

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONCENTRAÇÕES DE OXITETRACICLINA DE LONGA AÇÃO VIAS
SISTÊMICA OU TÓPICA NO LEITE, LÍQUIDO SINOVIAL E PLASMA
DE VACAS ACOMETIDAS DE DERMATITE DIGITAL
PAPILOMATOSA

MARCOS GOMES LOUREIRO

BOTUCATU – SP
Setembro 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CONCENTRAÇÕES DE OXITETRACICLINA DE LONGA AÇÃO VIAS
SISTÊMICA OU TÓPICA NO LEITE, LÍQUIDO SINOVIAL E PLASMA
DE VACAS ACOMETIDAS DE DERMATITE DIGITAL
PAPILOMATOSA

MARCOS GOMES LOUREIRO

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina
Veterinária para obtenção de
título de Mestre em Cirurgia
Veterinária.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Celso Antonio Rodrigues

BOTUCATU – SP
Setembro 2007

Botucatu, 28 de Setembro de 2007

Comissão Examinadora

Nome: Prof. Dr. José Luiz de Mello Nicoletti

Assinatura: _____

Nome: Prof. Dr. José Wanderley Cattelan

Assinatura: _____

Nome: Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

Assinatura: _____

DEDICO

Á minha Esposa Vanessa

Pelos momentos de força e compreensão

Pelas ausências em momentos importantes de sua vida

Pelos estímulos nos momentos tristes

Para todos os objetivos e empreitadas

Por tudo que é para mim.....

OFEREÇO

Aos meus Pais

Alfredo, Marlene

Aos meus Irmãos

Carlos, Rita, Tereza e Luciano

Pelos bons exemplos e constantes lições de vida

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues, que além de Amigo em todos os momentos, principalmente nas consultorias emergenciais, foi fundamental para a realização deste projeto.

Aos Prof. Dr. Nicoletti e Prof. Dr. Hussni pelas excelentes recomendações e observações durante a qualificação.

À Prof. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento e a Dra. Cláudia Steban pelas análises laboratoriais.

Aos colegas de pós-graduação de Araçatuba, Carolina Ribeiro Anhesini, Lucrecia Pereira Wienen e principalmente ao colega Marcelo Marcarian Cristófaru pelo auxílio e colaboração durante as coletas e manipulação das amostras.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pelo auxílio financeiro.

Ao Laboratório Tortuga Companhia Zootécnica Agrária pelo auxílio financeiro e confiança no projeto.

Ao Sr. João Abdalla Neto, proprietário da Fazenda São Joaquim, produtora do leite tipo A Milk Mel, que concedeu os animais e as instalações para a realização do projeto.

Aos Srs. Itamar de Oliveira, Luis Carlos Bonfim e os vigilantes noturnos da propriedade pela confiança, logística e segurança durante as coletas.

À Profa. Dra. Marta Maria Círchia Pinto Luppi, pela compreensão durante os momentos de ausência da Clínica para as aulas em Botucatu.

Aos funcionários, amigos e alunos da Clínica Veterinária da UNIP/Campinas pelos momentos de ausência e sobrecarga com o tratamento dos animais internados.

À seção de pós-graduação pelos esclarecimentos e compreensão durante o curso.

Aos meus Pais e Irmãos pelo empenho e apoio durante o curso de graduação e pós-graduação.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Animais do Grupo 1, submetidos ao tratamento tópico com oxitetraciclina em pó, com os respectivos graus de lesão e claudicação pré e pós - tratamento, em relação aos membros acometidos	16
TABELA 2 – Animais do Grupo 2, submetidos ao tratamento injetável com oxitetraciclina longa ação (L/A), com os respectivos graus de lesão e claudicação pré e pós-tratamento, em relação aos membros acometidos	19
TABELA 3 – Valores individuais, médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento, no leite de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2)	23
TABELA 4 – Valores individuais, médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento, no líquido sinovial de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2)	26
TABELA 5 – Valores individuais, médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento, no plasma de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2).	29
TABELA 6 – Valores médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento no leite, líquido sinovial e plasma de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2)	32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estábulo semicoberto onde os animais de ambos os grupos permaneceram durante o experimento	7
FIGURA 2 – Brete adaptado para casqueamento utilizado para as coletas durante o experimento. A vaca permaneceu em estação durante os procedimentos	11
FIGURA 3 – Animal com o membro contido para coleta de líquido sinovial do membro em avaliado	12
FIGURA 4 – Animal do Grupo 1, durante a troca de bandagem, apresentando oxitetraciclina em pó, concentrada sobre a lesão	15
FIGURA 5 – Animal número 344 submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pré-tratamento	17
FIGURA 6 – Animal número 344 submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pós-tratamento (M23)	17
FIGURA 7 – Animal 346, submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pré-tratamento	18
FIGURA 8 – Animal 346, submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pós-tratamento (M23)	18
FIGURA 9 – Animal 373 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica (Grupo 2): pré-tratamento (M23)	20
FIGURA 10 – Animal 373 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica (Grupo 2): pós-tratamento (M23)	20
FIGURA 11 – Animal 432 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica (Grupo 2): pré-tratamento	21
FIGURA 12 – Animal 432 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica (Grupo 2): pós-tratamento (M23)	21

FIGURA 13 – Representação gráfica da distribuição ao longo do tempo dos valores individuais da concentração de oxitetraciclina (ng/ml) no leite de vacas acometidas por DDP e submetidas ao tratamento sistêmico (Grupo 2) 24

FIGURA 14 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento no leite de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2) 25

FIGURA 15 – Representação gráfica da distribuição ao longo do tempo dos valores individuais da concentração de oxitetraciclina (ng/ml) no líquido sinovial de vacas acometidas por DDP e submetidas ao tratamento sistêmico (Grupo 2) 27

FIGURA 16 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento no líquido sinovial de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2) 28

FIGURA 17 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento no plasma de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2) 30

FIGURA 18 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento, no plasma de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2) 31

LISTA DE ABREVIATURAS

DDP	Dermatite Digital Papilomatosa
L/A	Longa ação
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MPD	Membro Pélvico Direito
MPE	Membro Pélvico Esquerdo
CIM	Concentração Inibitória Mínima
LMRs	Limites Máximos Residuais
IM	Via Intramuscular
IV	Via Intravenosa
EPM	Erro Padrão da Média
PNCRB	Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos
PVPI	Polivinil Pirrolidona Iodo

SUMÁRIO

	Página
1 – INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.	1
2 – OBJETIVOS.	6
3 – MATERIAL E MÉTODOS.	7
3.1 – Animais e grupos.	7
3.2 – Organograma experimental.	8
3.3 – Procedimentos.	9
3.4 – Determinação das concentrações de oxitetraciclina nas amostras de leite, líquido sinovial e plasma.	13
3.5 – Análises estatísticas.	14
4 – RESULTADOS.	15
5 – DISCUSSÃO.	33
6 – CONCLUSÕES.	39
7 – REFERÊNCIAS.	40

LOUREIRO, M.G. CONCENTRAÇÕES DE OXITETRACICLINA DE LONGA AÇÃO VIAS SISTÊMICA OU TÓPICA NO LEITE, LÍQUIDO SINOVIAL E PLASMA DE VACAS ACOMETIDAS DE DERMATITE DIGITAL PAPILOMATOSA. Botucatu, 2007. 57p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

RESUMO

A Dermatite Digital Papilomatosa (DDP) é uma enfermidade com etiologia bacteriana associadas às espiroquetas. O tratamento consiste na administração de antimicrobianos parenterais ou tópicos, destacando-se especialmente as tetraciclina. Os objetivos deste trabalho foram analisar e comparar a eficiência do tratamento tópico e sistêmico com oxitetraciclina em vacas acometidas por DDP, e a presença de resíduos deste antimicrobiano no leite e suas concentrações no líquido sinovial e plasma. Foram utilizadas 8 vacas no grupo 1 tratadas topicamente e 8 no grupo 2 tratadas por via sistêmica. As amostras foram coletadas nos momentos M_0 : anterior aos tratamentos, M_1 : 6 horas pós-tratamento, M_2 : 12 horas após, e em intervalos de 12 horas até o M_{23} . A eficiência dos tratamentos foi avaliada através do grau de claudicação e da extensão da lesão. As concentrações do antimicrobiano de oxitetraciclina foram determinadas por HPLC. As vacas do Grupo 1 apresentaram redução das lesões e no grau de claudicação e as do grupo 2 não demonstraram melhora nas lesões e elevação no grau de claudicação. As concentrações avaliadas em leite, líquido sinovial e plasma no Grupo 1, revelaram valores abaixo dos limites de detecção estabelecidos pelo HPLC. A avaliação dos resíduos de oxitetraciclina no leite do Grupo 2, entre M_1 e M_{23} , encontram-se acima dos limites máximos estabelecidos pela legislação. Conclui-se que a oxitetraciclina em pó foi eficiente para o tratamento de DDP e não apresenta resíduos em plasma, líquido sinovial e leite e que o tratamento sistêmico apresenta baixa eficiência e elevadas concentrações no leite.

Palavras chave: Dermatite Digital Papilomatosa, vacas, oxitetraciclina, resíduos, HPLC.

LOUREIRO, M.G. CONCENTRATION OF OXITETRACYCLINE THE LONG ACTION SYSTEMIC OR TOPICAL IN THE MILK, SINOVIAL LIQUID AND PLASMA IN COWS WITH PAPILLOMATOUS DIGITAL DERMATITIS. Botucatu, 2007. 57p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

ABSTRACT

Papillomatous digital dermatitis (PDD) is a restricted digital disease caused by a spirochete-like and other bacterias. The treatment consists of administrating systemic or topics antibiotics, especially tetracyclines. With this work it is intended to compare the efficiency of the topical and systemic treatment with oxitetracycline in cows with PDD and analyze the presence of residues of this antibiotic in the milk and its concentration in the sinovial liquid and plasma. The total of 16 lactating cows with PDD were divided in 2 treatment groups. The samples were obtained in the moments M0: previous to the treatments, M1: 6 hours pos treatment, M2: 12 hours after treatment, and in intervals of 12 hours after treatment until M23. The efficiency of the treatment was evaluated through the lameness degree and the extension of the lesion. The assayed for oxitetracycline content was measured by means of HPLC. The cows of the Group 1 presented reduction of the lesions and in the lameness degree. Cattle of the Group 2 did not demonstrate improvement in the lesions and showed elevation in the lameness degree. The concentration of sinovial fluid and plasma in the milk of cows belonging to Group 1 revealed values below the established detection limits for HPLC in milk. The evaluation of the residues of oxitetracycline in the milk of the Group 2, between M1 and M23, were above the maximum limits established by legislation. As a matter of conclusion it is argued that the powdered oxitetracycline was efficient for the treatment of PDD and it does not present residues in milk, level of plasma or sinovial fluid. Otherwise, the systemic treatment presents low efficiency and high concentration of such substance in the milk.

Key words: Papillomatous digital dermatitis, cattle, oxitetracycline, residues, HPLC.

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A abertura da economia para o mercado internacional aumentou a concorrência e passou a exigir maior qualidade e produtividade nos diversos segmentos produtivos. Na pecuária leiteira brasileira, os criadores com o propósito de alcançar estes avanços, vêm implementando métodos de produção modernos, muitas vezes de forma inadequada, e podem estar influenciando de maneira favorável, as condições para o desenvolvimento das enfermidades podais (SILVA et al., 2001). As afecções que induzem as claudicações constituem-se em um dos mais importantes problemas que acometem a espécie bovina, sendo superadas somente pelos problemas reprodutivos e pelas infecções na glândula mamária, implicando assim em prejuízos econômicos significativos ao agronegócio (BAGGOTT; RUSSELL, 1980; CLARKSON et al., 1996; DESROCHERS et al., 1995; GREENOUGH et al., 1997; NAVARRE et al., 1999; NUSS; WEAVER, 1991; STANEK, 1994; WHITAKER et al., 1983). Os prejuízos decorrentes de enfermidades podais são imensos e preocupantes, pois são conhecidos os seus efeitos deletérios, contribuindo para a diminuição da produção leite, perda de peso, alteração de conversão alimentar, infertilidade, custos veterinários, além das alterações de manejo introduzidas na propriedade para o tratamento dos animais acometidos e no descarte prematuro dos animais (DIRKSEN; STOBBER, 1981). As despesas com tratamentos, serviços veterinários podem chegar, respectivamente, a 7,92%, 38,39% e 51,77 do custo total da produção da fazenda durante o ano (BORGES; MÁRSICO, 1995).

Ao analisar as infecções podais devemos considerar as bactérias como etiologia principal. Entre estas se destacam o *Arcanobacterium pyogenes* (anteriormente denominado *Actinomyces pyogenes*) (G- anaeróbica facultativa) freqüentemente encontrados, *Streptococcus* spp. (G+), *Salmonella* spp. (G-), *Escherichia coli* (G-), *Proteus* sp (G-) e *Fusobacterium necrophorum* (G- anaeróbico). Menos freqüentemente as infecções podem ser causadas por *Staphylococcus* spp. (G+), *Erysipelothrix* spp. (G+), *Pseudomonas* spp. (G-),

Pasteurella spp. (G-), *Haemophilus* spp. (G-), *Dichelobacter nodosus* (G- anaeróbico), *Brucella* spp. (anaeróbico) e *Mycoplasma* spp. As infecções mistas contendo bactérias aeróbicas G- associadas a anaeróbicas ou G+ aeróbicas são comumente observadas (KASARI et al., 1988; TRENT; REDIC-KILL, 1997).

