

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA VETERINÁRIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

**EFICÁCIA DO HOOF CARE® NO TRATAMENTO DA DERMATITE DIGITAL
EM VACAS LEITEIRAS**

ANA PAULA ABREU MENDONÇA

Botucatu - São Paulo
Maio, 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA VETERINÁRIA E REPRODUÇÃO ANIMAL

**EFICÁCIA DO HOOF CARE® NO TRATAMENTO DA DERMATITE DIGITAL
EM VACAS LEITEIRAS**

ANA PAULA ABREU MENDONÇA

Dissertação apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal
para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

Botucatu, São Paulo

Maio, 2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Mendonça, Ana Paula Abreu.

Eficácia do HoofCare® no tratamento da dermatite digital em vacas leiteiras / Ana Paula Abreu Mendonça. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Celso Antonio Rodrigues

Capes: 50501003

1. Bovino de leite - Claudicação. 2. Dermatite Digital - Tratamento. 3. Termografia. 4. Evolução clínica.

Palavras-chave: Claudicação; Dermatite digital bovina; Evolução clínica; Termografia; Vaca leiteira.

Nome do Autor: Ana Paula Abreu Mendonça

Título: Eficácia do Hoofcare® no tratamento da dermatite digital em vacas leiteiras.

Comissão examinadora

Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues

Presidente da banca e Orientador

Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff

Membro da Banca

Departamento de Clínica Médica de Grandes Animais

Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba/PR

Professor Dr. Fabio Celidonio Pogliani

Membro da Banca

Departamento de Clínica Médica

Universidade de São Paulo - FMVZ

Data da Defesa: 06 de maio de 2021

AGRADECIMENTOS

À Deus por sua infinita misericórdia, por ter me dado força e sabedoria. Obrigada por permitir eu chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. Celso Antonio Rodrigues, pela oportunidade que me foi dada. Obrigada por toda a orientação, conselhos e confiança.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

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

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Salmix pela parceria e auxílio, ao qual tornou possível esse projeto.

Aos proprietários da Fazenda Lodi, Maiara Rigoni Lodi e Gilberto Lodi, por terem disponibilizado a propriedade e os animais para este projeto e ao Médico Veterinário Piero Henrique Teodoro por todo apoio e confiança.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa José Ricardo Barbosa e Raymis Bruno Rosa Moura por toda ajuda, colaboração e companheirismo.

À Miriam Rodrigues por toda ajuda e esclarecimentos sobre a termografia.

Aos professores da FMVZ-UNESP pelo conhecimento compartilhado.

Aos meus pais José Paulo e Sueli pelo amor e apoio incondicional. Não teria conseguido sem vocês.

Ao meu irmão Paulinho pela parceria, companheirismo e crença inabalável em mim.

Ao meu namorado Rodrigo por todo carinho, colaboração e paciência. Obrigada pela fé em mim, mesmo quando eu não tinha.

Aos meus sogros Maria de Lourdes e Jair Benedito pelo acolhimento e carinho.

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

Ao professor Alexandre Redson pelos conselhos sinceros, ajuda e amizade.

Aos meus amigos, pelas palavras de apoio e força, e que mesmo de longe mantiveram sua fé em mim. Meu muito OBRIGADA!

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Dermatite digital.....	3
2.1.1. Etiopatogenia.....	3
2.1.2. Características das lesões.....	4
2.1.3. Diagnóstico.....	5
2.1.4. Tratamento e prevenção.....	6
2.1.4.1. Tratamento com antibióticos.....	6
2.1.4.2. Tratamento sem antibióticos.....	8
2.1.4.3. Prevenção e controle.....	9
2.2. Propriedades do Hoofcare®.....	12
2.3. Termografia Infra Vermelha.....	15
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivo geral.....	16
3.2. Objetivos específicos.....	17
4. REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 2.....	35
5. ARTIGO CIENTÍFICO.....	35

MENDONÇA, A.P.A. Eficácia do Hoofcare® no tratamento da dermatite digital em vacas leiteiras. Botucatu, 2021. 59p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

RESUMO

A dermatite digital (DD) é uma das principais afecções podais que gera prejuízos à pecuária nacional, especialmente para bovinocultura de leite. Apesar do tratamento frequentemente cursar com antibioticoterapia, com a limitação da legislação das terapias permitidas e a necessidade de respeitar o período de carência do leite, a busca de alternativas terapêuticas é crescente e necessária. Atualmente, o produto comercial Hoofcare® tem demonstrado bons resultados em diversas propriedades brasileiras para o tratamento da enfermidade. No entanto, são apenas observações empíricas. Portanto, o objetivo desse estudo foi determinar a eficácia do tratamento tópico com o produto contendo ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, citrato de cobre e cloreto de zinco (Hoofcare®) para DD, e assim, validar esse tratamento como extensão das recomendações do fabricante do produto. Utilizou-se 36 vacas Holandesas de alta produção leiteira apresentando DD em pelo menos um dos membros. As vacas foram divididas de forma aleatória em dois grupos, sendo o grupo de tratamento alternado (GTA) composto por 21 membros tratados por três dias alternados a cada 48 horas, e o grupo de tratamento contínuo (GTC) composto por 21 membros tratados a cada 24 horas durante cinco dias. A hipótese era que haveria diferença significativa entre os protocolos no tratamento da DD, com melhor resposta para o GTC. A caracterização da recuperação clínica foi constatada pelo exame de claudicação no D0 (momento de identificação da lesão e prévio ao tratamento), D4 (quarto dia de tratamento) e D10 (cinco dias após o término do tratamento). Além disso, as lesões foram submetidas a análise qualitativa, quantitativa e termográfica nos dias D0, D4 e D10, a fim de avaliar o processo de cicatrização e cura da lesão. Os dados foram analisados e comparados entre os diferentes momentos e grupos. Em ambos os protocolos terapêuticos, houve melhora da claudicação ($P < 0,01$), redução da área da lesão em cm^2 ($P < 0,05$) e involução

do estágio ativo para inativo da lesão ($P < 0,01$), não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$). Assim, os protocolos alternado e contínuo, foram eficazes para tratar a enfermidade. No entanto, como este é o primeiro estudo que avalia este produto comercial, não houve adoção de medidas preventivas, e o tempo de acompanhamento foi curto, investigações futuras com maior tempo de acompanhamento para determinar o processo da cura completa da lesão são necessárias.

Palavras Chave: claudicação, dermatite digital bovina, evolução clínica, termografia, vaca leiteira.

MENDONÇA, A.P.A. Eficácia do Hoofcare® no tratamento da dermatite digital em vacas leiteiras [Effectiveness of Hoofcare® in the treatment of digital dermatitis in dairy cows] Botucatu, 2021. 59p. Dissertation (Master course of Animal Biotechnology) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu, São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

ABSTRACT

Digital dermatitis (DD) is one of the main foot disorders that generates economic losses, mainly in dairy cattle. Although treatment is usually with antibiotic therapy, with the limitation of the legislation on permitted therapies and the need to respect the milk withdrawal period, the search for new alternatives is increasing and necessary. Currently, the commercial product Hoofcare® presents good results in several Brazilian farms for the treatment of the disease. However, there are only empirical observations. Therefore, the aim of this study was to determine the effectiveness of topical treatment with the product containing citric acid, tea tree essential oil, copper citrate and zinc chloride (Hoofcare®) for DD, and thus, to validate this treatment as an extension of product manufacturer's recommendations. Thirty-six high-yielding Holstein-Friesian cows with DD in at least one limb were used. The cows were randomly divided into two groups, the alternate treatment group (ATG) consisting of 21 limbs treated during three alternate days every 48 hours, and the continuous treatment group (CTG) consisting of 21 limbs treated each 24 hours during five days. The hypothesis was that there would be a significant difference between the protocols in the treatment of DD, with a better response for the GTC. The characterization of clinical recovery was verified by the lameness exam on D0 (time of identification of the lesion and prior to treatment), D4 (fourth day of treatment) and D10 (five days after the end of treatment). In addition, the lesions were submitted to qualitative, quantitative and thermographic analysis on days D0, D4 and D10, in order to assess the process of healing and cure of the lesion. Data were analyzed and compared between different times and groups. In both therapeutic protocols, there was improvement in lameness ($P < 0.01$), reduction in the area of the lesion in cm^2 ($P < 0.05$) and involution from active to inactive stage of the lesion ($P <$

0.01), no with significant difference between treatments ($P > 0.05$). Thus, the alternating and continuous protocols were effective to treat the disease. However, as this is the first study to evaluate this commercial product, there was no adoption of preventive measures, and the follow-up time was short, future investigations with longer follow-up time to determine the process of complete healing of the lesion are necessary.

Keywords: lameness, bovine digital dermatitis, clinical evolution, thermography, dairy cow.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo estimado em 214,89 milhões de cabeças, com a bovinocultura responsável por movimentar grande parte da economia brasileira (IBGE, 2019). As afecções podais que variam em prevalência de 2,04% (POZZATTI et al., 2018) a 100% (SERRA et al., 2017) são consideradas como um dos principais obstáculos à produtividade, sendo superadas apenas pelas enfermidades reprodutivas e da glândula mamária (NICOLETTI et al., 2001; NUFFEL et al., 2015; ZHANG et al., 2015).

A dermatite digital (DD) é uma das enfermidades podais com maior prevalência na pecuária leiteira, sendo considerada como entrave econômico (CRUZ et al., 2001). A DD pode ser descrita como uma lesão inflamatória altamente contagiosa da pele digital dos bovinos e, possui etiologia multifatorial, com incidência e prevalência variáveis. A incidência varia de 71,42% (RODRIGUES, 2016) a 96,7% (CRAMER et al., 2008), enquanto a prevalência varia de 3,32% (AHMED; SHEKIDEF, 2012) a 83% (HOLZHAUER et al., 2006), com caráter endêmico em sistemas de confinamento, principalmente do tipo *free-stall* (WILSON-WELDER et al., 2015; MOREIRA et al., 2018).

Em relação aos prejuízos econômicos, estima-se uma média de custo de US\$ 132,96 por cada caso de DD (CHA et al., 2010), mesmo nos casos sem claudicação evidente (PALMER; O'CONNELL, 2015), considerando o ônus com tratamentos, descarte do leite e comprometimento do desempenho zootécnico (AKIN; AKIN, 2018).

A etiologia da doença apesar de não estar totalmente elucidada, pode ser considerada como polimicrobiana. O predomínio das espiroquetas na doença é comprovado, não sendo conhecida até o momento todas as espécies de *Treponema* spp. envolvidas, e se todas seriam de cunho patogênico (WILSON-WELDER et al., 2015; NIELSEN et al., 2016; MOREIRA et al., 2018). Além disso, *Fusobacterium necrophorum* e *Dichelobacter nodosus* também são relatados como agentes oportunistas da enfermidade (LEÃO et al., 2005; WILSON-WELDER et al., 2015; MOREIRA et al., 2018).

O tratamento convencional é realizado com antibióticos tópicos e/ou sistêmicos (LAVEN; LOGE, 2006). Dentre estes, destaca-se a administração de oxitetraciclina de longa ação por via sistêmica na dose de 20mg/kg (NICOLETTI, 2004; LOUREIRO et al., 2010) e tópica de 2g a 25g por aplicação (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; NICOLETTI, 2004; SILVA et al., 2005; LOUREIRO et al., 2010; CRAMER; SOLANO; JOHNSON, 2019). No entanto, apesar destas terapias apresentarem boa eficácia, a restrição de presença de resíduos de antibióticos no leite e a necessidade de respeitar o tempo de carência, limitam as alternativas de tratamento (CRAMER; SOLANO; JOHNSON, 2019). Ademais, o uso excessivo ou inadequado da terapia antimicrobiana tem propiciado cepas resistentes (KAMILOGLU; DEMIRKAN; BARAN, 2002; NISHIKAWA; TAGUCHI, 2008). Associado a isso, o crescimento contínuo da produção de leite orgânico no Brasil (SOARES et al., 2011), Estados Unidos e Europa (MCBRIDE; GREENE, 2009) na última década vem incentivando a busca por terapias alternativas, sem uso de antibióticos para controle e tratamento da enfermidade no rebanho leiteiro (CUNHA, 2000; MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002).

A eficácia de tratamento com substâncias não antibióticas como sulfato de cobre (TEIXEIRA et al., 2010), óleo de copaíba (BOMJARDIM et al., 2020) e ácido salicílico (BOMJARDIM et al., 2020) vem sendo comprovada em estudos, reforçando a busca por terapias com melhor custo benefício para os produtores. Atualmente, um produto a base de ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, citrato de cobre e cloreto de zinco (Hoofcare®) tem demonstrado bons resultados a campo em diversas propriedades brasileiras¹.

O cobre e o zinco são microminerais que possuem ação antimicrobiana conhecidas e são considerados essenciais para o processo de cicatrização de feridas (LANSDOWN et al., 2007; BORKOW, 2014). O óleo de melaleuca por suas propriedades antimicrobianas é utilizado como ingrediente ativo em muitas formulações tópicas na medicina humana no tratamento de doenças cutâneas (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006). Apesar destes compostos apresentarem isoladamente propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias conhecidas (BAKKALI et al., 2008), a sugestiva eficácia da interação destes componentes

¹ Informação fornecida pelo Médico Veterinário Coordenador Técnico de Ruminantes da Salmix Piero Henrique Teodoro em reunião na FMVZ-UNESP em São Paulo, em julho de 2020.

não apresenta comprovação científica, sendo necessário maiores informações sobre a real eficácia do produto comercial, viabilidade econômica, praticidade e melhor forma de aplicação para o tratamento da DD.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Dermatite Digital

2.1.1. Etiopatogenia

A DD é caracterizada como uma infecção da pele digital localizada comumente na região acima dos talões (BORGES et al., 2017). Foi descrita pela primeira vez na Itália em 1974, com relatos posteriores na Europa e América do Norte, sendo considerada atualmente uma doença cosmopolita (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; PLUMMER; KRULL, 2017). É relatada em bovinos de leite (MOLINA et al., 1999; CRUZ et al., 2001; SILVA et al., 2001; MACHADO et al., 2008, MOREIRA et al., 2018, BOMJARDIM et al., 2020) e de corte (CRUZ et al., 2005, SILVEIRA et al., 2018) em diversos estados brasileiros com apresentação clínica semelhante, sendo uma das doenças digitais mais comuns no país (LEÃO et al., 2008; MOREIRA et al., 2018).

