-22.
- 674 Souza ME, Lopes LQS, Vaucher RA, Mario DN, Alves SH, Agertt VA, Bianchini BV, Felicidade SL, Campus MMA.,
 675 Boligon AA, Athayde ML, Santos CG, Raffin RP, Gomes P & Santos RCV. Antimycobacterial and antifungal
 676 activities of *Melaleuca alternifolia* oil nanoparticles. J Drug Deliv Sci Technol 2014;
 677 [https://doi.org/10.1016/S1773-2247\(14\)50105-0](https://doi.org/10.1016/S1773-2247(14)50105-0).
- 678 Souza HM, Zaniboni AE, Viana AMN, Veras SVA & Araújo LRS. Termografia infravermelha aplicada ao diagnóstico
 679 de mastite subclínica. Ciênc. Animal 2022; <https://doi.org/10.1590/1809-6891v24e-76726E>
- 680 Sutherst RW, Bourne AS, Maywald GF & Seifert GW. Prevalence, severity and heritability of *Stefanofilaria* lesions
 681 on cattle in central and southern Queensland. Aust J Agric Res 2006; <https://doi.org/10.1071/AR05265>
- 682 Taylor MA, Coop RL & Wall RL. Helminthologia Veterinária. In: Parasitologia Veterinária. Tradução da 4ª edi., Rio
 683 de Janeiro. Editora Guanabara Koogan; 2017.
- 684 Toutain PL. Kinetic and insecticidal properties of ivermectin residues in the milk of dairy cows. J Vet Pharmacol
 685 Ther 1988; Doi: 10.1111/j.1365-2885.1988.tb00155.x
- 686 Theoret C. & Wilkink JM. 2016. Exuberant granulation tissue. In: Theoret C. & Shumacher J. Equine wound
 687 management. 3th, New Jersey: Wiley-Blackwell; 2016.
- 688 Theoret CL. Wound repair in the horse: problems and proposed innovative solutions. Clinical Techniques in Equine
 689 Practice 2004; <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2004.08.010>.
- 690 Urquhart GM, Armour J, Ducan JL, Dunn AM & Jennings FW. Parasitologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara
 691 Koogman; 1998.
- 692 Ueno H, Chibana T & Yamashiro E. Occurrence of chronic dermatitis caused by *Stephanofilaria okinawaensis* on
 693 the teats of cows in Japan. Vet Parasitol 1977; [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(77\)90006-1](https://doi.org/10.1016/0304-4017(77)90006-1).
- 694 Ueno H & Chibana T. *Stephanofilaria* caused by *S. okinawaensis* of cattle in Japan. JARQ 1978; 12(3):152-156.