Os resultados insatisfatórios obtidos no tratamento das doenças podais dos bovinos, mediante a administração parenteral de antimicrobianos, devem-se em parte à diminuição do pH tecidual causada pelos processos infecciosos, produção de enzimas proteolíticas pelas bactérias e células inflamatórias e pela formação de coágulos de fibrina que favorecem a permanência de microorganismos viáveis. Outro ponto importante a ser considerado é que o tecido ósseo é composto por tecido conjuntivo denso, que apresenta suprimento sangüíneo limitado e drenagem venosa e linfática reduzidas. Assim, as rotas de eliminação do material necrótico são restritas (ORSINI, 1984; TRENT; REDIC-KILL, 1997). Os ligamentos e tendões também apresentam suprimento sangüíneo reduzido, mas adicionalmente possuem habilidade limitada para regenerar-se (ANDERSON et al., 1996; HONNAS et al., 1991; TRENT; REDIC-KILL, 1997). Desta forma, a escolha de um antimicrobiano deve estar baseada na sensibilidade microbiana à substância e também nas suas características farmacocinéticas, devendo esta escolha recair sobre uma substância de amplo espectro de ação e capaz de atingir concentrações elevadas nos diversos tecidos acometidos em uma infecção podal (FERGUSON, 1997; HONNAS et al., 1991; ORSINI, 1984; TRENT; REDIC-KILL, 1997), como por exemplo, o ceftiofur sódico e a oxitetraciclina (MORCK et al., 1998).

No entanto, a terapia antimicrobiana sistêmica implica na presença de resíduos nos tecidos e leite, resultando na necessidade de se descartar o leite e retardar o descarte do animal quando do insucesso do tratamento nos animais, sendo este intervalo variável, dependendo do período de carência de cada antimicrobiano (BROWN et al., 1986; CHERLET et al., 2000; HADDAD et al., 1986a; HADDAD et al., 1986b; MORCK et al., 1998; PEDERSOLI et al., 1995; STANEK, 1994; TYCZKOWSKA et al., 1993). Esses resíduos presentes nos

alimentos podem causar reações alérgicas em indivíduos sensíveis e a seleção de cepas bacterianas resistentes (BRADY; KATS, 1992; BRADY, et al., 1993). Deve-se atentar também para as lesões nos locais de aplicação que podem causar a remoção excessiva de retalhos musculares durante o abate dos animais (STANEK, 1994). O que se deve questionar, no entanto, não é somente a presença destes resíduos, mas sim o tipo e as concentrações dos mesmos, devendo estes se encontrar dentro de limites máximos de resíduos (LMRs), estabelecidos no Brasil pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal (PNCRB), dando a estes valores margem de segurança, suficiente para que garanta a qualidade do produto de origem animal (PALERMO NETO, 2001). Este programa estabelece que LMR para a oxitetraciclina é de 100 ng/ml (equivalente a 100 ppb) para a somatória das tetraciclinas (BRASIL, 1999).

O tratamento tópico com substâncias antimicrobianas, associadas ou não a bandagens, apresenta resultados satisfatórios frente a diversas enfermidades podais. Além disso, esta via de aplicação resulta em baixas concentrações de oxitetraciclina quando aplicado sob a forma de spray (BRITT, et al., 1999). Contudo, em propriedades onde há alta incidência destas enfermidades no rebanho, o tratamento com a utilização de bandagem deverá ser substituído por outro de maior praticidade.

Dentre as diversas enfermidades podais dos bovinos, tem-se destacado a Dermatite Digital Papilomatosa (DDP), doença primeiramente descrita na Itália, por Cheli e Mortelaro (1974), sendo também reportada em vários países (ARGAEZ-RODRIGUEZ et al., 1997; BROWN et al., 2000; KOFLER, 1997; RODRÍGUEZ-LAINZ et al., 1996a; RODRÍGUEZ-LAINZ et al., 1996b; RODRÍGUEZ-LAINZ et al., 1998; RODRÍGUEZ-LAINZ et al., 1999; WELLS et al., 1999). Vários nomes têm sido utilizados para descrever a DDP, incluindo dermatite digital, papilomatose interdigital e dermatite verrucosa (BERRY, 2001; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1995).

Recentes estudos no Brasil revelam que a incidência de animais

acometidos de DDP nos rebanhos pode variar de 24% (SILVA et al., 2001) a 36,8% (SILVA et al., 2004), sendo, portanto considerada como a principal enfermidade podal observada em rebanhos leiteiros.

Estudos epidemiológicos têm identificado que determinadas condições ambientais e de manejo, possam predispor novilhas leiteiras à doença. Citam-se como exemplos destas condições o peso das novilhas, tipo de piso (concreto), introdução de animais no rebanho sem adoção de medidas profiláticas (SILVA, 2004) e o casqueamento (ARGAEZ-RODRIGUEZ et al., 1997; CHELI; MORTELLARO, 1974; KOFLER, 1997; RODRÍGUEZ-LAINZ et al., 1996a; WELLS et al., 1999). Assim, a DDP apresenta-se como uma doença multifatorial, onde as condições de higiene precárias são predisponentes e no qual as espiroquetas podem estar primariamente envolvidas (BERRY, 2001; CRUZ, et al., 2005; FAJT; APLEY, 2001; GRUND et al., 1995; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999). Devido à marcante suscetibilidade das lesões causadas pela DDP, quando da administração tópica ou parenteral de alguns antimicrobianos (BERRY, 2001; BRITT et al., 1996; BRITT et al., 1999; FAJT; APLEY, 2001; HERNANDEZ et al., 1999; LAVEN; PROVEN, 2000) e a detecção de espiroquetas invadindo o estrato espinhoso e papilas dermais, sugere-se que estas bactérias desempenhem um papel importante na patogenia da doença (BRITT et al., 1999; DÖPFER et al., 1997; FAJT; APLEY, 2001; WALKER et al., 1995; YERUHAM; PERL, 1998;).

As indicações sobre a provável participação de espiroquetas na etiopatogenia da DDP deve-se, entre outros fatores, ao predomínio deste microorganismo nas lesões (BERRY, 2001; DÖPFER et al., 1997; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1995; YERUHAM; PERL, 1998), sendo este encontrado invadindo o estrato espinhoso e papilar dermal. Recentemente, estudos imunohistoquímicos revelaram que espécies de *Treponema*, *Campylobacter* e o *Fusobacterium necrophorum* foram isolados a partir de lesões digitais de bovinos acometidos por DDP (CRUZ et al., 2005).

A diferença entre a resposta humoral de vacas acometidas de DDP e sadias, comparadas através do teste ELISA, indica claramente que as

espiroquetas induzem uma resposta humoral significativa na maioria das vacas (WALKER et al., 1997). Apesar de a DDP ser amplamente estudada, permanece obscuro o papel das espiroquetas como organismo primariamente envolvido ou oportunista após o desenvolvimento preliminar da lesão (DÖPFER et al., 1997; FAJT; APLEY, 2001; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1995; YERUHAM; PERL, 1998).

As lesões iniciais são dolorosas, tipicamente avermelhadas, planas e ulceradas, posteriormente ampliam suas dimensões, adquirindo aspecto verrucoso com projeções papilares (BERRY, 2001; DÖPFER et al., 1997; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1997; YERUHAM; PERL, 1998). Estas lesões, ocorrem freqüentemente nos membros pélvicos, provavelmente por suportarem maior peso e pelo maior contato entre as extremidades posteriores com contaminantes ambientais como fezes e urina (MARTINS FERREIRA et al., 2002), e localizam-se na superfície plantar acima do espaço interdigital, adjacente aos bulbos dos cascos (BERRY, 2001; DÖPFER et al., 1997; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999; RODRIGUEZ-LAINZ et al., 1996b; WALKER et al., 1995; YERUHAM; PERL, 1998).

A lesão determinada pela DDP pode causar claudicação moderada a severa, resultando em hiporexia com conseqüente diminuição da massa corporal e redução da produção leiteira (BERRY, 2001; BRITT et al., 1999; COULON et al., 1996; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1995), redução do ciclo estral e elevação do período compreendido entre o parto e concepção. Os prejuízos decorrentes da DDP são atribuídos ainda aos custos com o tratamento da enfermidade e ao descarte do leite de animais em lactação, devido à presença de resíduos de antimicrobianos (BRITT et al., 1999).

Segundo Martins, et al. (2002), as principais complicações decorrentes da DDP são miíase e necrose. Em alguns casos mais complexos foi observada erosão de talão, úlcera de sola, crescimento excessivo do casco.

Estudos revelaram que a maioria das vacas acometidas de DDP, que receberam administração tópica de penicilina G procaína, ceftiofur sódico,

oxitetraciclina, lincomicina ou combinação de lincomicina e espectinomicina, seguida ou não de bandagens, responderam favoravelmente dentro de 7 a 30 dias após o término do tratamento. Entretanto, a recidiva das lesões em vacas previamente tratadas com antibióticos também foi observada (BRITT et al., 1996; COULON et al., 1996; FAJT; APLEY, 2001; HERNANDEZ et al., 1999; HERNANDEZ; SHEARER, 2000; KOFLER, 1997; LAVEN; PROVEN, 2000; OHYA et al., 1999).

OBJETIVOS

- Analisar e comparar a eficiência do tratamento tópico com cloridrato de oxitetraciclina em pó solúvel associado a bandagens em vacas acometidas de DDP.
- Analisar e comparar a eficiência do tratamento com oxitetraciclina longa ação (L/A), sistêmico, em vacas acometidas de DDP.
- Determinar e comparar as concentrações de oxitetraciclina no líquido sinovial e plasma, bem como seus respectivos resíduos no leite, de vacas acometidas de DDP tratadas por via tópica e sistêmica.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e Grupos

Foram utilizadas 16 vacas em lactação, com idade variando de 5 a 10 anos, pesando entre 435 e 635 Kg, provenientes de uma propriedade endêmica para DDP. Procedeu-se a divisão aleatória dos animais em dois grupos, compostos com 8 animais cada, sendo que as vacas do Grupo 1 receberam doses de 5 g do produto comercial, contendo 22% de cloridrato de oxitetraciclina¹, associada a cada troca de bandagem. Realizou-se a administração do antimicrobiano na forma de pó, sobre as lesões dos animais, em compressas de gaze e ataduras de crepe² envolvidas por fita adesiva³, sendo estas bandagens trocadas a cada 48 horas, totalizando 6 trocas. Enquanto que as vacas do Grupo 2 receberam três doses de

¹Tormicina Premix 220 ®– cloridrato de oxitetraciclina 22%; veículo q.s.p. 100 g – Tortuga Zootécnica e Agrária.

² Atadura de crepom Neve® – 60% algodão; 28% poliamida; 12% poliéster; 13 fios; 15cm X 1,8m – NEVE Ltda.

³ Silvertape® – Fita adesiva – 3M do Brasil.

20 mg/kg de peso corporal de oxitetraciclina de longa ação⁴, pela via intramuscular a cada 72 horas.

Com a finalidade de padronização dos grupos, as vacas foram oriundas de uma única fazenda produtora de leite tipo A, encontrando-se no intervalo de lactação compreendido entre 200 e 365 dias pós-parto e apresentavam pelo menos um membro pélvico acometido. Os animais foram mantidos nas condições naturais na fazenda, alojados em estábulo coberto parcialmente, com piso de cimento, com cama de bagaço de cana hidrolisado (Figura 1). A alimentação constou do fornecimento diário de concentrado comercial na proporção de 1% do peso vivo, divididos em duas porções oferecidas no período matutino e vespertino, silagem de milho, água e sal mineral “*ad libitum*”. As vacas foram rotineiramente ordenhadas duas vezes ao dia e todo o leite produzido no intervalo compreendido entre o início dos tratamentos e 96 horas após seus terminos, foi descartado.



FIGURA 1- Estábulo semicoberto onde os animais de ambos os grupos permaneceram durante o experimento.

⁴ Tormicina L/A® – oxitetraciclina (dihidratada) base 20%; lidocaína 2%; veículo q.s.p. 100 ml – Tortuga Zootécnica e Agrária.