Com etiologia multifatorial, diversos fatores podem estar envolvidos, atuando de forma isolada ou em conjunto, e que variam a depender do sistema de produção (LEÃO et al., 2009; POZZATTI et al., 2018). Os principais fatores de risco para ocorrência de DD incluem inadequações no ambiente, predisposição genética, manejo, clima, estação do ano e nutrição (SILVA et al., 2001). Instalações com higiene precária, umidade excessiva (SILVA et al., 2001; POZZATTI et al., 2018; SILVEIRA et al., 2018), pisos abrasivos (CASAGRANDE, 2010; SILVEIRA et al., 2018), ausência de critérios de biosseguridade com relação às doenças de casco, (SILVEIRA et al., 2018), alta taxa de lotação e/ou mudança brusca na dieta (SILVA et al., 2001; SOMERS et al., 2005) apresentam maior predisposição ao desenvolvimento da doença.

Vacas primíparas apresentam sugestiva maior suscetibilidade para o desenvolvimento da doença e menor responsividade ao tratamento, necessitando de maior tempo para a cura da lesão (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; SOMERS et al., 2005; NISHIKAWA; TAGUCHI, 2008). Essa

suscetibilidade das primíparas deve-se provavelmente às mudanças drásticas de ambiente, nutrição e menor resposta imune em comparação com as múltíparas. Fato condizente com o estudo de Nielsen e colaboradores (2009), que na ausência das mudanças citadas acima, não observaram diferença significativa na prevalência da DD e no tempo de cura da lesão entre as duas categorias. Embora a doença seja mais frequentemente observada em vacas com mais idade, animais de todas as faixas etárias são suscetíveis à enfermidade (LEÃO et al., 2009)

Considerada como uma doença polimicrobiana, não há comprovação de envolvimento viral e fúngico, com apenas agentes bacterianos identificados, como o *Fusobacterium necrophorum*, *Dichelobacter nodosus* e especialmente as espiroquetas do gênero *Treponema* sp. (PLUMMER; KRULL, 2017; MOREIRA et al., 2018). Acredita-se que os treponemas sejam responsáveis pela patogenicidade da doença (NIELSEN et al., 2016; BENINGER et al., 2018; WATTS et al., 2020), sendo induzida experimentalmente com sucesso apenas duas vezes por inoculação de *Treponema* spp. (GOMEZ et al., 2012; KRULL et al., 2016).

A depender da gravidade da lesão e comprometimento da região adjacente, os animais enfermos vão apresentar dor intensa, permanecendo deitado por mais tempo. Desta forma, resultando em menor ingestão de alimento, e por sua vez, perda de peso, queda na produção de leite e redução da taxa de fertilidade (PLUMMER; KRULL, 2017).

2.1.2. Características das lesões

As lesões de DD são observadas com maior frequência na superfície plantar acima dos talões dos membros pélvicos, podendo se estender por toda a região da pele interdigital (READ; WALKER, 1998; BORGES et al., 2017). Diversos sistemas foram desenvolvidos para classificação macroscópica das lesões (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; KRULL et al., 2014), sendo o sistema de pontuação do *M-stage*, o mais utilizado nos últimos anos (SOLANO et al., 2017; HARRIS-BRIDGE et al., 2019; BOMJARDIM et al., 2020).

O sistema M foi desenvolvido por Döpfer et al. (1997) e adaptado por Berry et al. (2012). Recentemente, Kofler et al. (2020) alteraram o sistema, ao trocar a

pontuação M5 (Berry et al., 2012) por M0, ambos correspondendo a ausência da lesão. Com base na aparência macroscópica, esse sistema caracteriza os diferentes estágios clínicos da DD, permitindo a observação das transições entre eles. O sistema consiste em pontuar cinco *M-stages*: M0 – lesão inexistente, pele sem sinais visíveis de lesões de DD; M1 – estágio inicial da DD, com lesão circunscrita e pequena (<2cm) com aspecto cinza-avermelhada; M2 – lesão ulcerativa e aguda (> 2cm), com aspecto vermelho ou cinza-avermelhada; M3 - lesão com aparência cicatricial e indolor ao toque, com coloração preta, cinza, verde-azul ou marrom, e formação de crosta; M4 - lesão crônica de vários tamanhos com coloração marrom-acinzentado, indolor ao toque e com hiperqueratose circunscrita ou crescimento proliferativo irregular; M4.1 – lesão M4 com uma lesão nova (M1) em desenvolvimento (KOFLEER et al., 2020).

2.1.3. Diagnóstico

O diagnóstico da doença é realizado pela visualização das lesões por inspeção direta ou indireta, que podem estar associadas ou não a histórico de claudicação e queda na produção de leite kg/dia (GREENOUGH et al., 1997; DESROCHERS; ANDERSON; ST-JEAN, 2001; NICOLETTI, 2004; BERRY et al., 2012).

As lesões podem ser observadas no momento do casqueamento de rotina, no exame específico dos dígitos após constatação da claudicação (DESROCHERS; ANDERSON; ST-JEAN, 2001; NISHIKAWA; TAGUCHI, 2008; PALMER; O'CONNELL, 2015), ou ainda, na ordenha com auxílio do boroscópio rígido (LAVEN; HUNT, 2002; STOKES et al., 2012) ou com espelho em dispositivo junto com espelho (RELUN et al., 2011).

A claudicação pode ser constatada ao realizar o exame de locomoção, observando se o animal apresenta movimento de cabeça, relutância em se locomover, postura de falsa cifose no intuito de distribuir o peso do corpo de maneira confortável, e encurtamento das passadas (THOMSEN; MUNKSGAARD; TOGERSEN, 2008). Diversas escalas para pontuar a locomoção de bovinos estão descritas na literatura, variando de 0 a 4 (WELLS et al., 1993) ou 1 a 5 (GREENOUGH, 1997; SPRECHER; HOSTETLER, KANEENE, 1997) sendo o escore mínimo referente a locomoção normal e o

máximo, claudicação grave. Apesar das lesões serem dolorosas, e a claudicação ser um sinal comum na DD, o animal pode não apresentar claudicação evidente (LAVEN; HUNT, 2002), o que pode justificar a prevalência subestimada pelos produtores.

Estudos recentes sugerem o uso da termografia infravermelha como um bom exame complementar para o diagnóstico precoce da DD (ALSAOOD et al., 2014; HARRIS-BRIDGE et al., 2019).

2.1.4. Tratamento e prevenção

O tratamento da DD deve ser associado ao manejo de controle e prevenção, consistindo assim em duas ações básicas: 1) intervenção terapêutica focada no animal com claudicação clínica ou que apresenta lesões características, e 2) procedimentos de prevenção focados no rebanho, objetivando inibir a evolução da doença. De forma geral, como a doença é endêmica na maioria das propriedades, recomenda-se a utilização de medidas para controle da disseminação, com o intuito de minimizar a doença clínica e não erradicar a DD, sendo a erradicação raramente observada independentemente da terapia utilizada (LAVEN; LOGUE, 2006; PLUMMER; KRULL, 2017).

Apesar da enfermidade ser responsável por perdas econômicas consideráveis, Cha e colaboradores (2010) recomendaram que o tratamento seja realizado em 95,5% dos casos, com o manejo terapêutico dependendo das condições da fazenda (prevalência, gravidade e tempo que o rebanho está infectado com DD e do produto a ser utilizado (LAVEN; LOGUE, 2006).

2.1.4.1. Tratamento com antibiótico

A DD é caracterizada como uma doença polimicrobiana, sendo a terapia antimicrobiana o tratamento tradicional. Dentre a variedade de antibióticos

, propostos, a oxitetraciclina é o mais utilizado. Os protocolos variam desde a forma tópica e/ou sistêmica com eficácia comprovada, indicando que os agentes patogênicos são sensíveis a esse antibiótico (VAN AMSTEL et al., 1995; BRITT et al., 1996; MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; LOUREIRO et al., 2010). No entanto, vale ressaltar que a via de aplicação, a duração do

tratamento e histórico farmacológico da propriedade, podem influenciar na taxa de cura das lesões. Fato observado por Nishikawa e Taguchi (2008), que ao avaliarem a eficácia de uma única aplicação de oxitetraciclina tópica em propriedade com histórico de uso prologando do fármaco, observaram taxa de cura de apenas 13,8% e 38,7% em vacas primíparas e múltiparas respectivamente. A baixa taxa de cura observada é condizente com os 20% encontrados por Shearer e Hernandez (2000). Apesar do estudo avaliar aplicações repetidas da oxitetraciclina, a propriedade analisada também apresentava histórico de uso prologado do fármaco, sugerindo resistência dos patógenos à oxitetraciclina.

É comprovado que a oxitetraciclina possui importante efeito anti-inflamatório em *Treponema* sp. associadas a DD, melhorando clinicamente as lesões (WATTS et al., 2020). Embora exista descrições de regular a boa eficácia com o uso da oxitetraciclina tópica sem bandagem (55%), e associada ao debridamento cirúrgico e bandagem (86%) (TOHOLJ et al., 2012), informações sobre qual é a dose mais apropriada para uma boa taxa de cura da lesão, e ainda respeitar as recomendações do Plano Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal (PNCRB) são necessárias (PLUMMER; KRULL, 2017; CRAMER; SOLANO; JOHNSON, 2019).

A terapia sistêmica exige o descarte do leite por um período prolongado, com taxa de cura variável (LEÃO et al., 2005; LOUREIRO et al., 2010). Contudo, um protocolo tópico com seis bandagens com 5g de cloridrato de oxitetraciclina com intervalo de 48h não só foi eficiente no tratamento da DD, mas também não apresentou níveis detectáveis do antibiótico no plasma, no líquido sinovial e no leite. Isso permitiria o consumo do leite durante todo o período de tratamento (LOUREIRO et al., 2010), e indica que o sucesso da terapia depende do número de aplicações (VAN AMSTEL et al., 1995). Apesar disso, ainda existe risco de resíduos de antibiótico no leite pós-tratamento tópico com oxitetraciclina, seja em doses altas (25g) e baixas (2 e 5g), evidenciando a necessidade de implementação de medidas práticas e de segurança (CRAMER; SOLANO; JOHNSON, 2019).

O uso de antibióticos no pedilúvio como eritromicina (35mg/litro), oxitetraciclina (solução de 0,4%) e lincomicina (0,01%) tem demonstrado relativa eficácia para lesões de DD (GUARD, 1999; LAVEN; PROVEN, 2000). No

entanto, pelo custo elevado do tratamento, restrições legislativas acerca dos resíduos no leite e desconhecimento sobre toxicidade ambiental, o uso não é licenciado em diversos países (LAVEN; LOGUE, 2006).

Terapias com outros antibióticos são descritas com sugestiva eficácia, como a penicilina, ceftiofur sódico e lincomicina (PLUMMER; KRULL, 2017). Como a DD é polimicrobiana, estudos identificaram maior suscetibilidade dos treponemas às penicilinas, e susceptibilidade intermediária para lincomicina, oxitetraciclina e ceftiofur (EVANS; MURRAY; CARTER, 2016).

Moore et al. (2001) e Berry et al. (2012) demonstram que o uso de 10g de lincomicina em forma de pasta com bandagem, foi eficaz na transição de lesões ativas para inativas. Protocolo terapêutico com tianfenicol em spray por três dias consecutivos apresentou eficácia de 89% na cura de lesões em estágio ativo (M2) em estudo clínico (HOLZHAUER et al., 2017).

O uso da penicilina G procaína (18.000 UI/kg a cada 12 horas; intramuscular) por três dias induz melhora rápida das lesões clínicas de DD, em comparação ao ceftiofur (2 mg/kg a cada 12 horas; intramuscular) por três dias (READ; WALKER, 1998). Contudo, semelhante a outros beta-lactâmicos, a penicilina apresenta um tempo de carência prolongado, não apresentando um bom custo benefício para os produtores de leite. Ademais, apesar do ceftiofur apresentar carência zero no leite, a taxa de eficácia deste antimicrobiano para DD é muito inferior quando comparados a outros tratamentos disponíveis (NICOLETTI, 2004; SILVA et al., 2005).

2.1.4.2. Tratamento sem antibióticos

O casqueamento associado a limpeza mecânica com água e curetagem quando necessário pode ter efeito curativo em até 34% das lesões de DD. Assim, ao se realizar duas aplicações de oxitetraciclina em conjunto com esse manejo, a taxa de cura das lesões aumenta significativamente (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002). Independente do tratamento, recomenda-se a realização do casqueamento associado (TOHOLJ et al., 2012).

O cobre ionizado acidificado parecia uma alternativa promissora e que, segundo o fabricante, possuiria menos perigo de manuseio com eficácia comprovada por pulverização (BRITT et al., 1996) e no pedilúvio (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002), inclusive com resultado melhor que a solução de formalina (HOLZHAUER et al., 2012).

Holzhauer et al. (2011), demonstraram que o uso de 5g de gel à base de água com cobre e zinco ativos sem bandagem foi eficaz para o tratamento de lesões ativas (M2) de DD, com taxa de cura (92%) significativamente melhor que a aplicação de oxitetraciclina em spray por três dias consecutivos (58%).

O uso do ácido salicílico (10g) associado a bandagem por dois (CAPION; LARSSON; NIELSEN, 2018) ou três dias (SCHULTZ; CAPION, 2013) no tratamento da DD, tem demonstrado ser eficaz em termos de cura e cicatrização das lesões, provavelmente devido as propriedades antimicrobianas, queratolíticas e ceratoplásticas desse ácido (MONTE et al., 2014). Embora o tratamento com ácido salicílico exija o uso de bandagem, que é laborioso, por reduzir impacto ambiental e o uso de antibióticos, é uma alternativa promissora, com período de carência de apenas de 24 horas (NIELSEN; THOMSEN; SØRENSEN, 2009; SCHULTZ; CAPION, 2013).

Um produto composto de ácidos inorgânicos (sulfatos, amônio, ferro, coagulantes e adstringentes) usado como tratamento tópico para DD, proporcionou uma regressão macroscópica das lesões de 62% e 73%, na forma seca ou em solução de 20%, respectivamente, com eficácia similar ao ácido salicílico (CAPION; LARSSON; NIELSEN, 2018).

Uma opção interessante é a terapia fotodinâmica, que surgiu como uma alternativa para o tratamento de infecções na medicina veterinária. O princípio dessa terapia é combinar um fotossensibilizador (corante) com frequência específica de luz e oxigênio, com resultados satisfatórios usando o azul de metileno em lesões de DD isoladas (SELLERA et al., 2021) e associada a úlcera de sola (SELLERA et al., 2018). Duas sessões de terapia fotodinâmica com intervalo de 14 dias, foi mais eficaz para o tratamento da DD que duas aplicações de oxitetraciclina (500mg em solução de 20%) com mesmo intervalo (SELLERA et al., 2021).