3.2 Organograma experimental:

- Exame físico pré-tratamento.
- Determinação do grau de claudicação (DESROCHERS et al., 2001) pré e pós-tratamentos.
- Contenção em brete adaptado para casqueamento.
- Documentação fotográfica e classificação da lesão.
- Divisão aleatória em Grupo 1 (tratamento tópico) e Grupo 2 (tratamento sistêmico)
- Casqueamento.
- Oxitetraciclina tópica e bandagem.
- Troca da bandagem a cada 48 horas.
- Oxitetraciclina L/A injetável.
- Administração a cada 72 horas.
- Coleta de amostras de leite, líquido sinovial e sangue venoso.
 - Momentos das coletas: M₀: imediatamente anterior aos tratamentos tópico ou sistêmico, M₁: 6 horas após administração, M₂: 12 horas após administração e sucessivamente em intervalos de 12 horas até o M₂₃ (264 horas).
 - M₀: imediatamente anterior ao tratamento tópico ou sistêmico
 - M₁: 6 horas após administração
 - M₂: 12 horas após administração
 - M₃: 24 horas após administração
 - M₄: 36 horas após administração
 - M₅: 48 horas após administração (Tratamento tópico)
 - M₆: 60 horas após administração
 - M₇: 72 horas após administração (Tratamento sistêmico)
 - M₈: 84 horas após administração

- M₉: 96 horas após administração (Tratamento tópico)
- M₁₀: 108 horas após administração
- M₁₁: 120 horas após administração
- M₁₂: 132 horas após administração
- M₁₃: 144 horas após administração (Tratamento sistêmico e tópico)
- M₁₄: 156 horas após administração
- M₁₅: 168 horas após administração
- M₁₆: 180 horas após administração
- M₁₇: 192 horas após administração (Tratamento tópico)
- M₁₈: 204 horas após administração
- M₁₉: 216 horas após administração
- M₂₀: 228 horas após administração
- M₂₁: 240 horas após administração (Tratamento tópico)
- M₂₂: 252 horas após administração
- M₂₃: 264 horas após administração
- Inspeção após final das coletas
- Análises laboratoriais das amostras
- Acompanhamento final dos animais

3.3 Procedimentos

No momento que precedeu aos tratamentos todos os animais foram pesados, identificados e examinados. Determinou-se o grau de claudicação, segundo a classificação de Desrochers et al. (2001), que varia de intensidade 0 (ausente), 1 (discreto arqueamento de dorso e locomoção levemente anormal), 2 (arqueamento de dorso e locomoção alterada), 3 (arqueamento de dorso e claudicação marcantes), 4 (relutância em se locomover e dificuldade de apoio). As lesões da DDP foram classificadas em discreta (1), moderada (2) e severa (3), baseando-se nos sinais e extensão da região comprometida (BERRY, 2001;

DÖPFER et al., 1997; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1995; YERUHAM; PERL, 1998). Todas as lesões apresentavam previamente aos tratamentos aumento de sensibilidade e temperatura à palpação.

Os animais foram contidos em brete adaptado para casqueamento (Figura 2), sendo mantidos em estação, sem a necessidade de tranqüilização. O membro tratado foi elevado e posteriormente amarrado à travessa de madeira do brete. Após a contenção, as lesões foram identificadas, fotografadas e classificadas. Os animais dos dois Grupos foram casqueados previamente aos tratamentos. Nos animais que apresentavam lesões nos dois membros pélvicos, optou-se pelo tratamento da lesão mais grave.

As amostras foram pesadas em balança de precisão modelo Gehaka A 200 e acondicionadas em embalagens plásticas até o momento de sua utilização nas bandagens.

As aplicações nos animais do Grupo 2 contendo doses de 20 mg/kg de peso corporal de oxitetraciclina de longa ação⁵, foi realizada pela via intramuscular, fazendo uso de agulhas 40 x 1,2 mm⁶ e seringas plásticas descartáveis⁷. Nestes animais, aplicou-se o antimicrobiano na musculatura glútea e ou semi-tendinoso, semi-membranoso, não ultrapassando o volume de 20 ml em cada local de aplicação, sendo o local previamente higienizado com solução de álcool iodado.

As amostras de líquido sinovial nos Grupos 1 e 2, contendo aproximadamente 1ml, foram obtidas a partir de artrocentese seriada no espaço articular do tarso, correspondente ao membro acometido da lesão (Figura 3). O local da artrocentese foi precedido de tricotomia, seguido de anti-sepsia com solução de polivinil-pirrolidona-iodo (PVPI)⁸ a 10%.

⁵ Tormicina L/A® – oxitetraciclina (dihidratada) base 20%; lidocaína 2%; veículo q.s.p. 100 ml – Tortuga Zootécnica e Agrária.

⁶ Agulha descartável 40x1,2® – BD Industrias Cirúrgicas Ltda.

⁷ Plastipak estéril® – Seringa descartável de 20 ml, sem agulha – BD Indústrias Cirúrgicas Ltda.

⁸ Riodeíne tópico® – Polivinil-pirrolidona-iodo 10% - Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda.

As coletas de sangue venoso foram realizadas na jugular⁹ em tubo Vacuum II¹⁰ contendo EDTA (k_3) líquido, alternando o lado a cada momento compreendendo um volume de aproximadamente 5 ml. Após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas¹¹, durante 5 minutos à 3000rpm, com o intuito de se obter o plasma.



FIGURA 2 - Brete adaptado para casqueamento utilizado para as coletas durante o experimento. A vaca permaneceu em estação durante os procedimentos.

⁹ Precision Glide Vacutainer® – Agulhas para coleta de sangue a vácuo – 20 G 11/2 - BD.

¹⁰ Vacuum II® – Tubo para coleta de sangue a vácuo – Labnew Indústria e Comércio Ltda.

¹¹ Centrífuga Fanem – Modelo Excelsa II – 206 BL



FIGURA 3 – Animal com o membro contido para coleta de líquido sinovial do membro em avaliado.

Amostras de leite correspondendo a um volume de aproximadamente 50 ml, composta por frações retiradas eqüitativamente dos quatro quartos mamários, foram obtidas de todos os animais nos momentos estabelecidos.

Todas as amostras de leite, líquido sinovial e plasma colhidas, foram individualmente acondicionadas em recipientes apropriados e logo após armazenadas à temperatura de -20°C . Ao término da coleta de amostras, estas foram encaminhadas para o Laboratório de Toxicologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Procedeu-se a coleta de amostras de leite, líquido sinovial e plasma de cada um dos animais nos momentos (M_0) imediatamente anterior ao tratamento tópico ou administração injetável, M_1 : 6 horas após administração, M_2 : 12 horas após administração e sucessivamente em intervalos de 12 horas até o M_{23} (264 horas).

As coletas das amostras de leite, líquido sinovial e plasma, nos momentos M_0 , 48 horas (M_5), 72 horas (M_7), 96 horas (M_9), 144 horas (M_{13}), 192 horas

(M₁₇), 240 horas (M₂₁), foram realizadas previamente aos tratamentos tópico ou sistêmico.

Ao final do período de coleta, submeteu-se todos os animais à reavaliação do grau de claudicação (DESROCHERS et al., 2001) e da extensão das lesões podais, baseando-se nos mesmos critérios inicialmente propostos. Ao término das coletas, os animais foram inspecionados durante 10 dias, com o objetivo de detectar possíveis complicações das coletas seriadas ou aplicação da oxitetraciclina injetável.

3.4 Determinação das concentrações de oxitetraciclina nas amostras de leite, líquido sinovial e plasma.

Objetivando determinar a concentração da oxitetraciclina, foi realizada Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), baseada no seguinte procedimento analítico, adaptado de Furusawa (1999). Este método se mostra eficiente para a verificação da presença de oxitetraciclina no leite, líquido sinovial e plasma com limites de detecção a partir de 37,5 ng/ml e de quantificação a partir de 50ng/ml (DENOBILO, 2004; ESTEBAN, 2007).

- Em tubo de centrífuga será colocado 1mL da amostra e adicionado 0,35 mL de solução de ácido tricloroacético a 80% em acetonitrila;
- Ultra-som¹² por 10 minutos;
- Agitação em vórtex¹³ por 1 minuto;
- Centrifugação a 2500 rpm por 10min;
- Filtração através de filtro¹⁴ com membrana durapore¹⁵ 0,45µm, 13mm;
- Injeção automática de 40µL do filtrado no cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector Ultra-Violeta¹⁶ (UV).

¹² Ultra-som Thornton®

¹³ Agitador de tubos Fanem® - modelo 251

¹⁴ Conjunto para filtração à vácuo contendo: funil, base e tampa tubulada em borossilicato e garra de alumínio anodizada – Millipore®

¹⁵ Filtro Millipore®, membrana HV em PVDF 0,45µm, 47mm de diâmetro.

¹⁶ Cromatógrafo líquido Hewlett Packard®, modelo 1100, equipado com detector de rede de diodos, acoplado ao computador modelo Vectra XM, série 4-5/150, com Chem Station para

3.5 Análises Estatísticas

Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância não paramétrica, teste de Friedman, e ao teste de comparações múltiplas de Dunn considerando-se o nível de significância de 5% (ZAR,1998).

As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa SAS¹⁷ (Statistical Analysis System®).

integração e processamento dos cromatogramas, munido de coluna Nova-Pak Waters® RP 8, 60A°, 4mm (3,9 x 150 mm).

¹⁷ SAS Institute Inc®, SAS: On line doc., Version 8, Cary, 1999.

4 RESULTADOS

Todos os animais do Grupo 2, que receberam o cloridrato de oxitetraciclina injetável na forma L/A, apresentaram aumento de volume firme, sensível à palpação e com aumento de temperatura nos locais de aplicação, 6 horas após a aplicação (Figuras 6 e 7). Essa alteração foi observada a cada nova aplicação, estendendo-se por 10 dias, após o último momento de coleta.

A análise das concentrações de oxitetraciclina nas amostras de leite, líquido sinovial e plasma, em todos os momentos, nos animais que compuseram o Grupo 1, tratado topicamente, revelou valores abaixo dos limites de detecção a partir de 37,5 ng/ml, estabelecidos pelo HPLC (DENOBILO; NASCIMENTO, 2004).

A colocação da bandagem associada à fita adesiva apresentou resultado satisfatório à medida que, impediu que algum animal durante o período de tratamento permanecesse sem o curativo. Além disso, durante a troca de todas as bandagens, em todos os momentos, observou-se que o produto em pó permaneceu em grande quantidade sobre as lesões (Figura 4).



FIGURA 4 - Animal do Grupo 1, durante a troca de bandagem, apresentando oxitetraciclina em pó, concentrada sobre a lesão.

Os graus de lesão e claudicação pré e pós-tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1) estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 - Animais do Grupo 1, submetidos ao tratamento tópico com oxitetraciclina em pó, com os respectivos graus de lesão e claudicação pré e pós-tratamento, em relação aos membros acometidos.

Animal	Membro acometido	Grau da lesão		Grau de claudicação	
		Pré-tratamento	Pós-tratamento	Pré-tratamento	Pós-tratamento
402	MPD* e MPE	1	0	3	4
351	MPD	1	0	2	0
381	MPD	2	0	2	0
344	MPE	2	0	3	0
162	MPD	2	0	2	0
353	MPE* e MPD	2	0	3	0
413	MPD* e MPE	2	0	2	0
346	MPE* e MPD	1	0	2	0

MPE: Membro pélvico esquerdo

MPD: Membro pélvico direito

* Membro tratado



FIGURA 5 - Animal número 347 submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pré-tratamento.



FIGURA 6 - Animal número 344 submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pós-tratamento (M₂₃)



FIGURA 7 - Animal 346, submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pré-tratamento.



FIGURA 8 - Animal 346, submetido ao tratamento tópico com oxitetraciclina (Grupo 1): pós-tratamento (M23)

Os graus de lesão e claudicação pré e pós-tratamento sistêmico com oxitetraciclina (Grupo 2) estão apresentados na Tabela 2.

TABELA 2 - Animais do Grupo 2, submetidos ao tratamento injetável com oxitetraciclina longa ação (L/A), com os respectivos graus de lesão e claudicação pré e pós-tratamento, em relação aos membros acometidos.

Animal	Membro acometido	Grau da lesão		Grau de claudicação	
		Pré-tratamento	Pós-tratamento	Pré-tratamento	Pós-tratamento
373	MPD* e MPE	2	1	3	3
432	MPE* e MPD	2	2	2	2
465	MPD	1	1	1	2
423	MPD	1	1	1	2

310	MPE	1	1	1	2
435	MPE	1	1	1	4
461	MPE	1	1	2	2
427	MPE* e MPD	1	1	1	2

MPE: Membro pélvico esquerdo

MPD: Membro pélvico direito

*: Membro tratado



FIGURA 9 - Animal 373 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica (Grupo 2): pré-tratamento.



FIGURA 10 - Animal 373 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica
(Grupo 2): pós-tratamento (M₂₃)



FIGURA 11 - Animal 432 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica (Grupo 2): pré-tratamento.



FIGURA 12 - Animal 432 tratado com oxitetraciclina por via sistêmica
(Grupo 2): pós-tratamento (M₂₃)

Nas Tabelas 3, 4, 5 encontram-se os valores individuais, médios ($\bar{x}$) expressos em ng/ml e erro padrão da média (EPM) e as Figuras 16, 17, 18, 19, 20 e 21 a representação gráfica das concentrações de oxitetraciclina em leite, líquido sinovial e plasma de vacas submetidas aos tratamentos sistêmico e tópico.

TABELA 3 - Valores individuais, médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento, no leite de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

Momento (horas)	Número do animal - Concentração (ng/ml) – Grupo 2										
	373	423	465	427	310	435	432	461	$\bar{x}$	$\pm$	EPM
M ₀	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	$\pm$	0,00
M ₁ 6 horas	2771,99	776,98	2062,41	2328,10	779,10	1884,22	1035,49	1298,85	1617,14	$\pm$	265,81
M ₂ 12 horas	3823,89	1099,05	2429,62	3114,70	1577,37	3167,56	1310,11	1653,86	2272,02	$\pm$	356,35
M ₃ 24 horas	3569,87	1672,41	2648,44	2888,82	1938,42	2496,83	2322,50	2188,06	2465,67	$\pm$	208,63
M ₄ 36 horas	2257,78	1077,71	2066,15	2736,18	1190,24	1714,52	2488,08	3158,94	2086,20	$\pm$	257,83
M ₅ 48 horas	1221,57	616,32	1481,80	262,67	1212,86	610,03	1171,16	693,82	908,78	$\pm$	147,96
M ₆ 60 horas	826,69	405,95	905,67	62,93	1220,40	285,24	0,00	671,78	547,33	$\pm$	152,24
M ₇ 72 horas	250,73	153,82	873,65	0,00	636,21	119,05	681,07	42,06	344,57	$\pm$	118,36
M ₈ 84 horas	2546,36	1504,58	2287,78	2015,60	2168,12	2303,18	1107,15	2515,16	2055,99	$\pm$	178,52
M ₉ 96 horas	2543,33	3173,33	3042,20	1701,32	1367,61	1776,14	1992,91	2935,05	2316,49	$\pm$	245,33
M ₁₀ 108 horas	2284,11	1831,15	2447,86	977,80	1332,70	1548,09	1790,79	4531,14	2092,96	$\pm$	386,96
M ₁₁ 120 horas	1627,32	1119,09	1751,77	1234,37	903,28	519,93	1375,03	582,31	1139,14	$\pm$	159,68
M ₁₂ 132 horas	738,50	564,26	1837,52	958,60	736,80	461,52	577,16	392,74	783,39	$\pm$	163,27
M ₁₃ 144 horas	527,75	342,97	737,33	375,91	576,16	177,19	312,58	128,34	397,28	$\pm$	72,70
M ₁₄ 156 horas	3381,04	2338,27	1962,40	2047,22	2750,51	2169,24	1839,38	3838,20	2540,78	$\pm$	256,43
M ₁₅ 168 horas	4326,87	1762,23	3447,35	1996,92	1379,20	2714,18	1697,08	1622,64	2368,31	$\pm$	368,64

M ₁₆ 180 horas	3705,46	2081,70	2561,36	1664,37	1573,90	1592,74	1428,94	1333,37	1992,73	±	282,23
M ₁₇ 192 horas	2003,28	1545,39	1398,14	531,69	972,64	1022,75	632,22	741,60	1105,97	±	179,05
M ₁₈ 204 horas	920,25	492,85	1236,49	271,32	391,17	701,78	531,90	687,29	654,13	±	109,38
M ₁₉ 216 horas	463,38	338,85	482,10	107,77	374,52	432,32	246,08	587,25	379,03	±	52,92
M ₂₀ 228 horas	394,09	202,14	381,08	83,92	284,39	368,33	235,33	502,14	306,43	±	46,54
M ₂₁ 240 horas	261,88	106,30	380,55	74,71	251,79	231,08	115,59	165,51	198,43	±	36,07
M ₂₂ 252 horas	68,68	75,10	359,84	71,27	176,92	146,39	97,13	481,69	184,63	±	54,51
M ₂₃ 264 horas	85,42	74,92	185,42	68,84	112,41	97,54	101,64	115,86	105,26	±	12,89

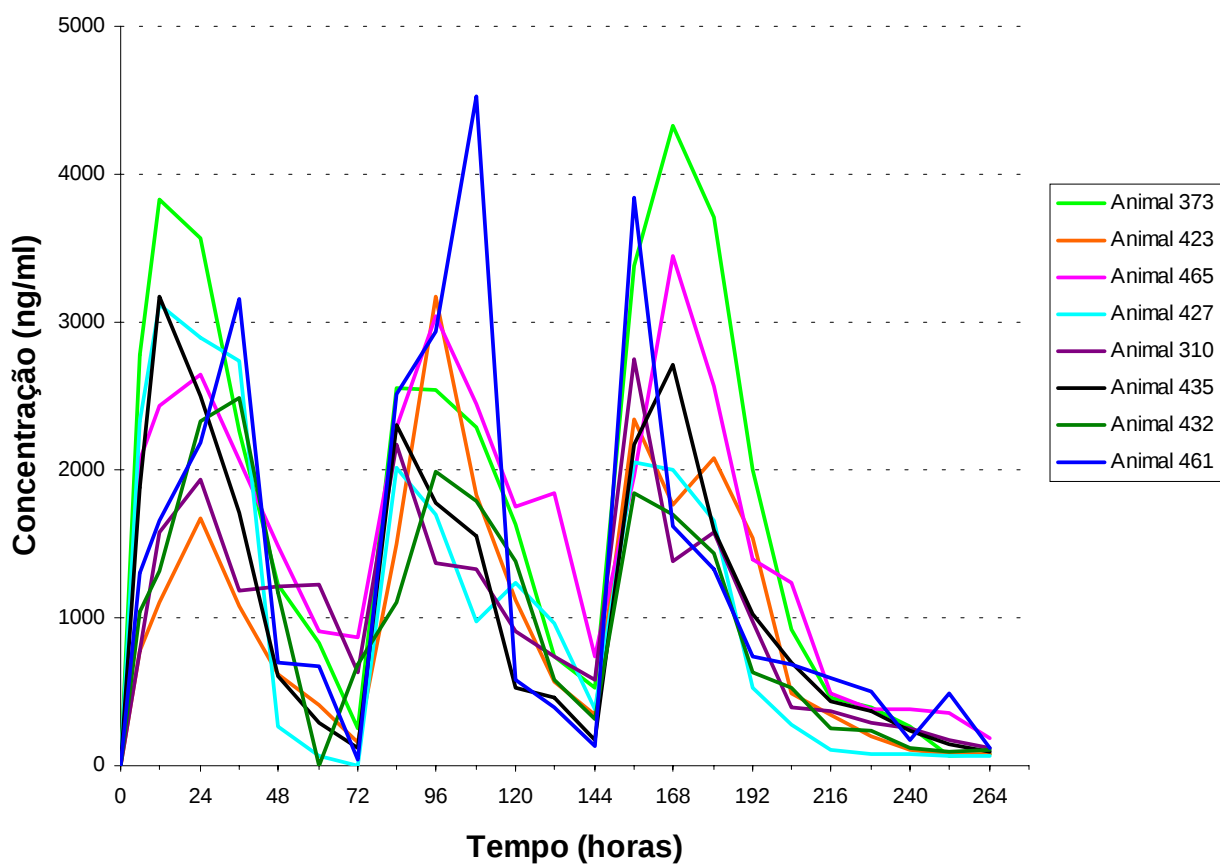


FIGURA 13 – Representação gráfica da distribuição ao longo do tempo dos valores individuais da concentração de oxitetraciclina (ng/ml) no leite de vacas acometidas por DDP e submetidas ao tratamento sistêmico (Grupo 2).

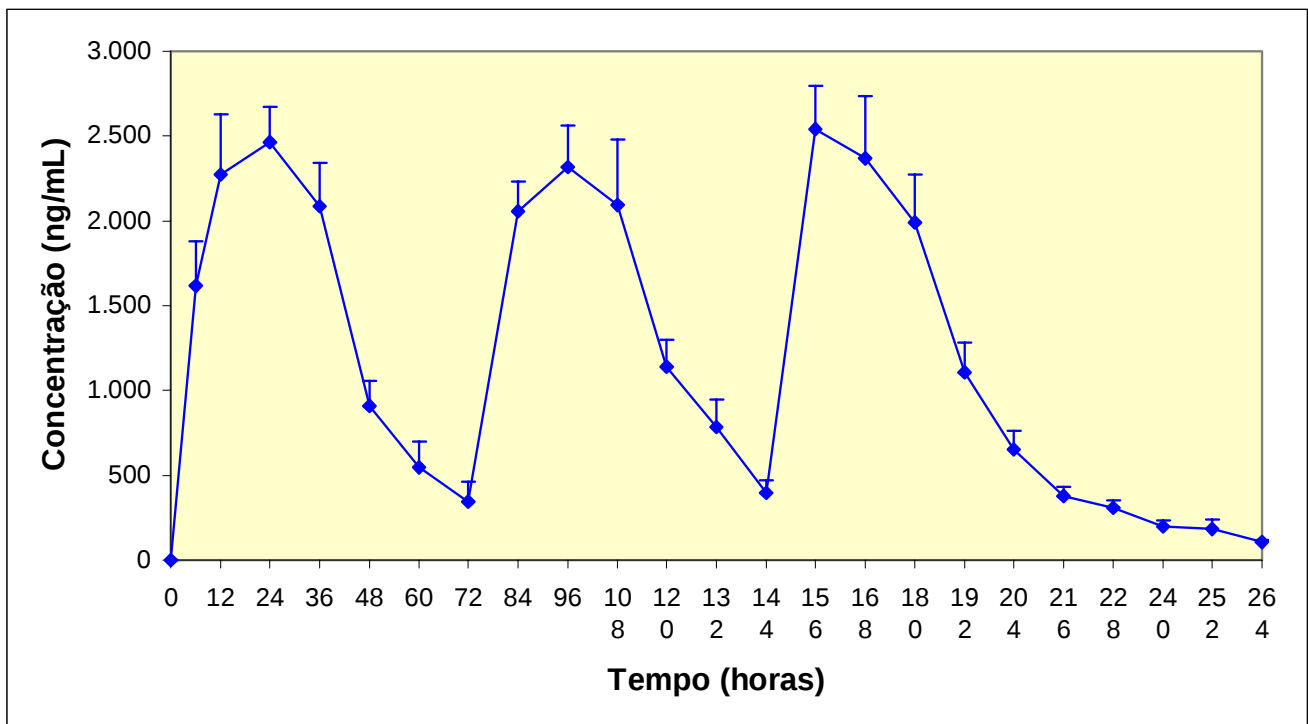


FIGURA 14 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento no leite de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

TABELA 4 - Valores individuais, médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento, no líquido sinovial de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

Momento (horas)	Número do animal - Concentração (ng/ml) – Grupo 2										
	373	423	465	427	310	435	432	461	$\bar{x}$	$\pm$	EPM
M ₀	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	$\pm$	0,00
M ₁ 6 horas	1967,06	2568,83	2023,11	2241,40	2105,70	2126,35	2551,13	1869,71	1976,36	$\pm$	216,77
M ₂ 12 horas	1996,56	1725,17	1256,14	1807,77	1270,89	1669,12	2040,81	1984,76	1718,90	$\pm$	109,92
M ₃ 24 horas	1267,94	1374,14	1365,29	1005,41	834,32	1533,43	1854,96	984,76	1277,53	$\pm$	117,43
M ₄ 36 horas	875,61	846,12	1076,20	981,81	701,57	896,26	1456,73	710,42	943,09	$\pm$	85,74
M ₅ 48 horas	710,42	695,67	846,12	607,18	651,42	754,67	866,76	616,03	698,01	$\pm$	47,75
M ₆ 60 horas	117,50	200,10	318,09	220,75	158,80	20,16	380,04	11,31	178,34	$\pm$	46,19
M ₇ 72 horas	0,00	43,76	149,95	55,55	43,76	11,31	226,65	0,00	66,37	$\pm$	28,55
M ₈ 84 horas	1952,31	2123,40	2220,75	2315,14	1943,46	1344,64	1253,19	1565,88	1839,85	$\pm$	142,63
M ₉ 96 horas	2453,78	1412,49	1728,12	1928,71	1194,20	760,57	1079,15	1214,85	1471,48	$\pm$	191,11
M ₁₀ 108 horas	1554,08	984,76	1208,95	1341,69	854,96	663,22	863,81	1026,06	1062,19	$\pm$	102,68
M ₁₁ 120horas	1495,08	657,32	1046,71	1200,10	725,17	530,48	1011,31	778,27	930,55	$\pm$	112,71
M ₁₂ 132horas	1388,89	512,78	854,96	748,77	639,63	559,98	781,22	607,18	761,68	$\pm$	98,56
M ₁₃ 144 horas	978,86	0,00	191,25	93,90	200,10	0,00	29,01	20,16	189,16	$\pm$	116,39
M ₁₄ 156 horas	2604,23	1424,29	1999,51	2400,69	2076,20	1731,07	2707,47	1819,57	2095,38	$\pm$	157,86
M ₁₅ 168 horas	1430,19	1096,85	1557,03	1745,82	1315,14	1282,69	967,06	1568,83	1370,45	$\pm$	91,32
M ₁₆ 180horas	1011,31	790,07	1111,60	1135,20	1017,21	1002,46	763,52	1200,10	1003,93	$\pm$	55,27
M ₁₇ 192 horas	781,22	621,93	875,61	993,61	846,12	822,52	554,08	872,66	795,97	$\pm$	50,63
M ₁₈ 204 horas	707,47	592,43	660,27	695,67	613,08	598,33	456,73	551,13	609,39	$\pm$	28,90
M ₁₉ 216 horas	262,04	93,90	67,35	37,86	155,85	147,00	2,46	-9,34	94,64	$\pm$	32,12
M ₂₀ 228 horas	14,26	73,25	0,00	73,25	138,15	123,40	82,10	161,75	83,27	$\pm$	20,12
M ₂₁ 240 horas	138,15	55,55	0,00	0,00	542,28	88,00	79,15	397,74	162,61	$\pm$	70,32
M ₂₂ 252 horas	0,00	46,71	0,00	0,00	102,75	58,50	46,71	0,00	31,83	$\pm$	13,52
M ₂₃ 264 horas	0,00	26,06	0,00	0,00	105,70	500,98	135,20	5,41	96,67	$\pm$	60,71