Outra alternativa recente que apresentou boa eficácia para o tratamento da DD é o óleo de copaíba, uma substância extraída do tronco das árvores do

gênero *Copaifera* L. na região amazônica (PIERI et al., 2009). Bomjardim et al. (2020) ao utilizarem 7mL do extrato puro do óleo de copaíba com bandagem por sete dias, demonstraram uma alta taxa de cura (83,4%), constatando assim, eficácia similar ao ácido salicílico e oxitetraciclina (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002).

2.1.4.3. Prevenção e controle

É necessário que medidas de controle e prevenção sejam aplicadas em conjunto com os tratamentos, com estudos demonstrando recorrência das lesões curadas na ausência dessas medidas (READ; WALKER, 1998; BERRY et al., 2012). Atualmente, o pedilúvio é a principal estratégia para prevenção e controle da DD nos rebanhos (BLOWEY, 2000), com eficácia comprovada quando comparada com controles negativos (EVANS; MURRAY; CARTER, 2016). É necessário ressaltar que o pedilúvio deve ser usado para prevenção da enfermidade e não para tratamento de lesões ativas, com as vacas enfermas devendo ser identificadas, examinadas e tratadas individualmente (LAVEN; LOGUE, 2006). Condizente com que Hernandez et al. (1999), observaram sobre a eficácia do sulfato de cobre no pedilúvio ser atribuída a capacidade de prevenir a incidência de novos casos, com ação terapêutica parcial quando usada em concentração de 10% (TEIXEIRA et al., 2010).

Ao comparar três protocolos de pedilúvio (formalina, sulfato de cobre e ácido paracético) por sete dias, observou-se que as três substâncias apresentam eficácia similar no controle da DD, comparado ao pedilúvio com eritromicina por dois dias (LAVEN; HUNT, 2002). As soluções de hipoclorito de sódio também têm sido avaliadas no pedilúvio, devido a sua ação sanitizante de baixo custo, com ação em bactérias, fungos e vírus. No entanto, estudos não recomendam como único método de tratamento e controle para DD (SPEIJERS et al., 2010), apresentando maior eficácia quando associado ao tratamento cirúrgico e oxitetraciclina (SILVA et al., 2005). Jacobs et al. (2017), demonstraram que uma solução de 1% de amônio quaternário apresentou eficácia inferior em reduzir a prevalência das lesões ativas, em comparação a solução de 5% de sulfato de cobre na mesma frequência.

Pela ação na síntese de colágeno e da queratina no estojo córneo (NICOLETTI, 2004) e ser um potente antibacteriano, o cobre é a substância mais utilizada nas soluções de pedilúvio em vacas leiteiras (PRASTIWI et al., 2019) com boa eficácia em concentrações de 2 a 5% (LAVEN; LOGUE, 2006; SPEIJERS et al., 2010; SPEIJERS et al., 2012).

Comumente o pedilúvio com sulfato de cobre permite uma média de passagem de 200 vacas (SPEIJERS et al., 2010; SPEIJERS et al., 2012; SOLANO et al., 2016), sendo a concentração de 2% recomendado para rebanhos pequenos com eficácia até 168 passagens, enquanto o uso de 4% permitiria seu uso para até 360 vacas (PRASTIWI et al., 2019).

Ao escolher a substância, e a concentração a ser utilizada no pedilúvio, é necessário considerar as características da doença na propriedade. Em casos de alta prevalência, o protocolo de pedilúvio semanal com 5% de sulfato de cobre em quatro ordenhas consecutivas é mais eficaz em reduzir o aparecimento de novas lesões (SPEIJERS et al. 2010; SOLANO et al., 2017). Enquanto a concentração de 2% é recomendada em rebanhos com baixa prevalência, sendo eficaz em prevenir lesões em vacas que não estavam enfermas (SOLANO et al., 2017).

Similar a formalina, porém em menor grau, o sulfato de cobre apresenta certa toxicidade no manuseio e ao meio ambiente (EPPERSON; MIDLA, 2007). Estudos comprovaram o potencial fitotóxico do cobre, que a depender da quantidade pode ocasionar prejuízos na produção de forragens e danos ambientais, visto que é um metapoluentes com efeito acumulativo tanto nos animais, quanto no solo (EPPERSON; MIDLA, 2007; ROUBIES et al., 2008; SAKIRKIN; AUVERMANN, 2009).

No Brasil, ainda não há normativas e restrições acerca do descarte adequado dos resíduos de pedilúvio (GOULART, 2011; BARBOSA, 2019). Atualmente as soluções para pedilúvios são descartadas em tanques de chorume, com o solo comumente sendo o destino final destes resíduos (LAVEN; LOGUE, 2006; SAKIRKIN; AUVERMANN, 2009). Assim, diante da necessidade de alternativas para esses resíduos, Barbosa (2019) e Willians et al. (2019) estudaram métodos efetivos para remoção do cobre das soluções de pedilúvio.

Vale ressaltar que o zinco também ocasiona impacto ambiental e resistência antimicrobiana quando descartado de forma inadequada

(MENDONÇA et al., 2017), sendo o óxido de zinco de uso restrito em dietas de suínos na União Europeia com proibição total a partir de 2022 (BONETTI et al., 2021; LYNEGAARD et al., 2020).

Além disso, pedilúvios apresentam custo elevado a depender do tamanho da propriedade (EVANS; MURRAY; CARTER, 2016), e como 42% dos custos totais da DD é devido ao tratamento (CHA et al., 2010), a busca por novas substâncias para o tratamento e controle da DD se faz necessária (YAMAMOTO et al., 2018).

2.2. Propriedades do Hoofcare®

O crescimento expressivo da demanda de leite orgânico, descoberta de novos agentes terapêuticos naturais, dotados de amplo espectro de ação tem se apresentado como uma opção promissora no tratamento das afecções podais. (SHEARER; HERNANDEZ, 2000; NICOLETTI, 2004; BOMJARDIM et al., 2020). Hoofcare®, um produto comercial composto por ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, citrato de cobre e cloreto de zinco, com eficácia no tratamento da DD, de acordo com observações a campo, em vacas leiteiras¹. Porém, desprovido de estudos clínicos que comprovem essa eficácia.

O uso de plantas com propriedades medicinais é antigo, sendo cada vez mais frequente na atualidade. Os óleos essenciais são metabólitos secundários produzidos naturalmente por plantas aromáticas com propriedades terapêuticas (BAKKALI et al., 2008; PIERI et al., 2009). O óleo de Melaleuca é extraído das folhas da *Melaleuca alternifolia*, com potencial antisséptico tópico e desinfetante comprovado (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006). Provavelmente, sua eficácia se deve pelos monoterpenos presente em sua composição estrutural, especialmente o terpinen-4-ol (BATTISTI; CAON; CAMPOS, 2021).

As moléculas do óleo de melaleuca apresentam atividade bactericida, ao quebrar os lipídios da membrana celular dos microrganismos, comprometendo a permeabilidade da membrana, culminando na morte celular (BAKKALI et al., 2008). Apesar do mecanismo de ação ainda ser complexo, o amplo espectro desse óleo, contra agentes pré-selecionados é comprovado na capacidade de

¹ Informação fornecida pelo Coordenador Técnico da empresa Salmix em reunião na FMVZ-UNESP em São Paulo, em julho de 2020.

evitar a formação de biofilmes pelos patógenos e pelo alto potencial anti-inflamatório (SOUZA et al., 2014; BATTISTI; CAON; CAMPOS, 2021; RAMADAN et al., 2020). Ademais, na forma nano encapsulada, apresenta aumento na área superficial, o que facilita a interação com os microrganismos e melhora sua eficácia, além de reduzir os riscos de toxicidade pela substância (BATTISTI; CAON; CAMPOS, 2021).

Um produto comercial a base do óleo de Melaleuca 3% no pedilúvio demonstrou eficácia similar a solução de sulfato de cobre 5% para DD (SMITH et al., 2014). No entanto, um modelo de pedilúvio desenvolvido com esse óleo essencial na concentração utilizada não foi efetivo em controlar as populações bacterianas presentes na solução (DEBAS, 2016), sendo necessário mais estudos clínicos para comprovação nas afecções podais.

As terapias tópicas com o zinco ainda são subestimadas, apesar do uso desse mineral na medicina humana ser antigo. O zinco atua como cofator de diversas proteínas e enzimas envolvidas na cascata da inflamação e reparação tecidual (LANSDOWN et al., 2007), sendo considerado como essencial para a queratinização (HOBLET; WEISS, 2001).

Como mineral intracelular mais abundante, o zinco participa da formação e diferenciação das proteínas estruturais, durante o processo de queratinização (HOBLET; WEISS, 2001). Ele está envolvido na estabilização do RNA, DNA e ribossomo, sendo necessário para integridade, funcionamento da barreira da pele e do sistema imunológico (PECHOVÁ; PAVLATA; LOKAJOVÁ, 2006). Provavelmente, devido a aumentar o autodebridamento pela atividade das metaloproteinases na matriz extracelular, promover a migração de queratinócitos para o local de reparação tecidual, atuar como antioxidante e modular as funções inatas e adaptativas, como a diferenciação dos linfócitos T (SCHWARTZ et al., 2005; LIN et al., 2017).

Os íons de zinco são potentes antimicrobianos, mesmo quando em baixas concentrações, com uso do cloreto de zinco nos cremes dentais (HOBMAN; CROSSMAN, 2014). Associado ao zinco, o cobre também é importante para formação de um estojo córneo de boa qualidade, participando da ativação das enzimas essenciais no processo de queratinização como a tiol oxidase, envolvida na estruturação celular que confere a rigidez da matriz da célula queratinizada (HOBLET; WEISS, 2001).

Atualmente, o cobre é a substância mais empregada no tratamento, controle e prevenção das enfermidades podais em bovinos (VERMUNT, 2004; PRASTIWI et al., 2019), sendo considerado como um excelente composto para ser utilizado em produtos em contato com a pele (BORKOW, 2014). As duas propriedades responsáveis por isso são: o alto poder biocida, e ser essencial para síntese e estabilização das proteínas da pele (BORKOW, 2014).

Similar ao zinco, o cobre é importante no processo de cicatrização por participar da síntese e estabilização da matriz extracelular da pele, ao regular a produção de colágeno (I, II e V), estimular a proliferação de fibroblastos, bem como da angiogênese (POLEFKA et al., 2012). Assim, a associação desses dois minerais é vantajosa para o processo de reparação tecidual (CANGUL et al., 2006; HOLZHAUER et al., 2011).

Pela sua capacidade de alternar entre o estado cúprico e cuproso, o cobre é cofator de mais de 30 enzimas conhecidas, incluindo a enzima oxidante Cu, Zn-superóxido dismutase, essencial para função catalítica (GAETKE; CHOW, 2003; SOLIOZ et al., 2010). A propriedade antimicrobiana do cobre é atribuída a propensão dos íons de cobre livres em participar da formação de espécies reativas de oxigênio (GAETKE; CHOW, 2003). Assim, culminando na morte por contato direto pela exposição dos íons de cobre liberados, danos à camada fosfolipídica, proteínas intracelulares, ou ainda, aos ácidos nucleicos dos microrganismos (BORKOW; GABBAY, 2005; BORKOW, 2014). Alternativamente, em microrganismos resistentes as espécies reativas como *Escherichia coli*, a depleção do grupo sulfidril é sugerido como novo mecanismo antimicrobiano do cobre (SOLIOZ et al., 2010).

Ao promover redução significativa na carga microbiana, o uso do cobre como material de revestimento em locais suscetíveis a infecções, como a UTI de hospitais é crescente (Schmidt et al., 2016), com registro liberado na saúde pública pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (HOBMAN; CROSSMAN, 2014).

O uso do cobre no pedilúvio na bovinocultura é considerado como padrão ouro de prevenção. Entretanto, para que a solução permaneça eficaz, o pH deve permanecer entre 3,5 a 4,5 (PRASTIWI et al., 2019). Como a contaminação com fezes e urina no pedilúvio é constante, podendo elevar o pH acima de 5,0, com

consequente ineficácia do cobre. Desta forma, a adição de estabilizantes nas soluções de cobre é necessária (HOSCHET, 2015; PRASTIWI et al., 2019).

O ácido cítrico é usado na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e química pela sua acidez, textura e capacidade de formar sais com íons metálicos. Um desses possíveis sais, é o citrato, um excelente controlador de pH em soluções ácidas (PAPAGIANNI, 2011). A vantagem da associação do ácido cítrico (1,5%) ao sulfato de cobre (1,5%) no pedilúvio foi demonstrada em uma fazenda na Bélgica, onde o ácido cítrico permitiu o pH baixo da solução, e assim, a eficácia do cobre (HOSCHET, 2015).

Existem indícios que alguns componentes do Hoofcare® atuam de forma associada. Entretanto, não existem informações clínicas sobre a interação do cloreto de zinco, ácido cítrico, citrato de cobre e óleo de melaleuca contidos no produto.

2.3. Termografia Infravermelha

A termografia infravermelha (TIV) é um método não invasivo, que mensura alterações no padrão de temperatura, por meio de mapa de cores térmicas, ou seja, escala de cores (TURNER, 1991). Esse mapa de cores corresponde às diferenças de radiação infravermelha emitidas pelos tecidos animais e objetos em diferentes espectros de ação. Dessa forma, após a captura dessas diferenças pela câmera termográfica, as imagens são processadas em software computacional para classificação e quantificação dos valores de temperatura (KNIZKOVA et al., 2007).

O princípio desse exame consiste que a temperatura da superfície do corpo dos animais é influenciada pelo fluxo sanguíneo e taxa de metabolismo dos tecidos adjacentes (NIKKHAH et al., 2005). Assim, não só o estado fisiológico como condições inflamatórias e infecciosas podem ser avaliadas pela TIV, visto que frequentemente esses processos cursam com aumento de temperatura localizada na superfície da área afetada (TURNER, 1991), devido a ativação de mecanismos de defesa (BERRY et al., 2003).

São descritos dois padrões de imagens térmicas sugestivas de lesões que podem ser observados: manchas quentes e frias. As manchas quentes, que

variam em escala do branco ao laranja, evidenciam elevação da temperatura local, causadas por processos inflamatórios, enquanto que as manchas frias 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).

Em relação a execução do exame, algumas precauções devem ser tomadas, como manter a superfície a ser avaliada, limpa e seca, não aplicar nenhuma medicação tópica ou realizar tricotomia prévia ao exame (BASILE et al., 2010). Recomenda-se realizar a TIV em ambiente controlado, fechado e fresco, sem nenhum tipo de incidência solar e corrente de ar (RODRIGUES, 2013; ALSAOOD et al., 2014), algo praticamente impossível a ser realizado na bovinocultura.