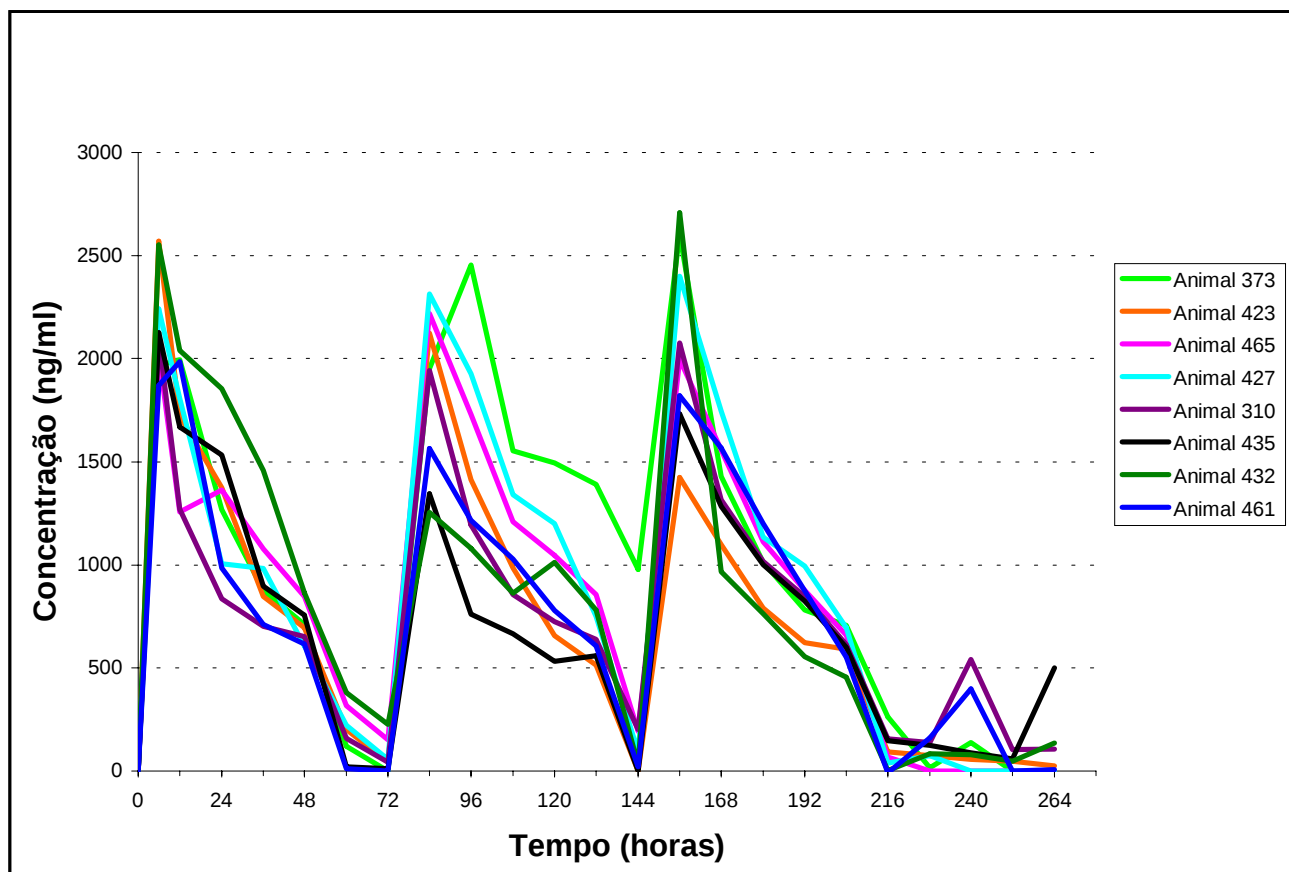


FIGURA 15 – Representação gráfica da distribuição ao longo do tempo dos valores individuais da concentração de oxitetraciclina (ng/ml) no líquido sinovial de vacas acometidas por DDP e submetidas ao tratamento sistêmico (Grupo 2).

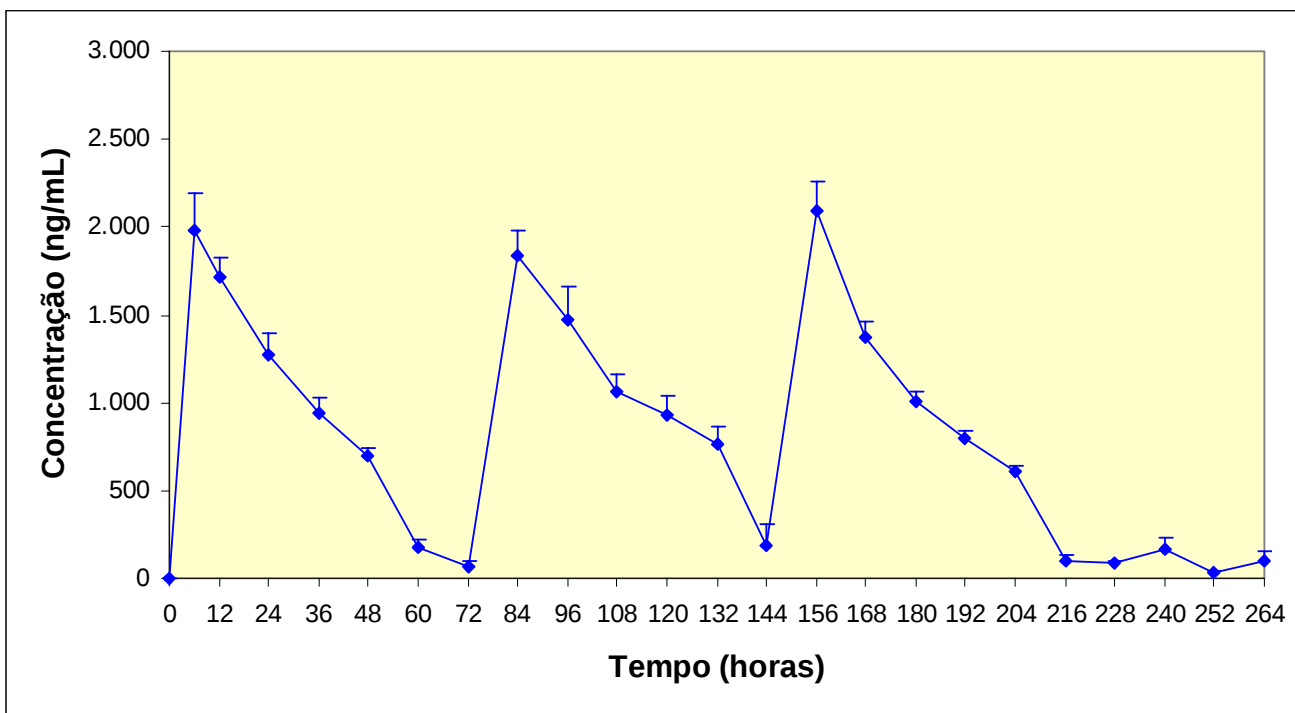


FIGURA 16 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento no líquido sinovial de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

TABELA 5 - Valores individuais, médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento, no plasma de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

Momento (horas)	Número do animal - Concentração (ng/ml) – Grupo 2										
	373	423	465	427	310	435	432	461	$\bar{x}$	$\pm$	EPM
M ₀	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	$\pm$	0,00
M ₁ 6 horas	5149,00	3599,00	4382,34	4332,34	3365,67	5190,67	3665,67	0,00	3710,59	$\pm$	582,47
M ₂ 12 horas	4957,34	4440,67	4674,00	4340,67	3582,34	6482,34	3807,34	3815,67	4512,55	$\pm$	326,97
M ₃ 24 horas	4407,34	3282,34	3590,67	3424,00	3149,00	3499,00	4865,67	3607,34	3728,17	$\pm$	209,93
M ₄ 36 horas	3674,00	3115,67	2940,67	2840,67	2357,34	2824,00	3457,34	2399,00	2951,09	$\pm$	163,21
M ₅ 48 horas	2582,34	2515,67	1940,67	1657,34	1390,67	1807,34	2182,34	1707,34	1972,96	$\pm$	149,25
M ₆ 60 horas	2149,00	1815,67	982,34	815,67	482,34	1290,67	1124,00	1199,00	1232,34	$\pm$	188,77
M ₇ 72 horas	507,34	415,67	432,34	307,34	157,34	307,34	499,00	257,34	360,46	$\pm$	43,61
M ₈ 84 horas	5332,34	5399,00	4799,00	4440,67	3207,34	3407,34	3940,67	4465,67	4374,00	$\pm$	288,03
M ₉ 96 horas	4257,34	3790,67	4157,34	3365,67	2632,34	2674,00	3615,67	3999,00	3561,50	$\pm$	222,62
M ₁₀ 108 horas	2107,34	1815,67	1265,67	1382,34	1765,67	2399,00	3190,67	3807,34	2216,71	$\pm$	313,07
M ₁₁ 120horas	1332,34	1065,67	815,67	940,67	1299,00	665,67	1515,67	1315,67	1118,80	$\pm$	104,03
M ₁₂ 132horas	565,67	524,00	740,67	407,34	474,00	165,67	865,67	782,34	565,67	$\pm$	80,49
M ₁₃ 144 horas	149,00	315,67	532,34	299,00	207,34	74,00	232,34	99,00	238,59	$\pm$	52,01
M ₁₄ 156 horas	4507,34	4624,00	5065,67	4215,67	3890,67	3490,67	4599,00	3807,34	4275,05	$\pm$	183,76
M ₁₅ 168 horas	3907,34	3249,00	4015,67	3657,34	3124,00	4774,00	3565,67	3599,00	3736,50	$\pm$	181,79
M ₁₆ 180horas	3249,00	2990,67	3040,67	3132,34	2599,00	2449,00	3149,00	3099,00	2963,59	$\pm$	100,63
M ₁₇ 192 horas	2782,34	2715,67	3099,00	2874,00	2374,00	2140,67	2990,67	2982,34	2744,84	$\pm$	116,78
M ₁₈ 204 horas	2582,34	2565,67	2757,34	2674,00	2207,34	2232,34	2665,67	2824,00	2563,59	$\pm$	80,73
M ₁₉ 216 horas	465,67	449,00	582,34	557,34	99,00	899,00	557,34	715,67	540,67	$\pm$	81,33
M ₂₀ 228 horas	357,34	390,67	507,34	415,67	81,30	336,50	399,00	565,67	381,69	$\pm$	50,72
M ₂₁ 240 horas	349,00	374,00	465,27	374,00	0,00	67,75	390,67	549,00	321,21	$\pm$	66,98
M ₂₂ 252 horas	307,34	324,00	432,34	365,67	0,00	0,00	565,67	365,67	295,09	$\pm$	70,35
M ₂₃ 264 horas	232,34	307,34	399,00	424,00	0,00	0,00	507,34	382,34	281,54	$\pm$	67,73

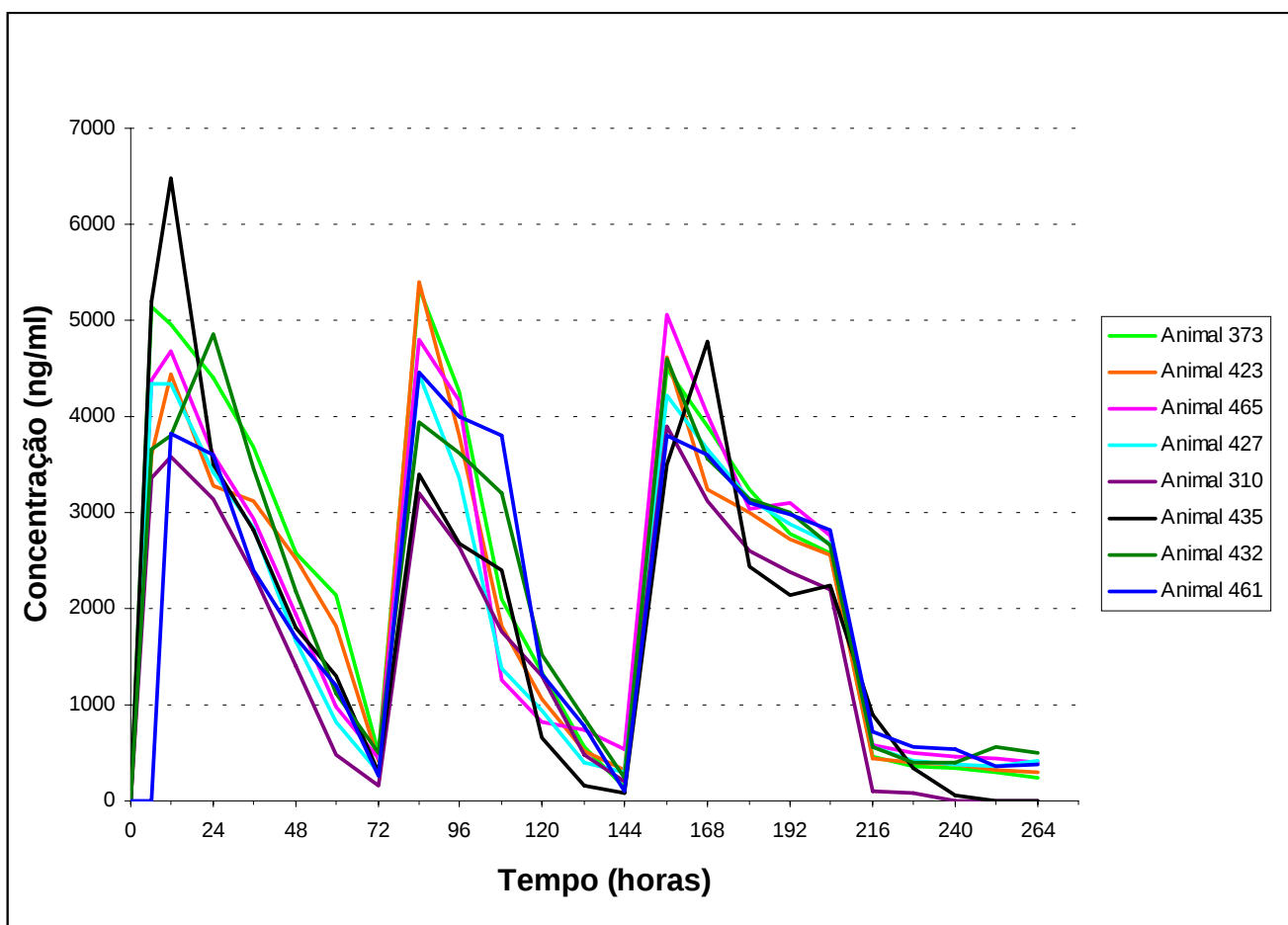


FIGURA 17 - Representação gráfica da distribuição ao longo do tempo dos valores individuais da concentração de oxitetraciclina (ng/ml) no plasma de vacas submetidas tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

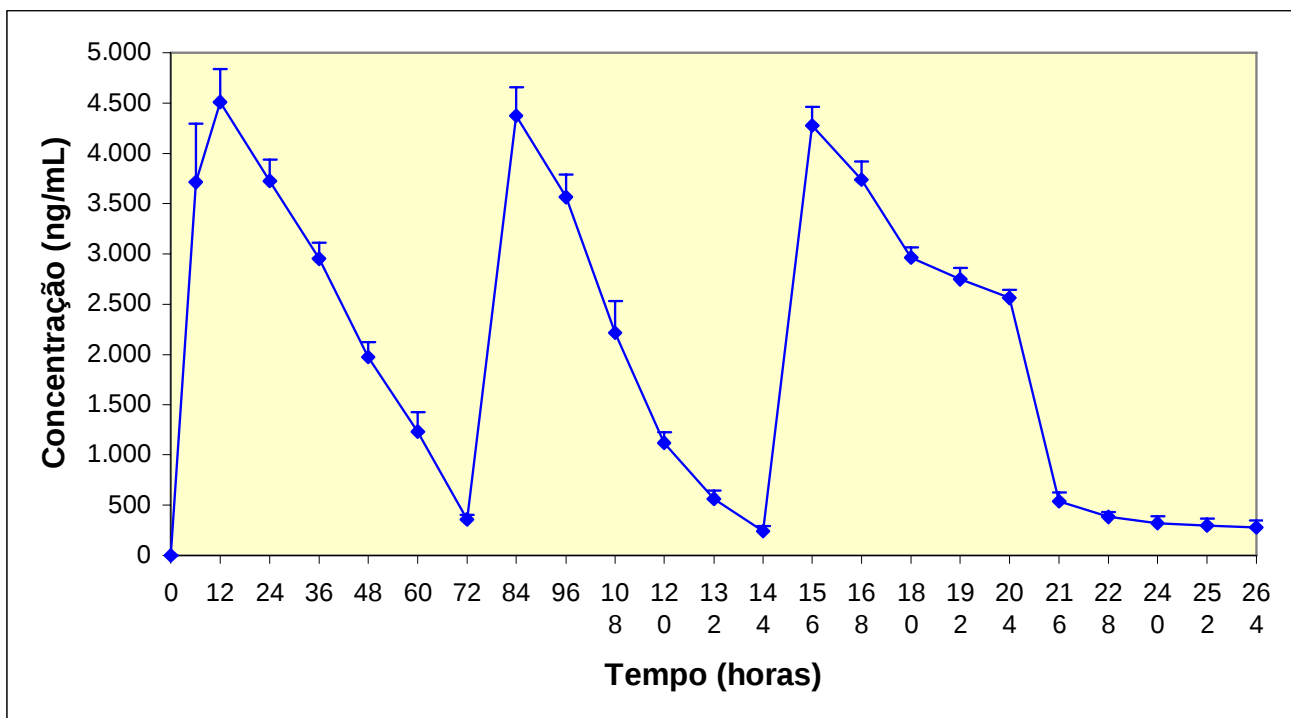


FIGURA 18 – Representação gráfica dos valores das concentrações médias de oxitetraciclina (ng/ml), em cada momento, no plasma de vacas tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

TABELA 6 - Valores médios ($\bar{x}$) e erro padrão da média (EPM) das concentrações de oxitetraciclina (ng/ml) em cada momento no leite, líquido sinovial e plasma de vacas acometidas por DDP, tratadas por via sistêmica (Grupo 2).

Momento	Concentração (ng/ml) ($\bar{x} \pm \text{EPM}$)									
(horas)	Plasma			Líquido sinovial			Leite			
M ₀	0,00	±	0,00 ^e	0,00	±	0,00 ^f	0,00	±	0,00 ^e	
M ₁ 6 horas	3710,59	±	582,47 ^{abc}	1976,36	±	216,77 ^a	1617,14	±	265,81 ^{abcd}	
M ₂ 12 horas	4512,55	±	326,97 ^a	1718,90	±	109,92 ^a	2272,02	±	356,35 ^{ab}	
M ₃ 24 horas	3728,17	±	209,93 ^{abc}	1277,53	±	117,43 ^{abcd}	2465,67	±	208,63 ^a	
M ₄ 36 horas	2951,09	±	163,21 ^{abcd}	943,09	±	85,74 ^{abcdef}	2086,20	±	257,83 ^{abcd}	
M ₅ 48 horas	1972,96	±	149,25 ^{abcde}	698,01	±	47,75 ^{abcdef}	908,78	±	147,96 ^{abcde}	
M ₆ 60 horas	1232,34	±	188,77 ^{abcde}	178,34	±	46,19 ^{bcdef}	547,33	±	152,24 ^{abcde}	
M ₇ 72 horas	360,46	±	43,61 ^{de}	66,37	±	28,55 ^{ef}	344,57	±	118,36 ^{cde}	
M ₈ 84 horas	4374,00	±	288,03 ^a	1839,85	±	142,63 ^a	2055,99	±	178,52 ^{abcd}	
M ₉ 96 horas	3561,50	±	222,62 ^{abc}	1471,48	±	191,11 ^{ab}	2316,49	±	245,33 ^{ab}	
M ₁₀ 108 horas	2216,71	±	313,07 ^{abcde}	1062,19	±	102,68 ^{abcde}	2092,96	±	386,96 ^{abcd}	
M ₁₁ 120horas	1118,80	±	104,03 ^{abcde}	930,55	±	112,71 ^{abcdef}	1139,14	±	159,68 ^{abcde}	
M ₁₂ 132horas	565,67	±	80,49 ^{bcde}	761,68	±	98,56 ^{abcdef}	783,39	±	163,27 ^{abcde}	
M ₁₃ 144 horas	238,59	±	52,01 ^{de}	189,16	±	116,39 ^{bcdef}	397,28	±	72,70 ^{bcde}	
M ₁₄ 156 horas	4275,05	±	183,76 ^a	2095,38	±	157,86 ^a	2540,78		256,43 ^a	
M ₁₅ 168 horas	3736,50	±	181,79 ^{abc}	1370,45	±	91,32 ^{abc}	2368,31	±	368,64 ^{ab}	
M ₁₆ 180horas	2963,59	±	100,63 ^{abcd}	1003,93	±	55,27 ^{abcde}	1992,73	±	282,23 ^{abcd}	
M ₁₇ 192 horas	2744,84	±	116,78 ^{abcd}	795,97	±	50,63 ^{abcdef}	1105,97	±	179,05 ^{abcde}	
M ₁₈ 204 horas	2563,59	±	80,73 ^{abcde}	609,39	±	28,90 ^{abcdef}	654,13	±	109,38 ^{abcde}	
M ₁₉ 216 horas	540,67	±	81,33 ^{bcde}	94,64	±	32,12 ^{def}	379,03	±	52,92 ^{bcde}	
M ₂₀ 228 horas	381,69	±	50,72 ^{cde}	83,27	±	20,12 ^{def}	306,43	±	46,54 ^{cde}	
M ₂₁ 240 horas	321,21	±	66,98 ^{de}	162,61	±	70,32 ^{cdef}	198,43	±	36,07 ^{de}	
M ₂₂ 252 horas	295,09	±	70,35 ^{de}	31,83	±	13,52 ^{ef}	184,63	±	54,51 ^{de}	
M ₂₃ 264 horas	281,54	±	67,73 ^{de}	96,67	±	60,71 ^{def}	105,26	±	12,89 ^{de}	

Momentos seguidos de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si (P> 0,05).

5 DISCUSSÃO

A seleção dos lotes de vacas oriundas de uma mesma propriedade, mantidas nas mesmas condições ambientais, pode ter contribuído para a pouca variabilidade da gravidade das lesões (CHELI; MORTELLARO, 1994; NICOLETTI, 2004), e submetidas à rotina de ordenha e dieta inalteradas, proporcionou a homogeneidade dos grupos experimentais. Esta padronização colaborou para a redução do estresse e desconforto causado pelas modificações inerentes ao protocolo experimental proposto.

A contenção física dos animais em brete adaptado para o casqueamento, sem a necessidade de contenção química (DESROCHERS et al., 2001; STANEK, 1997), mostrou-se eficiente e adequada, pois nenhum tipo de acidente ou dificuldade foi observado durante as coletas, podendo esta técnica ser exeqüível sem a necessidade de outros métodos dispendiosos ou de difícil aquisição na propriedade.

O volume de 1 ml de líquido sinovial proposto na metodologia, foi suficiente para a realização das avaliações das concentrações de oxitetraciclina e não houve dificuldade de coleta em nenhum momento. As artrocenteses repetidas facilitaram o procedimento de colheita de líquido sinovial durante toda a fase experimental, não sendo observadas dificuldades de coletas nos momentos iniciais ou finais relatados por Rodrigues (2003). Um animal (Grupo 2), apresentou hemoartrose no último momento (M₂₃), como complicação das artrocenteses seriadas. Este animal, ao final das coletas, retornou ao seu lote de animais correspondente na propriedade, sem a necessidade de qualquer tipo de tratamento. Não foram observadas quaisquer complicações decorrentes das artrocenteses seriadas durante o período das coletas e até 10 dias após seu término nas demais vacas.

A metodologia empregada na coleta, armazenamento e determinação de oxitetraciclina nas amostras pelo HPLC, mostrou-se amplamente satisfatória. Esta

observação deveu-se à elevada sensibilidade, especificidade e precisão do método empregado na detecção da oxitetraciclina no leite (DENOBILO, 2002), plasma e líquido sinovial (ESTEBAN, 2003; ESTEBAN et al., 2007).

Nos animais do Grupo 1, submetidos ao tratamento tópico associado à bandagem, não foram observadas complicações ou a queda da atadura em todos os animais e momentos. Além disso, após as trocas das bandagens, a oxitetraciclina em pó apresentou-se concentrada sobre as lesões (Figura 22), indicando que apesar do intervalo de 48 horas entre cada administração, o produto permaneceu aderido à lesão, o que pode ter contribuído para o sucesso do tratamento tópico, conforme observado em outro estudo (BRITT et al., 1999). Entretanto, nenhum relato experimental foi observado na literatura, fazendo uso da oxitetraciclina na forma de pó.