A TIV vem sendo amplamente difundida na bovinocultura de leite, com relatos no diagnóstico de diversas doenças infecciosas, como diarreia viral bovina (SCHAEFER et al., 2004), doença respiratória bovina (SCHAEFER et al., 2007), febre aftosa (RAINWATER-LOVETT et al., 2009) e mastite clínica (HOVINEN et al., 2008; POLAT et al., 2010).

Assim, pelo grande impacto econômico ocasionado pelas afecções podais, estudos utilizando a TIV como método auxiliar no diagnóstico precoce dessas doenças estão sendo cada vez mais comuns. O exame é um bom método diagnóstico para detectar lesões nos cascos de vacas leiteiras (GELFERT et al., 2008; ALSAOD; BUSCHER, 2012; STOKES et al., 2012; RODRIGUES, 2016), apresentando sensibilidade de 89,1% e especificidade de 66,6% para o diagnóstico de DD em vacas leiteiras respectivamente ao mensurar as temperaturas máximas da banda coronária e pele, e comparar com o membro contralateral saudável (ALSAOD et al., 2014).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Determinar a eficácia do Hoofcare® no tratamento da DD em vacas leiteiras, e assim, validar esse tratamento como extensão das recomendações do fabricante do produto.

3.2. Objetivos específicos

- Comparar dois protocolos diferentes de pincelamento do Hoofcare[®], três aplicações em dias alternados e cinco aplicações contínuas.
- Determinar a melhor forma de pincelamento do Hoofcare[®], bem como intervalos de aplicação.

4. Referências

AHMED, I. H.; SHEKIDEF, M. H. Incidence and management of bovine claw affections and their economic impact: a field study on dairy farms. **Journal of American Science**, v. 8, p. 46-61, 2012.

AKIN, I; AKIN, T. Economic impact of digital dermatitis treatment on a dairy farm: an application of the break-even analysis. **Ciência rural**, v. 48, p. 1-7, 2018.

ALSAAOD, C.; SYRING, J.; DIETRICH, M. G.; DOHERR, M. G.; GUJAN, T.; STEINER, A. 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.

ALSAAOD, M.; BÜSCHER, W. Detection of hoof lesions using digital infrared thermography in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 735 –742, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BARBOSA, A. A. **Afecções podais em bovinos: diagnóstico, profilaxia e patogenia**. 2019. 101f. Tese (doutorado) - Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, 2019.

BASILE, R. C.; ALBERNAZ, R. M.; PEREIRA, M. C.; ARAÚJO, R.; FERRAZ, G. C.; QUEIROZ-NETO, A. Guia prático de exames termográficos em equinos. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v. 6, p. 24-28, 2010.

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.

BENINGER, C.; NAQVI, S. A.; NAUSHAD, S.; ORSEL, K.; LUBY, C.; DERAKHSHANI, H.; KHAFIPOUR, E.; DE BUCK, J. Associations between digital dermatitis lesion grades in dairy cattle and the quantities of four *Treponema* species. **Veterinary Research**, v. 49, p. 1-15, 2018.

BERRY, R. J.; KENNEDY, A. D.; SCOTT, S. L.; KYLE, B. L.; SCHAEFER, A. L.; 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, p. 687–693, 2003.

BERRY, S. L.; READ, D. H.; FAMULA, T. R.; MONGINI, A.; DÖPFER, D. Long-term observations on the dynamics of bovine digital dermatitis lesions on a California dairy after topical treatment with lincomycin HCl. **The Veterinary Journal**, v. 193, p. 654–658, 2012.

BLOWEY, R. W. Control of digital dermatitis. **Veterinary Record**, v. 146, p. 295, 2000.

BOMJARDIM, H. A.; OLIVEIRA, M. C.; BRITO, M. F.; OLIVEIRA, C. M. C.; MONTEIRO, B. M.; SILVEIRA, N. S.S.; BARBOSA, J. D. Bovine digital dermatitis in the Brazilian Amazon biome and topic treatment with *Copaifera reticulata* oil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, p.842-851, 2020.

BONETTI, A.; TUGNOLI, B.; PIVA, A.; GRILLI, E. Towards zero zinc oxide: feeding strategies to manage post-weaning diarrhea in piglets. **Animals**, v. 11, p. 642 – 666, 2021.

BORGES, J. R. J.; CÂMARA, A. C. L.; MOSCARDINI, A. R. C.; RODRIGUES, C. A.; PITOMBO, C. A.; GRAÇA, F. A. S. Doenças dos dígitos dos bovinos: nomenclatura padronizada para o Brasil. **Revista CFMV**, v. 23, p. 45-52, 2017.

BORKOW, G. Using copper to Improve the well-being of the skin. **Current Chemical Biology**, v.8, p. 89-102, 2014.

BORKOW, G.; GABBAY, J. Copper as a biocidal tool. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 2163-75, 2005.

BRITT, J. S.; GASKA, J.; GARRET, E. F.; KONKLE, D.; MEALY, M. Comparison of topical application of three products for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, p. 1134-1136, 1996.

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.

CAPION, N.; LARSSON, E. K.; NIELSEN, O. L. A clinical and histopathological comparison of the effectiveness of salicylic acid to a compound of inorganic acids for the treatment of digital dermatitis in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 1325-1333, 2018.

CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, p. 50-62, 2006.

CASAGRANDE, F. P. **Conformação dos cascos e das pernas de fêmeas bovinas holandesas em diferentes idades e prevalência de lesões**. 2010.

95f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, 2010.

CHA, E.; HERTL, J. A.; BAR, D.; GROHN, Y. T. The cost of different types of lameness in dairy cows calculated by dynamic programming. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 97, p. 1-8, 2010.

CRAMER, G.; LISSEMORE, K. D.; GUARD, C. L.; LESLIE, K. E.; KELTON, D. F. Herd- and cow-level prevalence of foot lesions in Ontario dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 3888-3895, 2008.

CRAMER, G.; SOLANO, L.; JOHNSON, R. Evaluation of tetracycline in milk following extra-label administration of topical tetracycline for digital dermatitis in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 102, p. 883-895, 2019.

CRUZ, C. E. F.; PESCADOR, C. A.; NAKAJIMA, Y.; DRIEMEIER, D. Immunopathological investigations on bovine digital epidermitis. **Veterinary Record**, v. 157, p. 834-840, 2005.

CRUZ, C.; DRIEMEIER, D.; CERVA, C.; CORBELLINI, L. G. Clinical and epidemiological aspects of bovine digital lesions in Southern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 654 - 657, 2001.

CUNHA, P. H. J. 2000. **Pedilúvio para bovinos: avaliação físico-química, microbiológica e eficácia terapêutica das soluções desinfetantes**. 131f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2000.

DESROCHERS, A.; ANDERSON, D. E.; ST-JEAN, G. Lameness examination in cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 17, p. 39-51, 2001.

DÖPFER, D.; KOOPMANS, A.; MEIJER, F. A.; SZAKÁLL, I.; SCHUKKEN, Y. H.; KLEE, W.; BOSMA, R. B.; CORNELISSE, J. L.; VAN ASTEN, A. J. A. M.; TER

HUURNE, A. A. H. M. Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and *Campylobacter faecali*. **The Veterinary Record**, v. 140, p. 620-623, 1997.

EPPERSON, B.; MIDLA, L. Copper sulfate for footbaths - issues and alternatives. In: PROCEEDINGS OF THE TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, **Fort Wayne**, Indiana, USA, 2007: Ohio State University, Columbus, 2007, p. 51-54.

EVANS, N. J.; MURRAY, R. D.; CARTER, S. D. Bovine digital dermatitis: current concepts from laboratory to farm, **The Veterinary Journal**, v. 211, p.3-13, 2016.

GAETKE, L. M.; CHOW, C. K. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. **Toxicology**, v. 189, p. 147–163, 2003.

GELFERT, C.; ONMAZ, A.; ATALAN, G.; GUNES, V., DUZLER, A.; NUR, I. KIBAR, M. The use of infrared thermography (IRT) in detecting lameness in dairy cows. In: WORLD BUIATRICS CONGRESS, 25., 2008, Budapest. **Abstracts...** Budapest, 2008. p. 217-218.

GOMEZ, N. B.; COOK, N. D.; BERNARDONI, J.; RIEMAN, A. F.; DUSICK, A.F.; HARTSHORN, R.; SOCHA, M. T.; READ, D. H.; DÖPFER, D. An experimental infection model to induce digital dermatitis infection in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 1821–183, 2012.

GOULART, D. C. **Detecção de resíduos de soluções sanitizantes empregadas em pedilúvio para bovinos no leite e solo**. 2011. 81f. Dissertação (mestrado) – Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

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, p. 3-13.

GUARD, C. Control programs for digital dermatitis. **Advances in dairy technology**, v. 11, p. 235-242, 1999.

Harris-Bridge, G.; Young, L.; Handel, I.; Farish, M.; Mason, C.; Mitchell, M. A.; Haskell, M. J. The use of infrared thermography for detecting digital dermatitis in dairy cattle: What is the best measure of temperature and foot location to use? **The Veterinary Journal**, v. 237, p.26–33, 2018.

HERNANDEZ, J.; SHEARER, J. K.; ELLIOT, J. B. Comparison of topical application of oxytetracycline and four nonantibiotic solutions for treatment of papilomatous digital dermatitis in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association Schaumburg**, v. 214, p. 688-690, 1999.

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.

HOBMAN, J. L.; CROSSMAN, L. S. Bacterial antimicrobial metal ion resistance. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, p. 471 – 497, 2014.

HOLZHAUER, M., PLOEGMAKERS-VAN, R. D., SMITS, D., SWART, W. Comparing the curative efficacy of topical treatment with thiamphenicol and oxytetracycline on digital dermatitis lesions in dairy cattle. **Veterinary Record**, v. 180, p. 500-500, 2017.

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.

HOLZHAUER, M.; BARTELS, C. J. M.; VAN DEN BORNE, B. H. P.; VAN SCHAİK, G. Intra-class correlation attributable to claw trimmers scoring common hind-claw disorders in Dutch dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 75, p. 47–55, 2006.

HOLZHAUER, M.; BARTELS, C. J.; BERGSTEN, C.; VAN RIET, M. M. J.; FRANKENA, K.; LAM, T. J. G. M.; The effect of an acidified, ionized copper

sulphate solution on digital dermatitis in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 93, p. 659-663, 2012.

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.

HOVINEN, M.; SIIVONEN, J.; TAPONEN, S.; HANNINEN, L.; PASTELL, M.; AISLA, A.M.; PYORALA, S. Detection of clinical mastitis with the help of a thermal camera. **Journal of Dairy Science**. v. 91, p. 4592-4598, 2008.

IBGE. **Indicadores sociodemográficos e de saúde no Brasil**: 2019. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. (Anuário estatístico do Brasil, 79).

JACOBS, C.; ORSEL, K.; MASON, S.; GRAY, K.; BARKEMA, H.W. Comparison of the efficacy of a commercial footbath product with copper sulfate for the control of digital dermatitis. **Journal of Dairy Science** v. 100, p. 5628-5641, 2017.

KAMILOGLU, A.; DEMIRKAN, I.; BARAN, V. Comparisson of ceftiofur sodium by intravenous region antibiotherapy and local oxtetracycline application for treatment of bovine digital dermatitis. **Kafkas University Veterinery Dergisi**, v. 2, p. 107-110, 2002.

KNIZKOVA, I.; KUNC, P.; GURDIL, G.A.K.; PINAR, Y.; SELVI, K.C. Applications of infrared thermography in animal production. **Journal of Agricultural Faculty of Ondokuz Mayis University**, v. 22, p. 329-336, 2007.

KOFLER, J.; FIEDLER, A.; CHARFEDDINE, N.; CAPION, N.; FJELDAAS, T.; CRAMER, G.; BELL, N. J.; MÜLLER, K. E.; CHRISTEN, A. M.; THOMAS, G.; HERINGSTAD, B.; STOCK, K. F.; HOLZHAUER, M.; NIETO, J. M.; EGGER-DANNER, C.; DÖPFER D. **ICAR Claw Health Atlas – Appendix 1: Digital Dermatitis Stages (M-stages)**. Roma: ICAR, 2020. 40p.

KRULL, A. C.; SHEARER, J. K.; GORDEN, P. J.; COOPER, V. L.; PHILLIPS, G. J.; PLUMMER, P. J. Deep sequencing analysis reveals the temporal microbiota changes associated with the development of bovine digital dermatitis. **Infection and Immunity**, v. 82, p. 3359-3373, 2014.

LANSDOWN, A.; MIRASTSCHIJSKI, U.; STUBBS, N.; SCANLON, E.; ÅGREN, M. Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects. **Wound Repair and Regeneration**, v. 15, p. 2-16, 2007.

LAVEN, R. A.; HUNT, H. Evaluation of copper sulphate, formalin and peracetic acid in footbaths for the treatment of digital dermatitis in cattle. **Veterinary Record**, v. 151, p. 144-146, 2002.

LAVEN, R. A.; LOGUE, D. N. Treatment strategies for digital dermatitis for the UK. **The Veterinary Journal**, v. 171, p. 79–88, 2006.

LAVEN, R.A.; PROVEN, M.J. Use of an antibiotic footbath in the treatment of bovine digital dermatitis. **Veterinary Record**, v. 147, p. 503 – 506, 2000.

LEÃO, M. A.; SILVA, L. A. F.; FIORAVANTI, M. C. S.; JAYME, V. de S.; SILVA, M. A. M.; CUNHA, P. H. J.; SILVA, O. C.; RABELO, R. E.; SILVA, L. M.; TRINDADE, B. R. Dermatite digital bovina: aspectos relacionados à evolução clínica. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, p. 267-277, 2005.

LEÃO, M. A.; SILVA, L. A. F.; JAYME, V. S.; SILVA, L. M.; MOURA, M. I.; BARBOSA, V. T. Aspectos epidemiológicos da dermatite digital bovina em duas propriedades produtoras de leite do estado de Goiás, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 1135-1147, 2009.

LIN, P. H.; SERMERSHEIM, M.; LI, H.; PHU, L.; STEINBERG, S. M.; MA, J. Zinc in wound healing modulation. **Nutrients**, v. 10, p. 16-36, 2017.