A recuperação das lesões influenciou diretamente na melhoria do grau de claudicação das vacas do Grupo 1 (Tabela 1), tratadas com oxitetraciclina tópica, resultando na ausência de sensibilidade dolorosa (BERRY, 2001; DÖPFER et al., 1997; KOFLER, 1997; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1997; YERUHAM; PERL, 1998). Além disso, a recuperação obtida pela terapia tópica corrobora outros estudos que utilizaram antimicrobianos por esta via, obtendo-se recuperação entre 7 e 30 dias (BRITT et al., 1996; COULON et al., 1996; FAJT; APLEY, 2001; HERNANDEZ et al., 1999; HERNANDEZ; SHEARER, 2000; LAVEN; PROVEN, 2000; NICOLETTI, 2004; OHYA et al., 1999).

Apesar do tratamento tópico com oxitetraciclina ter se mostrado eficiente (Figuras 5, 6, 7, 8) o animal 402 apresentou aumento do grau de claudicação de 3 para 4. Este achado deveu-se à ocorrência de abscesso subsolear no dígito lateral do membro acometido pela lesão. Provavelmente não houve correlação entre a lesão de DDP e o abscesso, uma vez que as principais complicações da DDP são erosão de talão, úlcera de sola, crescimento excessivo do casco, associado freqüentemente a miíases e necrose (MARTINS, et al. 2002), fatos estes não observados nos dígitos desta vaca.

Os resultados insatisfatórios no tratamento da DDP, obtidos a partir da

administração sistêmica de oxitetraciclina, evidenciaram-se pela manutenção do grau de severidade da lesão (Tabela 2 e Figuras 11 e 12) manifestado na maioria dos animais (BERRY, 2001; DÖPFER et al., 1997; OHYA et al., 1999; WALKER et al., 1995; YERUHAM; PERL, 1998). Somente o animal 373 do Grupo 2 (Figuras 9 e 10), tratado por via sistêmica, apresentou melhoria da lesão, passando do grau moderado para leve. Estas observações divergem dos relatos que atribuem uma marcante susceptibilidade das lesões causadas pela DDP, quando da administração tópica ou parenteral de alguns antimicrobianos (BERRY, 2001; BRITT et al., 1996, 1999; FAJT; APLEY, 2001; HERNANDEZ et al., 1999; LAVEN; PROVEN, 2000). Nicoletti (2004) indica o uso parenteral de oxitetraciclina em casos de claudicação grave e refratários a outras terapias.

O grau de claudicação (DESROCHERS et al., 2001) aumentou consideravelmente em todos os animais do Grupo 2, seis horas após a primeira aplicação de oxitetraciclina sistêmica, podendo este fato ser atribuído à ocorrência de miosite nos locais de administração da oxitetraciclina L/A, dificultando a correlação entre os graus de claudicação nos momentos avaliados. Esta condição se manteve durante todo o período de observação dos animais.

Outra razão para o baixo sucesso do tratamento com a oxitetraciclina sistêmica pode, em parte, ser atribuído às concentrações abaixo de 250 ng/ml, obtidas no líquido sinovial, decorrido aproximadamente 48 horas de cada uma das três aplicações, como pode ser observado na Figura 19 e nos momentos M6, M7, M13 e M19 da Tabela 6. Este valor (250 ng/ml) é tido como a menor CIM para bactérias patogênicas mais freqüentemente encontradas em processos infecciosos.

Estudo imunohistoquímico sugere que a DDP é uma enfermidade multifatorial, com o envolvimento de diversas bactérias, destacando-se espécies de *Treponema*, *Campylobacter* e *Fusobacterium necrophorum* (CRUZ et al., 2005). Assim, as CIMs estabelecidas para os principais microorganismos podem servir de balizamento na terapia antimicrobiana em animais acometidos de DDP.

A análise dos valores médios das concentrações de oxitetraciclina (Tabela

6) permitiu observar que a partir da aplicação sistêmica (M_0), ocorreu elevação gradual nos níveis, atingindo o primeiro pico após 12 horas (M_2), sendo que nestes momentos existe diferença estatisticamente significativa. Posteriormente detecta-se queda da concentração, com o nível mais baixo verificado às 72 horas (M_7) e nova elevação após 84 horas (M_8). Este padrão de comportamento nos valores médios das concentrações de oxitetraciclina administrados via sistêmica, se observa de forma semelhante antes e após as outras duas aplicações. A análise dos valores da concentração nestes momentos indica a existência de diferença estatisticamente significativa, entre os picos máximos e mínimos.

A avaliação entre as concentrações determinadas nos momentos M_2 , M_8 , M_{14} , que representam respectivamente 12, 84 e 156 horas, correspondentes aos valores máximos, não demonstram diferença estatisticamente significativa.

Os picos médios das concentrações de oxitetraciclina no plasma (ng/ml) observados para os animais do Grupo 2, que receberam 20 mg/kg, foram de 4512,55, 4374,00, 4275,05 respectivamente nos momentos M_2 , M_8 e M_{14} , sistematicamente 12 horas após as aplicações. Entretanto, Fajt e Apley (2001) administrando 10 mg/kg, identificaram concentrações de tetraciclina no plasma de 1680,00 ng/ml, podendo esta disparidade de concentrações ser inferida as diferentes doses utilizadas.

Ao analisarmos as concentrações médias de oxitetraciclina obtidas no líquido sinovial das vacas tratadas via sistêmica, observamos que os picos de concentração atingem níveis da ordem de 1976,36 ng/ml (M_2), 1839,85 (M_8) e 2095,38 (M_{14}). Estudo in vitro, com bovinos apresentando enfermidades podais, demonstrou a susceptibilidade do *Arcanobacterium pyogenes* a penicilina, amoxicilina, eritromicina, lincomicina e tetraciclina, com relativa resistência bacteriana à oxitetraciclina, onde a Concentração Inibitória Mínima, capaz de inibir o crescimento de 50% das bactérias (CIM50) foi 6,25 µg/ml e a CIM90 (capacidade de inibir o crescimento de 90% das bactérias) apresentou valor de 25 µg/ml (FAJT; APLEY, 2001). Isto significa que mesmo nos momentos de picos da concentração, obtidos com o tratamento sistêmico, nem mesmo se aproximou

destas CIMs previamente estabelecidas (FAJT; APLEY, 2001; FINCH, 1997).

Entre os momentos M_7 , M_{13} , M_{23} , correspondentes respectivamente a 72, 144 e 264 horas, referente aos menores valores médios das concentrações de oxitetraciclina, também não foi observada diferença estatisticamente significativa.

Apesar das oscilações verificadas nas concentrações do líquido sinovial no animal 373 (Grupo 2), estas puderam ter sido suficientes para reduzir o processo infeccioso, o que foi observado pela recuperação parcial da lesão.

As concentrações da tetraciclina nos músculos, ossos, articulações e pele, são reflexo direto da concentração sérica. Apesar de útil em certas circunstâncias e basear-se no princípio de que a concentração tecidual é reflexo direto da concentração sérica do antimicrobiano, distorções desta correlação podem ocorrer (FAJT; APLEY, 2001). Nas vacas do Grupo 2, também se observou paralelismo farmacocinético, pois, as concentrações séricas refletiram de forma diretamente proporcional nas concentrações do líquido sinovial (NAVARRE et al., 1999). Contudo, houve baixa difusão de oxitetraciclina do plasma para o líquido sinovial, possivelmente resultado da dificuldade na penetração e distribuição articular, uma vez que os valores das concentrações no líquido sinovial mostram-se muito abaixo dos encontrados no plasma. Este achado revela que a concentração plasmática de um determinado antimicrobiano, deve ser extrapolada com ressalvas para o tratamento de infecções que envolvam outros sistemas, particularmente o aparelho locomotor.

Os níveis obtidos de oxitetraciclina no líquido sinovial dos animais do grupo 2, foram muito inferiores aos do plasma, fato este não observado com a mesma intensidade quando da administração de tetraciclina sódica cristalina IV (RODRIGUES, 2003). Este achado mostra comportamento diferente da oxitetraciclina L/A quando comparada com tetraciclina sódica cristalina, no que se refere à difusão das tetraciclinas do plasma para o líquido sinovial e leite.

Neste estudo, as análises das concentrações de oxitetraciclina nas vacas tratadas em forma de pó (Grupo 1), demonstraram ausência de resíduos detectáveis em leite. De forma semelhante, Britt et al., 1999, utilizando

oxitetraciclina em solução aquosa, administrada sob a forma de spray ou bandagem com algodão embebido, detectou ausência de resíduos por HPCL no leite de vacas acometidas por DDP, tratadas por via tópica. A análise negativa para oxitetraciclina no plasma pode justificar sua ausência em líquido sinovial e leite, seguindo o conceito de paralelismo farmacocinético (FAJT; APLEY, 2001).

Nas vacas do Grupo 2, que receberam oxitetraciclina sistêmica, detectou-se a presença de resíduos no leite, entre os momentos M_1 e M_{23} , confirmando a necessidade deste ser descartado (BROWN et al., 1986; CHERLET et al., 2000; HADDAD et al., 1986a, b; MORCK et al., 1998; PEDERSOLI et al., 1995; STANEK, 1994; TYCZKOWSKA et al., 1993).

O leite produzido pelos animais do Grupo 2, estaria fora dos padrões normatizados pelo Ministério da Agricultura, por pelo menos 120 horas após a última administração, pois, os LMRs estabelecidos pelo Plano Nacional de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal são da ordem de 100 ng/ml para este antibiótico (BRASIL, 1999). O leite produzido pelos animais deste grupo, não poderia ser liberado para consumo, por apresentar a concentração média de 105,26 ng/ml no M_{23} . A presença destes resíduos no leite pode causar reações alérgicas em indivíduos sensíveis e selecionar cepas bacterianas resistentes nos seres humanos (BRADY; KATS, 1992; BRADY et al., 1993).

Em contrapartida, o leite dos animais do Grupo 1, que receberam tratamento tópico, poderia ser consumido durante todo o tratamento, pois, as análises das concentrações de oxitetraciclina nas amostras de leite em todos os momentos, revelaram valores abaixo dos limites de detecção a partir de 37,5 ng/ml, estabelecidos pelo HPLC (DENOBILO; NASCIMENTO, 2004) e conseqüentemente abaixo do limite de 100 ng/ml (BRASIL, 1999).

6 CONCLUSÕES

- A oxitetraciclina em pó associada à bandagem se mostrou eficiente no tratamento de vacas acometidas por DDP.
- O tratamento sistêmico com oxitetraciclina L/A após 3 administrações foi ineficiente em vacas acometidas por DDP.
- A oxitetraciclina em pó associada à bandagem se mostrou mais eficiente no tratamento de DDP, quando comparada à terapia sistêmica.
- O tratamento tópico não apresenta níveis detectáveis de oxitetraciclina, por cromatografia líquida de alta eficiência, em leite, líquido sinovial e plasma.
- O leite dos animais tratados com oxitetraciclina tópica pode ser consumido durante todo o tratamento, sem a necessidade de respeitar qualquer período de carência.
- O leite dos animais tratados com oxitetraciclina por via sistêmica deveria ser descartado por pelo menos 120 horas após a 3ª aplicação.

7 REFERÊNCIAS

- ANDERSON D. E.; ST-JEAN, G.; MORIN, D. E.; DUCHARME, N. G.; NELSON, D. R.; DESROCHERS, A. Traumatic flexor tendon injuries in 27 cattle. **Vet. Surg.**, v. 25, n. 4, p. 320-326, 1996.
- ARGAEZ-RODRIGUEZ, F. J.; HIRD, D. W.; HERNANDEZ DE ANDA, J.; READ, D. H.; RODRIGUEZ-LAINZ, A. Papillomatous digital dermatitis on a commercial dairy farm in Mexicali, Mexico: incidence and effect on reproduction and milk production. **Prev. Vet. Med.**, v. 32, n. 3-4, p. 275-286, 1997.
- BAGGOTT, D. G.; RUSSELL, A. M. Lameness in cattle. **Br. Vet. J.**, v. 137, n. 1, p. 113-132, 1980.
- BERRY, S. L. Diseases of the digital soft tissues. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, n. 1 v. 17, p. 129-142, 2001.
- BORGES, J. R.; MÁRSICO, F. F. **Podologia bovina**. Rio de Janeiro. Universidade Federal Fluminense/Clínica Veterinária/Departamento de Patologia, 1995, 44p.
- BRADY, M. S.; KATS, S. E. In vitro effect of multiple antibiotic/antimicrobial residues on the selection for resistance in bacteria. **J. AOAC Int.**, v. 75, n. 4, p. 738 – 742, 1992.
- BRADY, M. S.; WHITE, N.; KATZ, S. E. Resistance development potencial antibiotic/antimicrobial residue levels designated as “safe levels”. **J. Food Prat.**, v. 56, n. 3, p. 229 – 233, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 42, de 20 de Dezembro de 1999. O Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária estabelece o Programa de Controle e Resíduos Biológicos em Leite (PCRBL). **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasilia, 22 de dezembro de 1999. Seção 1, p. 213.
- BRITT, J. S.; GASKA, J.; GARRETT, E. F.; KONKLE, D.; MEALY, M. Comparison of topical application of three products for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 209, n. 6, p. 1134-1136, 1996.

BRITT, J. S.; CARSON, M. C.; VON BREDOW, J. D.; CONDON, R. J. Antibiotic residues in milk samples obtained from cows after treatment for papillomatous digital dermatitis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 215, n. 6, p. 833-836, 1999.

BROWN, S. A.; COPPOC, G. L.; RIVIERE, J. E. Effects of dose and duration of therapy on gentamicin tissue residues in sheep. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, n. 11, p. 2373-2379, 1986.

BROWN, C. C.; KILGO, P. D.; JACOBSEN, K. L. Prevalence of papillomatous digital dermatitis among culled adult cattle in the southeastern United States. **Am. J. Vet. Res.**, v. 61, n. 8, p. 928-930, 2000.

CHELI, R.; MORTELLARO, C. M. La dermatite digitale del bovino. In: CONFERENCE ON DISEASE OF CATTLE, 8th., 1974, Milan. **Proceedings...** Milan:[s.n.], 1974. p. 208-213.

CHERLET, M.; BAERE, S. D.; BACKER, P. D. Determination of gentamicin in swine and calf tissues by high-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. **J. Mass. Spectrom.**, v. 35, n. 11, p. 1342-1350, 2000.

CLARKSON, M. J.; DOWNHAM, D. Y.; FAULL, W. B.; HUGHES, J. W.; MANSON, F. J.; MERRIT, J. B.; MURRAY, R. D.; RUSSEL, W. B.; SUTHERST, J. E.; WARD, W. R. Incidence and prevalence of lameness in dairy cattle. **Vet. Rec.**, v. 138, n. 23, p. 563-567, 1996.

COULON, J. B.; LESCOURRET, F.; FONTY, A. Effect of foot lesions on milk production by dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 79, n. 1, p. 44-49, 1996.

CRUZ, C. E.; PESCADOR, C. A.; NAKAJIMA, Y.; DRIEMEIER, D. Immunopathological investigations on bovine digital epidermitis. **Vet. Rec.**, v. 157, n. 26, p. 834-840, 2005.

DONOBILE, M. **Análise de resíduos dos antibióticos oxitetraciclinas, tetraciclina, clortetraciclina, clortetraciclina e doxiciclina em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência.** São Paulo, 2002. 121p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

DENOBILO, M.; NASCIMENTO, E. S. Validação de método para determinação de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina e doxiciclina, em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 40, n. 2, p. 209 – 218, 2004.

DESROCHERS, A.; ST-JEAN, G.; ANDERSON, D. E. Use of facilitated ankylosis in the treatment of septic arthritis of the distal interphalangeal joint in cattle: 12 cases (1987-1992). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 206, n. 12, p. 1923-1927, 1995.

DESROCHERS, A.; ANDERSON, D. E.; ST-JEAN, G. Lameness examination in cattle. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v. 17, n. 1, p. 39-51, 2001.

DIRKSEN, G.; STOBBER, M. Afecções dos cascos dos bovinos. **Hora Vet.**, v. 1, n. 3, p. 13 – 17 , 1981.

DOPFER, D.; KOOPMANS, A., MEIJER, F.A.; SZAKÁ, L. L. I.; SCHUKKEN, Y. H.; KLEE, W.; BOSMA, R. B.; CORNELISSE, J. L.; VAN ASTEN, A. J.; TER HUURNE, A. A. Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and *Campylobacter faecalis*. **Vet. Rec.**, v. 140, n. 24, p. 620-623, 1997.

ESTEBAN, C. **Comparação entre as concentrações de tetraciclina no plasma, líquido sinovial e leite de vacas com doença de casco, submetidas à administração intravenosa e intravenosa regional e sua implicação na presença de resíduos em leite**. São Paulo, 2003. 76f. Dissertação (Mestrado em toxicologia e análises toxicológicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

ESTEBAN, C.; RODRIGUES, C. A.; NASCIMENTO, E. S. Determinação de tetraciclina em líquido sinovial de vacas com doença podal. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 43, n. 2, 2007. No prelo

FAJT, V. R.; APLEY, M. D. Antimicrobial issues in bovine lameness. **Vet. Clin. North Am.**, v. 17, n. 1, p. 159-174, 2001.

FERGUSON, J. G. Surgery of distal limb. In: GREENOUGH, P. R.; WEAVER, A. D. **Lameness in cattle**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. Chap. 16, p. 248-261.

FINCH, R. G. Tetracyclines. In: O'GRADY, F.; LAMBERT, H. P. **Antibiotic and chemotherapy: anti infective agents and their use in therapy**. 7th. ed. London: Churchill Livingstone, 1997. Chap. 35, p. 469-484.

FURUSAWA, N. Rapid liquid chromatographic determination of oxytetracycline in milk. **J. Chromatogr. A.**, v. 839, n. 1-2, p. 247 – 251, 1999.

GREENOUGH, P. R.; BROOM, D. M.; ESSLEMONT, R. J.; GALINDO, F. A. Basic concepts of bovine lameness. In: GREENOUGH, P. R.; WEAVER, A. D. **Lameness in cattle**. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. Chap. 1, p. 3-13.

GRUND, S.; NATTERMANN, H.; HORSCH, F. Zum elektronenmikroskopischen Spirochäten-Nachweis bei der dermatitis digitalis des Rindes. **J. Vet. Med. B.**, v. 42, n. 9, p. 533-542, 1995.

HADDAD, N. S.; RAVIS, W. R.; PEDERSOLI, W. M.; CARSON JUNIOR, R. L. Pharmacokinetics of single doses of gentamicin given by intravenous and intramuscular routes to lactating cows. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, n. 4, p. 808-813, 1986a.

HADDAD, N. S.; PEDERSOLI, W. M.; CARSON JUNIOR, R. L.; RAVIS, W. R. Concentrations of gentamicin in serum, milk, urine, endometrium, and skeletal muscle of cows after repeated intrauterine injections. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, n. 7, p. 1597-1601, 1986b.

HERNANDEZ, J.; SHEARER, J. K. Efficacy of oxytetracycline for treatment of papillomatous digital dermatitis lesions on various anatomic locations in dairy cows. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 216, n. 81, p. 1288-1290, 2000.

HERNANDEZ, J.; SHEARER, J. K.; ELLIOTT, J. B. Comparison of topical application of oxytetracycline and four nonantibiotic solutions for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 214, n. 5, p. 688-690, 1999.

HONNAS, C. M.; SCHUMACHER, J.; COHEN, N. D.; WATKINS, J. P.; TAYLOR, T. S. Septic tenosynovitis in horse: 25 cases (1983-1989). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 199, n. 11, p. 1616-1622, 1991.

KASARI, T. R.; MARQUIS, H.; SCANLAN, C. M. Septic arthritis and osteomyelitis in a bovine digit: a mixed infection of *Actinomyces pyogenes* and *Fusobacterium necrophorum*. **Cornell Vet.**, v. 78, n. 3, p. 215-219, 1988.

KOFLER, J. Dermatitis digitalis ("Mortellaro disease") in einem Milchviehbestand in Niederösterreich. **Wien Tierärztl Mschr.**, v. 84, n. 9, p. 254-265, 1997.

LAVEN, R. A.; PROVEN, M. J. Use of an antibiotic footbath in the treatment of bovine digital dermatitis. **Vet. Rec.**, v. 147, n. 18, p. 503-506, 2000.

MARTINS FERREIRA, C.; SARTI, E.; BUSATO, I.; PAULO, P. P.; HIRATA, C. F.; MOREIRA, C.; SOARES, K.; BETINI, B.; VELASQUEZ, M. Prevalência e classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de Campo Grande - MS e municípios arredores. **Ensaio e Ciência**, v. 6, n. 2, p. 113 – 137, 2002.

MORCK, D. W.; OLSON, M. E.; LOUIE, T. J.; KOPPE, A.; QUINN, B. Comparison of ceftiofur sodium and oxytetracycline for treatment of acute interdigital phlegmon (foot rot) in feedlot cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 212, n. 2, p. 254-257, 1998.

NAVARRE, C. B.; ZHANG, L.; SUNKARA, G.; DURAN, S. H.; KOMPELLA, U. B. Ceftiofur distribution in plasma and joint fluid following regional limb injection in cattle. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, v. 22, n. 1, p. 13-19, 1999.

NICOLETTI, J. L. M. **Manual de Podologia Bovina**. Barueri: Manole, 2004. 126p.

NUSS, K.; WEAVER, M. P. Resection of the distal interphalangeal joint in cattle: an alternative to amputation. **Vet. Rec.**, v. 128, n. 23, p. 540-543, 1991.

OHYA, T.; YAMAGUCHI, H.; NII, Y.; ITO, H. Isolation of *Campylobacter sputorum* from lesions of papillomatous digital dermatitis in dairy cattle. **Vet. Rec.**, v. 145, n. 11, p. 316-318, 1999.

ORSINI, J. A. Strategies for treatment of bone and joint infections in large animals. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 185, n. 10, p. 1190-1193, 1984.

PALERMO NETO, J. Resíduos de antimicrobianos em alimentos. **Rev. Cons. Fed. Med. Vet.**, v. 7, n. 22, p. 65-71, 2001.

PEDERSOLI, W. M.; JACKSON, J.; FROBISH, R. A. Depletion of gentamicin in the milk of Holstein cows after single and repeated intramammary and parenteral treatments. **J. Vet. Pharmacol Ther.**, v. 18, n. 6, p. 457-463, 1995.

RODRIGUES, C. A. **Comparação entre as concentrações de oxitetraciclina no plasma, líquido sinovial e leite de vacas acometidas de dermatite digital papilomatosa, submetidas a administração intravenosa e intravenosa regional**. Botucatu, 2003. 102f. Tese (Doutorado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP.

RODRIGUEZ-LAINZ, A.; HIRD, D.W.; CARPENTER, T.E.; READ, D. H. Case-control study of papillomatous digital dermatitis in southern California dairy farms. **Prev Vet. Med.**, v. 28, n. 2, p. 117-131, 1996a.

RODRIGUEZ-LAINZ, A.; HIRD, D. W.; WALKER, R. L., READ, D. H. Papillomatous digital dermatitis in 458 dairies. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 209, n. 8, p. 1464-1467, 1996b.

RODRIGUEZ-LAINZ, A.; MELENDEZ-RETAMAL, P.; HIRD, D. W.; READ, D. H.; SILVA, L. A. F.; SILVA, L. M.; ROMANI, A. F.; RABELO, R. E.; FIORAVENTI, M. C.S.; SOUZA, T. M.; SILVA, C.A. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes no município de Orizónia – GO. **Ciênc. Anim. Bras.**, v. 2, n.2, p. 119 – 126, 2001.

SILVA, L. A. F.; FIORAVENTI, M. C. S.; TRINDADE, B. R.; SILVA, O. C.; EURIDES, D.; CUNHA, P. H. J.; SILVA, L. M.; MOURA, M. I. Enfermidades digitais em vacas de aptidão leiteira: Associação com mastite clínica, metrite e aspectos epidemiológicos. **Pesqui. Vet. Bras.**, v. 24, n. 4, p. 217 – 222, 2004.

STANEK, C. Basis of intravenous regional antibiotics in digital surgery in cattle. **Israel J. Vet. Med.**, v. 49, n. 2, p. 53-58, 1994.

STANEK, C. Septic arthritis of the hoof joint in the horse--diagnosis, radiologic changes and therapy. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 139, n. 3, p. 134-143, 1997.

- THURMON, J. C.; KO, J. C. H. Anesthesia and chemical restraint. In: GREENOUGH, P. R.; WEAVER, A. D. **Lameness in Cattle**. 3rd. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. Chap. 4, p.41-55.
- TRENT, A. M.; REDIC-KILL, K. A. Clinical pharmacology. In: GREENOUGH, P. R.; WEAVER, A. D. **Lameness in Cattle**. 3.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. Chapter 5, p. 56-70.
- TYCZKOWSKA, K. L.; VOYKSNER, R. D.; ANDERSON, K. L.; ARONSON, A. L. Determination of ceftiofur and its metabolite desfuoylceftiofur in bovine serum and milk by ion-paired liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, v. 614, n. 1, p. 123-134, 1993.
- WALKER, R. L.; READ, D. H.; LORETZ, K. J.; NORDHAUSEN, R. W. Spirochetes isolated from dairy cattle with papillomatous digital dermatitis and interdigital dermatitis. **Vet. Microbiol.**, v. 47, n. 3-4, p. 343-355, 1995.
- WALKER, R. L.; READ, D. H.; LORETZ, K. J.; HIRD, D. W.; BERRY, S. L. Humoral response of dairy cattle to spirochetes isolated from papillomatous digital dermatitis lesions. **Am. J. Vet. Res.**, v. 58, n. 7, p. 744-748, 1997.
- WELLS, S. J.; GARBER, L. P.; WAGNER, B. A. Papillomatous digital dermatitis and associated risk factors in US dairy herds. **Prev. Vet. Med.**, v. 38, n. 1 p. 11-24, 1999.
- WHITAKER, D. A.; KELLY, J. M.; SMITH, E. J. Incidence of lameness in dairy cows. **Vet. Rec.**, v. 113, n. 3, p. 60-62, 1983.
- YERUHAM, I.; PERL, S. Clinical aspects of an outbreak of papillomatous digital dermatitis in a dairy cattle herd. **J. S. Afr. Vet. Assoc.**, v. 69, n. 3, p. 112-115, 1998.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1998. 930 p.