LOUREIRO, M. G.; RODRIGUES, C. A.; NASCIMENTO, E. S.; ESTEBAN, C.; PERRI, S. H.; ANHESIN, C. R. Comparação entre as administrações tópica e sistêmica de oxitetraciclina no tratamento de vacas com dermatite digital

papilomatosa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 62, p. 13-22, 2010.

LYNEGAARD, J. C.; KJELDSSEN, N. J.; BACHE, J. K.; WEBER, N. R.; HANSEN, C. F.; NIELSEN, J. P.; AMDI, C. Low protein diets without medicinal zinc oxide for weaned pigs reduced diarrhea treatments and average daily gain. **Animal**, v. 15, p. 100075, 2021.

MACHADO, P. P.; HÉLDER DE MORAES, P.; SANTOS, H. P.; OLIVEIRA, R. A.; GUERRA, P. C.; TEIXEIRA, W. C. Prevalência e classificação de afecções podais em fêmeas bovinas destinadas à produção de leite na bacia leiteira do município de Itapecuru Mirim - MA. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 777-786, 2008.

MANSKE, T.; HULTGREN, J.; BERGSTEN, C. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 53, p. 215-23, 2002.

MCBRIDE, W. D.; GREENE, C. Costs of organic milk production on U.S. dairy farms. **Review of Agricultural Economics**, v. 31, p. 793–813, 2009.

MENDONÇA, M. V et al. Redução dos níveis de inclusão do óxido de zinco na dieta de leitões recém-desmamados. In: GOBESSO, A. A. O.; RENNÓ, F. P.; BALIEIRO, J. C. C.; BRUNETTO, M. A. (Org.). **Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal**. Pirassununga, SP: Editora 5D, 2017, cap. 8, p. 335-353.

MOLINA, L. R.; CARVALHO, A. U.; FACURY FILHO, E. J.; FERREIRA, P. M. Prevalência e classificação das afecções podais em vacas lactantes na bacia leiteira de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 149-152, 1999.

MONTE, J.; ABREU, A. C.; BORGES, A.; SIMÕES, L.C.; SIMÕES, M. Antimicrobial activity of selected phytochemicals against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and their biofilms. **Pathogens**, v.3, p. 473-498, 2014.

MOORE, D. A.; BERRY, S. L.; TRUCOTT, M. L.; KOZIY, V. Efficacy of a nonantimicrobial cream administered topically for treatment of digital dermatitis in dairy cattle. **Journal of American Medical Association**, v.219, p. 1435-1438, 2001.

MOREIRA, T.F.; NICOLINO, R.R.; de ANDRADE, L.S.; FILHO, E.J.F.; de CARVALHO, A.U. Prevalence of lameness and hoof lesions in all year-round grazing cattle in Brazil. **Tropical animal health and production**. v. 50, p. 1829-1834, 2018.

NICOLETTI, J. L. M. 2004. **Manual de Podologia Bovina**, 1. ed. São Paulo: Manole, p.130.

NICOLETTI, J. L. M.; SOUZA, F. A. A.; THOMASSIAN, A.; HUSSNI. C. A.; ALVES. A. L. G. Prevalência de lesões podais e graus de claudicação em vacas leiteiras mantidas em confinamento permanente ("*free-stall*" e "*tie-stall*"). **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 4, p. 24 - 32, 2001.

NIELSEN, B. H.; THOMSEN, P.T.; SØRENSEN, J. T. A study of duration of digital dermatitis lesions after treatment in a Danish dairy herd. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, p. 1-5, 2009.

NIELSEN, M. W.; STRUBE, M. L.; ISBRAND, A.; AL-MEDRASI, W. D. H. M.; BOYE, M.; JENSEN, T. K.; KLITGAARD, K. Potential bacterial core species associated with digital dermatitis in cattle herds identified by molecular profiling of interdigital skin samples. **Veterinary Microbiology**, v. 186, p. 139–149, 2016.

NIKKHAH, A.; PLAIZIER, J. C.; EINARSON, M. S.; BERRY, R. J.; SCOTT, S. L.; KENNEDY, A. D. 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.

NISHIKAWA, A.; TAGUCHI, K: Healing of digital dermatitis after a single treatment with topical oxytetracycline in 89 dairy cows. **Veterinary Record**, v. 163, p. 574-576, 2008.

NUFFEL, A. V.; ZWERTVAEGHER, I.; PLUYM, L.; WEYENBERG, S. V.; THORUP, V. M.; PASTELL, M.; SONCK, B.; SAEYS, W. Lameness Detection in Dairy Cows: Part 1. How to Distinguish between Non-Lame and Lame Cows Based on Differences in Locomotion or Behavior. **Animals**, v. 5, p. 838-860, 2015.

PALMER, M. A.; O'CONNELL, N. E. Digital dermatitis in dairy cows: a review of risk factors and potential sources of between-animal variation in susceptibility. **Animals**, v. 5, p. 512-535, 2015.

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

PECHOVÁ, A.; PAVLATA, L.; LOKAJOVÁ, E. Zinc supplementation and somatic cell count in milk of dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**, v. 75, p. 355-361, 2006.

PIERI, F. A.; MUSSI M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, p. 465-472, 2009.

PLUMMER, P. J.; KRULL, A. Clinical perspectives of digital dermatitis in dairy and beef cattle. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 33, p. 165-181, 2017.

POLAT, B.; COLAK, A.; CENGİZ, M.; YANMAZ, L.E.; ORAL, H.; BASTAN, A.; KAYA, S.; HAYIRLI, A. Sensitivity and specificity of infrared thermography in

detection of subclinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3525–3532, 2010.

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.

POZZATTI, P. N.; CASAGRANDE, F. P.; DÓREA, M. D.; BORGES, L. F. N. M.; PORFÍRIO, L. C.; PINHEIRO, H. B.; DA SILVA, P. C. A. R. Prevalência das afecções podais em vacas leiteiras da região sul do estado do Espírito Santo, Brasil. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 16, p. 1-7, 2018.

PRASTIWI, A.; OKUMUŞ, Z.; HAYIRLI, A.; ÇELEBI, D.; YANMAZ, L.E.; DOĞAN, E.; ŞENOCAK, M.G.; ERSOZ, U. Effectiveness of copper sulfate solutions in footbaths in dairy cattle. **Atatürk University Journal of Veterinary Sciences**, v. 14, p. 238-245, 2019.

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, p. 317–324, 2009.

RAMADAN, M. A.; SHAWKEY, A. E.; RABEH, M. A.; ABDELLATIF, A. O. Promising antimicrobial activities of oil and silver nanoparticles obtained from *Melaleuca alternifolia* leaves against selected skin-infecting pathogens. **Journal of Herbal Medicine**, v. 20, p. 1-8, 2020.

READ, D. H.; WALKER, R. L. Papillomatous digital dermatitis (footwarts) in California dairy cattle: clinical and gross pathologic findings. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, p. 67 -76, 1998.

Rodrigues M. **Avaliação das características do líquido ruminal associada à termografia digital e atividade pedométrica em vacas holandesas**. 2013. 101f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2013.

Rodrigues M. **Pedometria no diagnóstico precoce de enfermidades podais em vacas leiteiras**. 2016. 142f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2016.

SAKIRKIN, S. L. P.; AUVERMANN, B. Dairy footbaths and environmental toxicity of copper. **Texas A&M AgriLife Extension**, ed. 562, p. 1-8, 2009.

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. **Research in Veterinary Science**, v. 83, p. 376–384, 2007.

SCHAEFER, A.L.; COOK, N.; TESSARO, S. V.; DEREDT, D.; DESROCHES, G.; DUBESKI, P. L.; TONG, A. K. W.; GODSON, D. L. Early detection and prediction of infection using infrared thermography. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 73–80, 2004.

SCHMIDT, M. G.; VON DESSAUER, B.; BENAVENTE, C.; BENADOF, D.; CIFUENTES, P.; ELGUETA, A.; DURAN, C.; NAVARRETE, M. S. Copper surfaces are associated with significantly lower concentrations of bacteria on selected surfaces within a pediatric intensive care unit. **American Journal of Infection Control**, v. 44, p. 203-239, 2016.

SCHULTZ, N.; CAPION, N. Efficacy of salicylic acid in the treatment of digital dermatitis in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v.198, p. 518-523, 2013.

SCHWARTZ, J.R.; MARSH, R.G.; DRAELOS, Z. D. Zinc and skin health: overview of physiology and pharmacology. **Dermatologic Surgery**, v. 31, p. 837-847, 2005.

SELLERA, F. P.; BARBOSA, B. S.; GARGANO, R. G.; RÍSPOLI, V. F.P.; SABINO, C. P.; OLLHOFF, R. D.; BAPTISTA, M. S.; RIBEIRO, M. S.; de SÁ, L. R. M.; POGLIANI, F. C. Methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic

therapy can be a novel non-antibiotic platform for bovine digital dermatitis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 34, p. 1-8, 2021.

SELLERA, F. P.; GARGANO, R. G.; dos Anjos, C.; Baptista, M. S.; RIBEIRO, M. S.; POGLIANI, F. C. Methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic therapy: A novel strategy for digital dermatitis-associated sole ulcer in a cow – A case report. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v.24, p. 121-122, 2018.

SERRA, R.M.; DIAS, R.C.; CAVALCANTE, M.P.; ALZAMORA FILHO, F. Prevalência das afecções podais e morfometria do casco de vacas lactantes na bacia leiteira de Ilhéus-Itabuna, Bahia. **Investigação**, v. 16, p. 46-50, 2017.

SHEARER, J. K.; HERNANDEZ, J. Efficacy of two modified nonantibiotic formulations (Victory) for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 741-745, 2000.

SILVA, L. A. F.; SILVA, C. A.; BORGES, J. R. J.; FIORAVANTI, M. C. S.; BORGES, G. T.; ATAYDE, I. B. A clinical trial to assess the use of sodium hypochlorite and oxytetracycline on the healing of digital dermatitis lesions in cattle. **Canadian Veterinary Journal**, v. 46, p. 345–348, 2005.

SILVA, L. A. F.; SILVA, L. M.; ROMANI, A. F.; RABELO, R. E. et al. Características clínicas e epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona-GO. **Ciência Animal Brasileira**, v.2, p. 119-126, 2001.

SILVEIRA, J. A. S.; SILVA, N. S.; ALBERNAZ, T.T.; BOMJARDIM, H. A.; BELO REIS, A. S.; OLIVEIRA, C. M. C.; DUARTE, M. D.; BARBOSA, J. D. Estudo epidemiológico e clínico de afecções podais em bovinos de corte manejados extensivamente no sudeste do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, p. 367-373, 2018.

SMITH, A. C.; WOOD, C. L.; MCQUERRY, K. J.; BEWLEY, J. M. Effect of a tea tree oil and organic acid footbath solution on digital dermatitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 2498 – 2501, 2014.

SOARES, J. P. G.; AROEIRA, L. J. M.; FONSECA, A. H. F.; FAGUNDES, G. M.; SILVA, J. B. Produção orgânica de leite: desafios e perspectivas. In: Simpósio nacional de bovinocultura leiteira, 3.; simpósio internacional de bovinocultura leiteira, 1., Viçosa. **Anais...** Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, v.1, p. 13-43, 2001.

SOLANO, L.; BARKEMA, H. W.; PICKEL, C.; ORSEL, K. Effectiveness of a standardized footbath protocol for prevention of digital dermatitis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 1-13, 2016.

SOLANO, L.; BARKEMA, H.W.; PICKEL, C.; ORSEL, K. Effectiveness of a standardized footbath protocol for prevention of digital dermatitis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 1295-1307, 2017.

SOLIOZ, M.; ABICHT, H. K.; MERMOD, M.; MANCINI, S. Response of gram-positive bacteria to copper stress. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v.15, p. 3-1, 2010.

SOMERS, J. G. C. J.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; METZ, J. H. M. Risk factors for digital dermatitis in dairy cows kept in cubicle houses in the Netherlands. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 71, p. 11-21, 2005.

SOUZA, M. E.; LOPES, L. Q. S.; VAUCHER, R. A.; MÁRIO, D. N.; ALVES, S. H.; AGERTT, V. A.; SANTOS, R. C. V. Antimycobacterial and antifungal activities of *Melaleuca alternifolia* oil nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 24, p. 559–560, 2014.

SPEIJERS, M. H.; FINNEY, G.A.; MCBRIDE, J.; WATSON, S.; LOGUE, D.N.; O'CONNELL, N.E. Effectiveness of different footbathing frequencies using

copper sulfate in the control of digital dermatitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 2955–2964, 2012.

SPEIJERS, M.H.M.; BAIRD, L.G.; FINNEY, G.A.; MCBRIDE, J.; KILPATRICK, D.J.; LOGUE, D.N.; O'CONNELL, N.E. Effectiveness of different footbath solutions in the treatment of digital dermatitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5782–5791, 2010.

SPRECHER, D. J.; HOSTETLER, D. E.; KANEENE, J. B. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. **Theriogenology**, v. 47, p. 1178-1187, 1997.

STOKES, J. E., LEACH, K. A., MAIN, D. C. J., WHAY, H. R. The reliability of detecting digital dermatitis in the milking parlour. **The veterinary journal**, v. 193, p. 679–684, 2012.

TEIXEIRA, A.G.V., MACHADO, V.S., CAIXETA, L.S., PEREIRA, R.V., BICALHO, R.C. Efficacy of formalin, copper sulfate, and a commercial footbath product in the control of digital dermatitis. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 3628–3634, 2010.

THOMSEN P. T.; MUNKSGAARD L.; TOGERSEN F. A. Evaluation of a lameness scoring system for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 119-126, 2008.

TOHOLJ, B.; STEVANČEVIĆ, M.; KOS, J.; SMOLEC, O.; POTKONJAK, A.; CINCOVIĆ, M.; BELIĆ, B.; IVETIĆ, V.; SPASOJEVIĆ, J.; STEVANČEVIĆ, O. Efficiency investigation into different therapeutic protocols in treating digital dermatitis in dairy cows. **Veterinarski Arhiv**, v. 82, p. 133-142, 2012.

TURNER, T. A. Thermography as an aid to the clinical lameness evaluation. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 7, p. 311–338, 1991.

VAN AMSTEL, S. R.; VAN VUUREN, S.; TUTT, C. L. G. Digital dermatitis: report of an outbreak. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 66, p. 177-181, 1995.

VERMUNT, J. J. 2004. **Herd Lameness - A Review, Major Causal Factors, and Guidelines for Prevention and Control**. In: Proceedings of the 13th International Symposium and 5th Conference on Lameness in Ruminants, Maribor, Slovenija, p. 1-15.

WATTS, K. M.; LAHIRI, P.; ARRAZURIA, R.; DE BUCK, J.; KNIGHT, C; G.; ORSEL, K.; BARKEMA, H. W.; COBO, E. R. Oxytetracycline reduces inflammation and treponeme burden whereas vitamin D3 promotes β -defensin expression in bovine infectious digital dermatitis. **Cell and Tissue Research**, v. 379, p. 337–348, 2020.

WELLS, S. J.; TRENT, A. M.; MARSH, W. E.; ROBINSON, R. A. Prevalence and severity of lameness in lactating dairy cows in a sample of Minnesota and Wisconsin herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, p. 78-82, 1993.

WILLIAMS, O.; CLARK, I.; GOMES, R. L.; PEREHINEC, T.; HOBMAN, J. L.; STEKEL, D. J.; HYDE, R.; DODDS, C.; LESTER, E. Removal of copper from cattle footbath wastewater with layered double hydroxide adsorbents as a route to antimicrobial resistance mitigation on dairy farms. **Science of the Total Environment**, v. 665, p. 1139-1149, 2019.

WILSON-WELDER, J. H.; ALT, D.; NALLY, J. The etiology of digital dermatitis in ruminants: recent perspectives. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. 6, p. 155-164, 2015.

YAMAMOTO, T.; MANABE, H.; MISAWA, N.; YAMAZAKI, W.; TAKAHASHI, M.; OKADA, K. Combination effect of allyl isothiocyanate and hoof trimming on bovine digital dermatitis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 80, p. 1080-1085, 2018.

ZHANG, G.; HAILEMARIAM, D.; DERVISHI, E.; DENG, Q.; GOLDANSAZ, S. A.; DUNN, S. M.; AMETAJ, B. N. Alterations of Innate Immunity Reactants in

Transition Dairy Cows before Clinical Signs of Lameness. **Animals**, v. 5, p. 717-747, 2015.

CAPÍTULO 2

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo científico a ser submetido pelo periódico Pesquisa Veterinária Brasileira versão online ISSN 1678-5150 versão online. Normas em <https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>.

As figuras e tabelas estão inseridas no corpo do texto ao invés do final, como solicitado pelas normas da revista, no intuito de melhor compreensão dos leitores.

Eficácia do Hoofcare® no tratamento da dermatite digital em vacas leiteiras¹

“Effectiveness of Hoofcare® in the treatment of digital dermatitis in dairy cows”

Ana P.A. Mendonça², Piero H.M. Teodoro³, José R.B. Silva⁴, Raymis B.R. Moura² e Celso A. Rodrigues^{*5}

ABSTRACT.: Mendonça A.P.A., Teodoro P.H.M., Moura R.B.R., Silva J.R.B., Rodrigues C.A., 2021. **[Effectiveness of Hoofcare® in the treatment of digital dermatitis in dairy cows]** Eficácia do Hoofcare® no tratamento da dermatite digital em vacas leiteiras. Pesquisa Veterinária Brasileira. Departamento de Clínica Cirurgia Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Distrito de Rubião Jr., s/n, Botucatu, SP CEP 18618-970, Brasil. E-mail: celso.a.rodrigues@unesp.br

The aim of this study was to determine the effectiveness of topical Hoofcare® in the treatment of digital dermatitis (DD) in dairy cows and, thus, to validate this treatment as an extension of the product manufacturer's recommendations. For this purpose, 36 high-yielding Holstein cows with DD in at least one of the limbs were used. The animals were randomly divided into two groups, with the alternating treatment group (ATG) consisting of 21 limbs treated for three alternating days every 48 hours, and the continuous treatment group (CTG) consisting of 21 limbs treated each 24 hours for five days. The cows were submitted to lameness examination, thermographic analysis, qualitative and quantitative analysis of the lesions on D0 (time of identification of the lesion and prior to treatment), D4 (fourth day of treatment) and D10 (five days after the end of treatment). The data were compared between different times and groups. There was no significant difference between the groups for the variables evaluated, however, both groups presented a reduction in the degree of lameness, in the area of the lesion, in the local temperature and regression from the active to inactive stage of the lesions. Thus, the two protocols with Hoofcare® were effective to treat the disease.

INDEX TERMS: pododermatitis, cattle, thermography, clinical evolution.

RESUMO.- O objetivo deste estudo foi determinar a eficácia do Hoofcare® tópico no tratamento da dermatite digital (DD) em vacas leiteiras e, assim, validar esse tratamento como extensão das recomendações do fabricante do produto. Para tanto, foram utilizadas 36 vacas Holandesas de alta produção leiteira apresentando DD em pelo menos um dos membros. Os animais foram divididos de forma aleatória em dois grupos, sendo o grupo de tratamento alternado (GTA) composto por 21 membros tratados por três dias alternados a cada 48 horas, e o grupo de tratamento contínuo (GTC) composto por 21 membros tratadas a cada 24 horas durante cinco dias. As vacas foram submetidas ao exame de claudicação, análise termográfica, análise qualitativa e quantitativa das lesões no D0 (momento de identificação da lesão e prévio ao tratamento), D4 (quarto dia de tratamento) e D10

(cinco dias após o término do tratamento). Os dados foram comparados entre os diferentes momentos e grupos. Não houve diferença significativa entre os grupos para as variáveis avaliadas, entretanto, ambos os grupos apresentaram redução do grau de claudicação, da área da lesão, da temperatura local e regressão do estágio ativo para inativo das lesões. Assim, os dois protocolos com Hoofcare® foram eficazes para tratar a enfermidade.

Palavra-chave: pododermatite, bovinos, termografia, evolução clínica.

INTRODUÇÃO

A dermatite digital (DD) é uma das enfermidades podais com maior prevalência na bovinocultura de leite (Cruz et al. 2001; Borges et al. 2017) e que gera prejuízos à pecuária nacional, ao acarretar custos com tratamentos, descarte do leite e comprometimento do desempenho zootécnico (Cha et al. 2010; Akin & Akin 2018). Atualmente possui caráter endêmico em grande parte do mundo (Wilson-Welder et al. 2015), com prevalência que varia de 3,32% (Ahmed & Shekidef 2012) a 83% (Holzhauer et al. 2006).

A DD é uma enfermidade infecciosa altamente contagiosa que cursa com dor, queda na produção, problemas reprodutivos e susceptibilidade a outras doenças (Berry et al. 2012; Reffai et al. 2013; Nielsen et al. 2016; Pozzatti et al. 2018), mesmo nos casos sem claudicação aparente (Laven & Proven 2000). É considerada de etiologia multifatorial com diversos fatores predisponentes envolvidos, tais como genética, dieta, manejo, ambiente e casqueamento preventivo (Silva et al. 2001; Nishikawa & Taguchi 2008). Embora a etiologia não esteja totalmente elucidada, a enfermidade apresenta caráter polimicrobiano, com o envolvimento confirmado de espécies de *Treponema* spp., *Fusobacterium nechophorum* e *Dichelobacter nodosus* (Moreira et al. 2018).

O diagnóstico é realizado pela visualização das lesões características que variam de aparência ulcerativa, erosiva e proliferativa (Nielsen et al. 2016). O tratamento comumente cursa com antibioticoterapia (Laven & Logue 2006), com a oxitetraciclina sendo o antibiótico mais utilizado (Manske et al. 2002; Nicoletti 2004; Silva et al. 2005; Loureiro et al. 2010; Cramer et al. 2109).

As opções terapêuticas para doença são limitadas, com sugestiva presença de cepas resistentes à alguns tratamentos convencionais com antibióticos (Shearer & Hernandez 2000; Kamiloglu et al. 2002; Nishikawa & Taguchi 2008), fato este que pode estar associado a presença de resíduos de antibióticos no leite e a necessidade de respeitar o tempo de carência para seu consumo (Cunha 2000; Cramer et al. 2019). Ademais, a demanda da população por leite orgânico vem crescendo de forma expressiva sugerindo que a produção de leite de boa qualidade não é mais uma escolha, e sim uma obrigação da bovinocultura leiteira (Soares et al. 2011).

A utilização de terapias sem antibiótico está se tornando cada vez mais comum, com estudos sugerindo bons resultados utilizando o sulfato de cobre (Teixeira et al. 2010), óleo de copaíba (Bomjardim et al. 2020), ácido salicílico (Schultz & Capion 2013; Bomjardim et al. 2020) e fototerapia fotodinâmica (Sellera et al. 2021). Atualmente, um produto a base de ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, citrato de cobre e cloreto de zinco vem sendo utilizado em diversas propriedades brasileiras com bons resultados para o tratamento da enfermidade. Entretanto, ainda são observações empíricas realizadas a campo, não havendo informações científicas acerca da real eficácia do produto e qual melhor protocolo a ser adotado. Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar a eficácia do Hoofcare® no tratamento da DD em vacas leiteiras, bem como algumas formas e intervalos de aplicação, e se há diferença significativa entre os protocolos alterando e contínuo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais utilizados. Foram utilizadas 36 vacas lactantes da raça Holandesa preto e branco, com idade variando entre dois a 10 anos, provenientes de uma propriedade leiteira comercial do município de Anta Gorda no Rio Grande do Sul. As vacas eram mantidas em sistema *Compost Barn* com cama de serragem e manejo de ventiladores automáticos, separadas em lotes por categoria, ordenhadas três vezes ao dia e com dieta balanceada (ração comercial, casca de soja, caroço de algodão, silagem e pré-secado de azevém). O fator de inclusão foi apresentar DD em pelo menos em um dos membros, com ausência de outros distúrbios concomitantes.

A propriedade não possuía medidas preventivas à doença como pedilúvios e quarentena dos animais recém adquiridos, e dispunha de assistência veterinária especializada em podologia bovina,

pelo menos uma vez ao ano. As vacas foram mantidas nas condições naturais da fazenda, sem alteração da dieta e manejo durante o experimento. O estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos adotados pela Comissão de Ética no Uso dos animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* Botucatu, sob protocolo 169/2020.

Delineamento experimental. Previamente a instituição do tratamento, todas as vacas foram identificadas de acordo com o brinco da propriedade, examinadas, e todas as informações pertinentes como idade, categoria, média de produção de leite/dia, número de partos e membro com lesão foram registrados em ficha de avaliação. O diagnóstico foi realizado com o animal contido em brete no momento do casqueamento de rotina na propriedade. À medida que o membro era suspenso, casqueado e higienizado, o exame do dígito era realizado (Dirksen 1993), e ao constatar presença de lesão ativa de DD, ou seja, com dor e aumento de temperatura à palpação, o membro era inserido no estudo. As 36 vacas após a constatação clínica da doença, foram avaliadas quanto ao escore de locomoção e gravidade da lesão da DD, segundo Kofler et al. (2020)

Os animais foram divididos em dois grupos de forma aleatória, com o primeiro animal atribuído ao GTA, o segundo ao GTC, e assim por diante, sempre revezando o membro acometido. Nos casos que a vaca apresentava mais de um membro com lesão, o segundo membro era atribuído ao grupo de tratamento seguinte. Para facilitar a diferenciação dos grupos, utilizou-se cordões de algodão verde (GTA) e azul (GTC) no pescoço e no membro com a lesão, sendo o grupo de tratamento alternado (GTA) composto por 21 membros tratados a cada 48 horas com Hoofcare[®] por cinco dias, e o grupo de tratamento contínuo (GTC) composto por 21 membros tratados por cinco dias consecutivos, totalizando 42 membros. Não houve grupo controle, ou seja, sem tratamento, visto que até o momento não há recuperação espontânea da doença, com descrições de lesões permanecendo no mesmo estágio por dois anos ou mais (Krull et al. 2014).

Realizou-se a administração do produto na forma de pincelamento sobre as lesões dos animais, sem aplicação de bandagem de forma semelhante nos dois grupos. Os animais foram submetidos a análise termográfica da lesão, exame de claudicação e captura fotográfica das lesões para posterior classificação e morfometria em três momentos (D0: antes do tratamento, D4: quarto dia do tratamento e D10: cinco dias após o término do tratamento) conforme a Fig.1, a fim de determinar a recuperação clínica e a recuperação total da lesão nos dois protocolos adotados. As três ordenhas diárias foram mantidas de forma rotineira na propriedade, com o local sendo limpo diariamente ao final de cada ordenha.

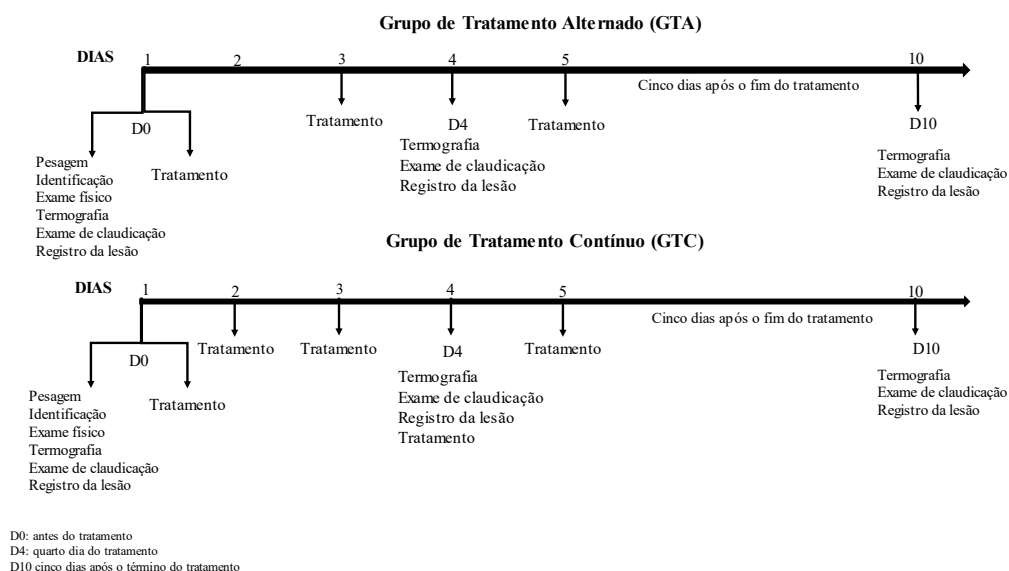


Fig.1: Representação esquemática do delineamento experimental evidenciando as avaliações, os momentos e os dias de tratamento para dermatite digital com Hoofcare[®] do GTA e GTC em vacas leiteiras.

¹Hoofcare[®] - ácido cítrico, óleo essencial de melaleuca, citrato de cobre e cloreto de zinco - Salmix.

Avaliação clínica e do escore de locomoção. No intuito de avaliar a eficácia do produto no aspecto clínico no tratamento da DD, realizou-se o exame de claudicação determinando o escore de locomoção antes da contenção do animal no brete, conforme a Thomsen et al. (2008). A pontuação foi realizada em três momentos (D0, D4 e D10), e após a finalização da coleta dos dados, avaliou-se se houve melhora, piora ou se o escore permaneceu igual.

Classificação e avaliação das lesões. Os animais foram contidos em brete adaptado para casqueamento, sendo mantidos em posição quadrupedal, sem a necessidade de tranquilização, semelhante ao descrito por Loureiro et al. (2010). O membro a ser tratado foi elevado e contido, com posterior casqueamento e limpeza com água corrente, afim de remover sujidades e garantir melhor visualização da lesão. Nos casos que fora observado mais de uma lesão de DD no membro, a lesão mais grave foi selecionada, sendo que todas as lesões apresentaram dor e aumento de temperatura à palpação previamente aos tratamentos. Os animais que apresentavam outras afecções concomitantes foram excluídos.

Após a limpeza, as lesões ao lado de uma régua foram fotografadas para posterior classificação e morfometria. A classificação da lesão foi realizada de forma cega por seis avaliadores experientes que desconheciam o momento da avaliação e o protocolo terapêutico utilizado. Baseando-se nos sinais e extensão da região comprometida, os avaliadores classificaram as lesões em *M-stages* de acordo com o sistema de pontuação M (Kofler et al. 2020), de acordo com os critérios descritos por Kofler et al. (2020) em três momentos (D0, D4 e D10). Se diferentes estágios de DD foram categorizados para a mesma lesão, pelo mesmo avaliador, considerou-se o estágio proeminente mais ativo para descrever a lesão ($M2 > M4.1 > M1 > M4 > M3$) (Solano et al. 2017a).

Morfometria das lesões. Realizou-se a morfometria das lesões para avaliação quantitativa do processo de cicatrização da DD. Assim, as imagens fotografadas nos momentos D0, D4 e D10 foram analisadas utilizando o *software* livre de análise de imagens *ImageJ*². Primeiramente, as áreas das lesões foram mensuradas três vezes, e a média da dimensão em cm^2 de cada lesão foi usada para comparação entre os momentos e os dois protocolos terapêuticos adotados, a fim de estimar a média de regressão da lesão.

Avaliação termográfica. As imagens termográficas foram realizadas com a FLIR Systems³, antes da limpeza dos cascos e identificação das lesões, semelhante ao descrito por Rodrigues (2013). Não houve controle da sujidade antes do exame, com estudos evidenciando ausência de interferências (Stokes et al. 2012; Harris-Bridge et al. 2018). A referida câmera com faixa de temperatura de 16,1°C a 28,8 °C foi direcionada para a região da lesão no membro avaliado mantendo a distância de um metro, seguida pela captura da imagem, com o animal contido em brete adaptado para casqueamento e com membro elevado. 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).

As avaliações foram realizadas após a ordenha da tarde em três momentos do protocolo terapêutico (D0, D4 e D10) no mesmo horário, distância e fundo. Ao término do experimento, as imagens foram analisadas com auxílio do *software* QuickReport 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 abaixo (Basile et al. 2010).

$$\theta_i = \frac{T_{ambi}}{T_{amb0}}$$

$$T_{lesãoi_corr} = \frac{T_{lesãoi}}{\theta_i}$$

² *ImageJ*®, Programa de edição, processamento e análise de imagem Java versão 6.0.

³ FLIR Systems Inc®, Câmera termográfica FLIR SC660.

Onde,

θ_i - Quociente entre a temperatura ambiente dos dias subsequentes (°C)

T_{ambi} - Temperatura ambiente dos dias subsequentes

T_{amb0} - Temperatura ambiente do primeiro dia de avaliação

$T_{lesãoi}$ - Temperaruta máxima da área da lesão

$T_{lesãoi_corr}$ - Temperatura corrigida resultante

Aplicação do tratamento. As vacas receberam aplicação direta de uma camada espessa de 5 mm do Hoofcare® em forma de pincelamento por toda a extensão da lesão até recobri-la, mantendo a ferida aberta, conforme o protocolo terapêutico do grupo ao qual pertencia. Anteriormente a utilização do produto, os dígitos foram higienizados com água corrente apenas no D0 e no D4. Os demais tratamentos foram realizados no fosso da ordenha, durante a ordenha da tarde, sem higienização prévia e com o animal em posição quadrupedal, a fim de simular a realidade do tratamento em uma propriedade comercial.

Análise estatística. Os dados sobre a categoria e produção de leite/dia de cada animal foram tabulados em planilha da Microsoft® Office Excel para realização da análise estatística descritiva. Os dados da claudicação, classificação da lesão, morfometria e termografia foram testados quanto à normalidade e homogeneidade de variâncias pelos Teste de Shapiro-Wilk e Teste de Levene, respectivamente.

A avaliação do escore de locomoção foi realizada pelos testes Mann-Whitney e Friedman. Após a classificação dos avaliadores, os *M-stages* foram ordenados em três estágios (0 = M0; 1 = M3 e M4; 2 = M1, M2 e M4.1), no intuito de classificar a lesão como lesão inexistente (0), lesão inativa (1) e lesão ativa (2). Após constatação de distribuição não paramétrica, a comparação entre os tratamentos, assim como a comparação dos momentos dentro de cada tratamento foi realizada empregando-se os testes de Mann-Whitney e Friedman, respectivamente. Avaliou-se ainda a concordância real entre os avaliadores e o desfecho ordenado empregando o teste de Kappa Fleiss (k). Realizou-se também a interpretação de acordo com Landis e Koch (1977) como: ≤ 0 = pobre; 0,01 a 0,20 = leve; 0,21 a 0,40 = regular; 0,41 a 0,60 = moderado; 0,61 a 0,80 = substancial e 0,81 a 1,00 = quase perfeito.

Os dados de mensuração numérica (morfometria e termografia) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para comparar as médias dos momentos nos dois grupos. As análises foram realizadas utilizando o *software* Past 4.05 e o nível de significância foi considerado quando $P < 0,05$.

RESULTADOS

Foram registrados 42 membros com lesões de DD distribuídas aleatoriamente nos dois grupos. A idade mediana das 36 vacas utilizadas foi de 3,5 anos [3 - 5], com produção média 40,10kg/dia de leite. A prevalência da enfermidade no rebanho em lactação foi estimada em 20% (36/150), e em relação a categoria, 50% das vacas eram primíparas e 50% multíparas, conforme um rebanho genuíno e assim, representando a real condição da doença na propriedade.

O exame de claudicação conforme demonstrado na Fig.2, evidenciou claudicação grau leve no momento de identificação da lesão e prévio ao tratamento com evolução para locomoção normal na última avaliação. Houve diferença estatística entre os momentos nos dois grupos ($P < 0,01$) pelo teste de Friedman, porém, não houve diferença significativa entre os grupos pelo teste de Mann-Whitney.

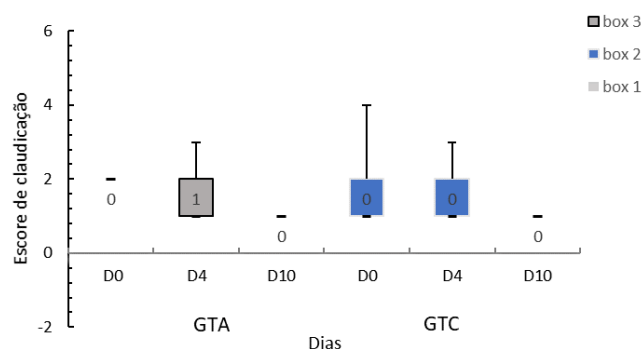


Fig.2: Escore de locomoção de vacas Holandesas com dermatite digital tratadas com Hoofcare® de forma alternada (GTA) e contínua (GTC) durante 10 dias de acompanhamento. As caixas representam o percentil 25 (box 1), 50 (box 2) e 75 (box 3); as barras indicam 95% IC. N=21/grupo.

No intuito de avaliar as lesões para determinar a eficiência dos dois protocolos terapêuticos propostos, as lesões foram classificadas de acordo com o *M-stage*, e depois ordenadas em três estágios (lesão inexistente, lesão inativa e lesão ativa) para avaliação estatística. O teste de Friedman ao comparar os três momentos dentro de cada grupo demonstrou que os dois tratamentos foram eficazes ($P < 0,01$) nos dois grupos, ao constatar que as lesões ativas no D0 estavam inativas no D10. No entanto, ao comparar os diferentes momentos nos dois grupos, o teste de Mann-Whitney não evidenciou diferença significativa entre os dois protocolos terapêuticos. Apesar de não observar diferença significativa, houve maior porcentagem de membros com lesões inativas no GTC (90,5%) que no GTA (71,4%) no D10 conforme evidenciado na Fig.3. Entretanto, houve recidiva de 9,5% das lesões no GTC e 9,6% no GTA no D10. O valor de Kappa entre os seis avaliadores foi considerado leve no D0 nos dois grupos, inexistente no D4 do GTC e regular nos demais momentos nos dois grupos.

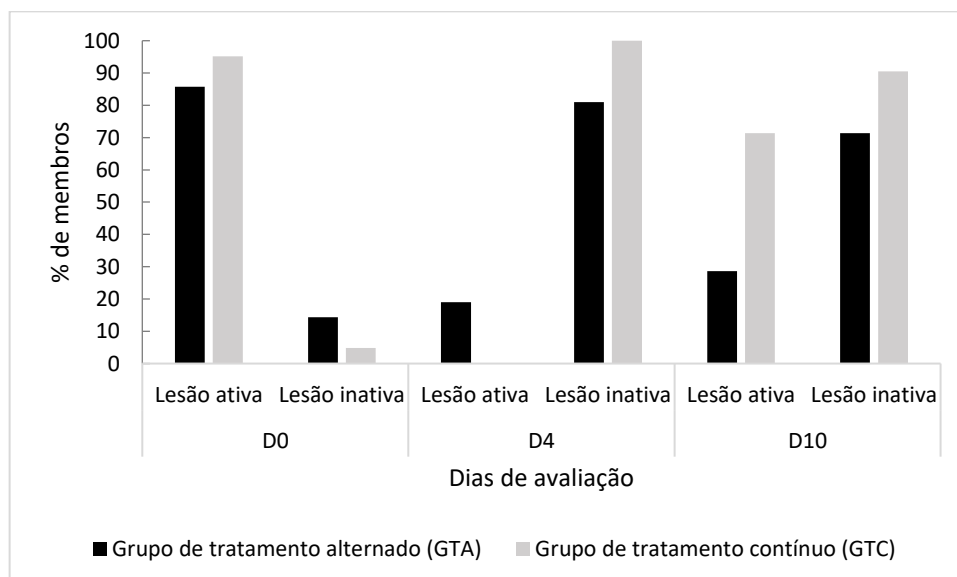


Fig.3: Evolução clínica e comparação da transição do estágio ativo para inativo das lesões em vacas Holandesas com dermatite digital submetidas ao tratamento com Hoofcare® alternado e contínuo.

A morfometria das lesões constatou que 100% das lesões apresentaram regressão na área (Fig.4), com as medianas das áreas diferindo ($P < 0,05$) em D0 e D10 nos GTA e GTC pelos testes de anova e de tukey. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos de tratamento nas medianas nos diferentes momentos, e na média de regressão ($2,30 \text{ cm}^2$ no GTA e $2,49 \text{ cm}^2$ no GTC).



Fig.4: Comparação da morfometria da área da lesão de dermatite digital em vacas leiteiras submetidas ao tratamento alternado e contínuo com Hoofcare®. (A) D0, antes do tratamento alternado. (B) D4, quarto dia do tratamento alternado. (C) D10, cinco dias após o término do tratamento alternado. (D) D0 do tratamento contínuo. (E) D4 do tratamento contínuo. (F) D10 do tratamento contínuo.

O índice de regressão das lesões, ou seja, a porcentagem que a área da lesão no D10 reduziu em consideração a área inicial (D0), não diferiu entre os grupos ($P=0,66$). No entanto, a porcentagem de lesões com índice $> 30\%$ foi maior no GTC (13/21, 61,9%) do que no GTA (10/21, 47,6%), conforme evidencia a Fig.5.

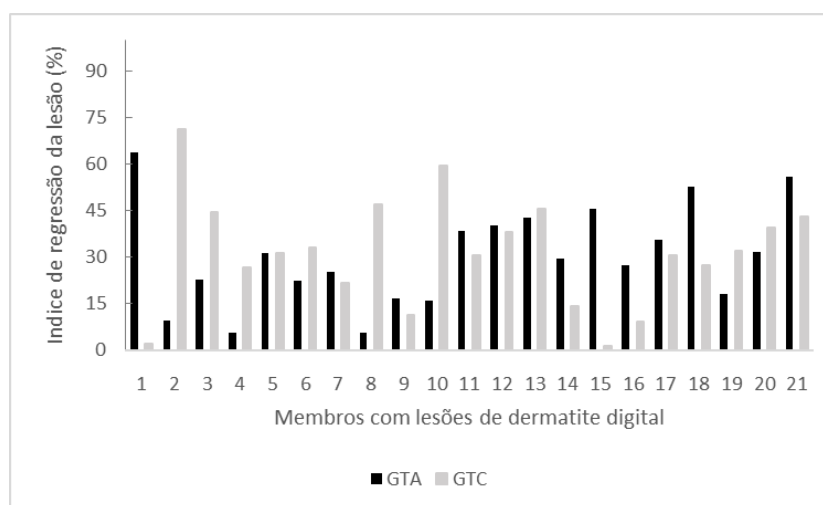


Fig.5: Comparação dos índices de regressão da área da lesão de dermatite digital nos 42 membros de vacas Holandesas submetidas ao tratamento com Hoofcare® alternado (GTA) e contínuo (GTC) no D10 (cinco dias após o término do tratamento).

A análise termográfica revelou redução da temperatura avaliada após o término do tratamento, ao constatar maior mediana na área da lesão no D0 que no D10 nos dois grupos avaliados (GTA: 31,9°C e 26,9°C; GTC: 32,1°C e 24,9°C). Houve diferença significativa entre o D0 e D10 (Fig.6) nos dois grupos pelo teste de tukey, não apresentando diferença ($P=0,96$) entre os grupos pelo teste de anova unilateral, com redução da temperatura média de 6,4 °C no GTA e 6 °C no GTC.

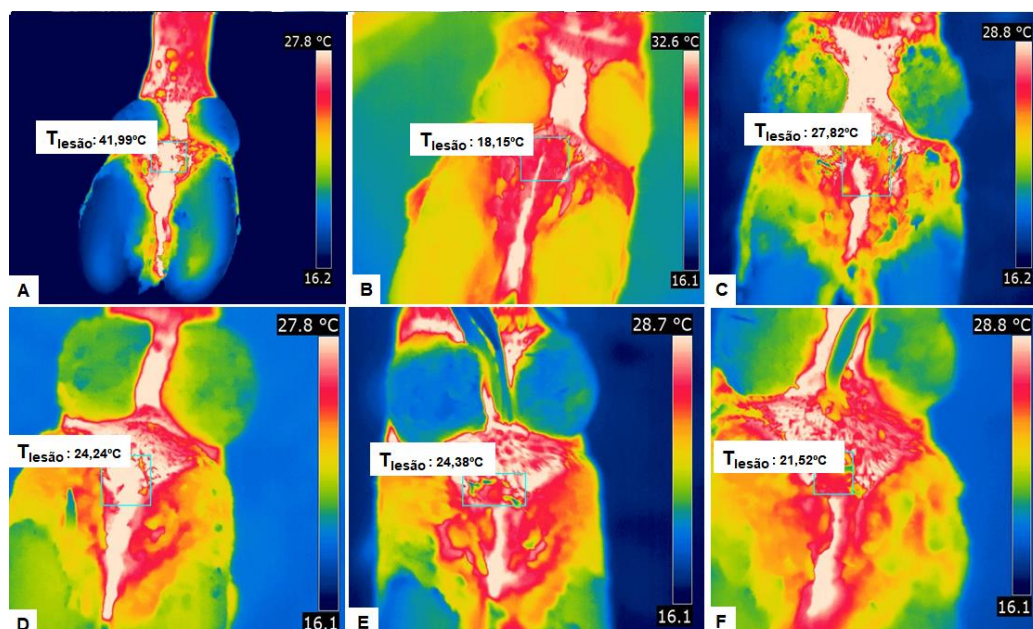


Fig.6: Comparação da temperatura termográfica corrigida e padronizada da área da lesão de dermatite digital em vacas leiteiras submetidas ao tratamento alternado e contínuo com Hoofcare®. (A) D0, antes do tratamento alternado. (B) D4, quarto dia do tratamento alternado. (C) D10, cinco dias após o término do tratamento alternado. (D) D0 do tratamento contínuo. (E) D4 do tratamento contínuo. (F) D10 do tratamento contínuo.

A tabela 1 demonstra o estágio das lesões, área média da lesão na análise de morfometria e a temperatura corrigida da lesão pela termografia nos três momentos avaliados a fim de comparação dos grupos GTA e GTC.

Tabela 1: Comparação entre as medianas [Q1 - Q3] dos *M-stage*, morfometria e termografia de vacas leiteiras com dermatite digital tratadas de forma alternada e contínua com Hoofcare®

Dados avaliados	Grupos de tratamento	
	GTA (n = 21)	GTC (n = 21)
<i>M-stage</i>		
D0	2 [1 - 2] ^a	2 [2 - 2] ^a
D4	1 [1 - 1] ^b	1 [1 - 1] ^b
D10	1 [1 - 2] ^c	1 [1 - 1] ^c
Área da lesão (cm ²)		
D0	7,1 [5 - 8,4] ^a	7,6 [5,6 - 8,7] ^a
D4	6,2 [4,8 - 7,4] ^{ab}	6,2 [5,4 - 7] ^{ab}
D10	4,5 [3,8 - 5,7] ^b	4,7 [3,6 - 5,6] ^b

 Temperatura da lesão (°C)

D0	31,9 [28,6 – 37,1] ^a	32,1 [28 – 34,8] ^a
D4	19,9 [19,2 – 29,1] ^b	20,3 [18,3-24,4] ^b
D10	26,9 [21,9 – 28,1] ^c	24,9 [22 – 29,9] ^c

(A-B-C) Letras diferentes entre linhas indicam diferença estatística significativa (P < 0,05).

(a-b-c) Letras diferentes entre as colunas indicam diferença estatística (P < 0,05)

DISCUSSÃO

Os dois grupos de tratamentos foram homogêneos, sem a necessidade de alteração para adequação do experimento no intuito de reduzir interferência de fatores externos (Nielsen et al. 2009), visto as vacas serem oriundas da mesma propriedade, mantidas sob o mesmo ambiente, manejo diário de ordenha e dieta (Nicoletti 2004; Loureiro et al. 2010). As avaliações foram realizadas sem dificuldade com auxílio de um brete adaptado para casqueamento, dispensando o uso de contenção química para coleta dos dados (Desrochers et al. 2001; Loureiro et al. 2010). A prevalência da DD no rebanho em lactação da propriedade é condizente com descrições em outras regiões que utilizam sistema semi extensivo (Silva et al. 2001), e um pouco menor quando comparado ao sistema *free stall* (Wilson-Welder et al., 2015; Ebling, 2018; Moreira et al. 2018).

O exame de claudicação (Thomsen et al. 2008) foi realizado em três momentos afim de determinar a recuperação clínica das vacas com DD, e conforme observado em estudos prévios (Laven & Proven 2000; Bomjardim et al. 2020), a claudicação foi um sinal clínico discreto. A avaliação da evolução da claudicação ao longo do tratamento, regredindo de leve a moderada para ausente sugere eficácia do produto em inibir a progressão da doença. O grau leve de claudicação reforça a ausência de afecções concomitantes a DD, como úlcera de sola ou erosão de talão que podem agravar a claudicação (Manske et al. 2002; Sellera et al. 2018).

As lesões foram avaliadas e classificadas de acordo com a aparência macroscópica em *M-stages* (Kofler et al. 2020) associado ao escore de locomoção. No intuito de minimizar qualquer influência sob a classificação, as lesões fotografadas foram categorizadas de forma cega por avaliadores com experiência prévia com o método avaliativo, em contraste de outros estudos, que a classificação foi realizada ao vivo associado ou não com fotografias (Moreira et al. 2018; Bomjardim et al. 2020). A concordância regular entre os avaliadores confirma a subjetividade da avaliação qualitativa, justificando o uso de vários avaliadores, e a necessidade de treinamento prévio dos mesmos para otimizar a concordância (Alsaad et al. 2014).

Na análise da evolução da lesão, os *M-stages* foram ordenados em três estágios (lesão inexistente, inativa e ativa). A diferença significativa observada ao comparar o escore inicial e o final das lesões de DD, nos dois grupos, indica que a terapia de cinco dias com o Hoofcare® seja de forma contínua ou alternada, foi eficaz para regressão da lesão de estágio ativo para inativo. No entanto, é necessário ressaltar que houve recidiva no D10 nos dois grupos de tratamento, provavelmente devido a duas causas. Primeiramente, não houve a inatividade da infecção como a aparência macroscópica da lesão demonstrou, ou seja, a infecção estava ativa sob a crosta escura visualizada nos estágios M3 e M4 (Berry et al. 2012; Krull et al. 2016; Plummer & Krull 2017). Estudos comprovaram que a *Treponema* spp. pela motilidade, é capaz de migrar e penetrar locais profundos da derme e formar um biofilme, favorecendo a sua proliferação (Lux et al. 2001; Beninger et al. 2018), e por ser o principal patógeno da DD (Moreira et al. 2018), a infecção persiste.

Outra possível causa para a recidiva observada é uma reinfecção (Plummer & Krull 2017), visto que não houve adoção de outras medidas, além do pincelamento com o produto, podendo a causa ter persistido no ambiente. Além disso, diferindo de outros trabalhos não se observou no presente estudo a cura completa da lesão (M0=lesão inexistente) em nenhum membro (Elliott et al. 2007; Nishikawa & Taguchi 2008; Holzhauser et al. 2011; Krull et al. 2016; Moreira et al. 2018). Provavelmente, esse fato deve-se ao curto tempo de avaliação, apenas cinco dias pós-tratamento, não havendo tempo suficiente para regressão total da lesão, que em média varia em 42 dias (Nielsen et al. 2009). Outro fator possível é a duração do tratamento não ser suficiente, necessitando ser prolongado por mais dias, o que seria condizente com que Krull e colaboradores (2016) afirmaram, que seria improvável a lesão de DD evoluir para cura em terapias com menos de sete dias.

A análise da morfometria evidenciou regressão com diferença significativa da área da lesão em 100 % dos casos no D10, confirmando a eficácia do produto nos dois protocolos na involução significativa de lesões em diferentes graus de DD, condizente com estágio inativo observado e citado

anteriormente. As lesões em estágio ativo variaram de 2,2 cm² à 15,4 cm², com aparência ulcerativa, aspecto vermelho ou cinza-avermelhada, dor à palpação e odor característico em alguns casos. Enquanto lesões em estágio inativo variaram de 1,3 cm² à 19,2 cm² com aspecto acinzentado a preto, projeções de hiperqueratose e indolores à palpação. Os dados observados na morfometria no estágio de cicatrização (inativo) são similares aos encontrados no estudo com terapia alternativa com óleo de copaíba por sete dias consecutivos, onde as lesões em sua maioria regrediram, com algumas aumentando em cm pelas projeções hiperkeratóticas observadas (Bomjardim et al. 2020). Não houve diferença significativa na média e no índice de regressão ao comparar os protocolos terapêuticos propostos, com o tratamento alternado e contínuo apresentando eficácia similar. No entanto, o GTC apresentou maior porcentagem de lesões (61,9%) com índice de regressão acima de 30% da área inicial.

A termografia infravermelha é método diagnóstico não invasivo com utilidade comprovada para detecção precoce em diversas enfermidades de bovinos, como mastite, afecções podais e a própria DD (Rodrigues 2013; Alsaaod et al. 2014). Nos estudos envolvendo doenças podais, a termografia foi realizada com o animal em posição quadrupedal (Alsaaod & Büscher 2012; Rodrigues 2013) e ao avaliar especificamente a DD utilizou-se duas áreas de mensuração, a banda coronária e pele afim de determinar aumento de temperatura no dígito, e consequentemente, presença da enfermidade (Alsaaod et al. 2014; Harris-Bridge et al. 2018). Entretanto, no intuito do exame ser prático, rápido e sem a necessidade de modificação do manejo na propriedade comercial, optou-se por mensurar a temperatura da lesão da DD, em vez de áreas pré-determinadas do dígito. Adicionalmente, diferentemente dos trabalhos descritos na literatura, as mensurações foram realizadas apenas nas áreas das lesões e sem comparação com o membro contralateral, considerando-se o D0 como controle de cada lesão. Assim, no que concerne ao conhecimento dos autores, este é o primeiro estudo que utilizou e comprovou o uso da temperatura da lesão como método avaliativo de terapia com o membro suspenso e sem remoção da sujidade.

As imagens termográficas foram coletadas imediatamente após as vacas entrarem no brete e ter o membro suspenso com o mínimo de estresse possível, previamente ao casqueamento, limpeza dos dígitos e captura fotográfica das lesões. É descrito que a termografia pode ser comprometida por diversos fatores (Nikkhah et al. 2005; Basile et al. 2010; Alsaaod & Büscher 2012), sendo necessário um ambiente controlado e dígitos limpos para confiabilidade da imagem termográfica (Alsaaod & Büscher 2012; Alsaaod et al. 2014). Apesar da termografia não ter sido realizada em ambiente controlado, sem remoção prévia de sujidade e com membro suspenso no presente estudo, pelo fato da metodologia utilizada ter sido igual em todos os animais, em todos os momentos, não diferindo entre os grupos, proporcionou homogeneidade e confiabilidade nos dados para comparação. Além disso, realizou-se a padronização dos dados em função da temperatura ambiente ao aplicar duas fórmulas matemáticas que leva em consideração a temperatura atmosférica e a umidade relativa do ar (Basile et al. 2010).

Ao comparar as temperaturas termográficas corrigidas das lesões, não houve diferença estatística nos dois protocolos avaliados, porém, a temperatura da lesão no D10 foi inferior a temperatura no momento inicial no GTA (81%) e GTC (90,5%), corroborando com os dados observados no estudo e citados anteriormente que o produto comercial possui eficácia em inibir a evolução da doença. Embora a metodologia do estudo tenha sido controlada, vale ressaltar que houve certa dificuldade em realizar a imagem termográfica sem o membro estar limpo e seco, pois a presença de sujidade como fezes podem atuar como barreira física à emissão das ondas infravermelhas pelo corpo (Basile et al. 2010). Porém, a presença da sujidade não prejudica a acurácia diagnóstica do exame conforme alguns trabalhos evidenciam (Stokes et al. 2012; Harris-Bridge et al. 2018).

Não houve grupo controle, apenas dois grupos de tratamentos distintos (alternado e contínuo). Apesar da limpeza com água poder promover a cura em 52% das lesões (Manske et al. 2002), optou-se por essa metodologia pelo estudo ter sido em uma propriedade comercial de alta produção de leite (média superior a 40kg/dia/vaca). A DD possui grande impacto econômico, sendo considerada a afecção podal mais cara (US\$ 95 por caso), com perdas estimadas em US\$ 126 a \$133 para cada caso clínico (Cha et al. 2010), especialmente na produção de leite, com diferença significativa no kg/dia do leite antes do tratamento e após o tratamento (Akin & Akin 2018), o que em termos financeiros não seria viável para a propriedade. Pelo caráter altamente contagioso da doença, a possibilidade de rápida disseminação no rebanho é alta, com animais infectados cronicamente podendo atuar como reservatórios e potencial fonte de surtos (Solano et al. 2017a), preferindo assim utilizar o momento prévio ao tratamento (D0) como controle dos demais momentos, ou seja, o animal sendo controle dele mesmo.

Todas as 36 vacas do estudo foram submetidas a casqueamento prévio, proporcionando ambiente favorável ao produto comercial (Manske et al. 2002; Toholj et al. 2012). Diferentemente de outros protocolos propostos, o pincelamento do produto foi realizado sem limpeza prévia, com exceção de dois momentos (D0 e D4). Como o objetivo do presente estudo foi determinar se o tratamento com o Hoofcare® era eficaz para DD, as aplicações foram realizadas no fosso da ordenha, simulando a realidade em uma propriedade de alta produção. Pode ser que a ausência de limpeza prévia com água corrente tenha influenciado na resposta do tratamento, já que alguns estudos sugerem que o ato de remoção das sujidades melhora a superfície de contato da lesão com o produto (Manske et al. 2002; Jacobs et al. 2018). No entanto, apesar de não ter sido uma variável avaliada, o produto teve boa impregnação, e com os indícios de boa eficácia, mesmo sem higienização prévia, sugere-se que o Hoofcare® tem boa ação nas lesões de DD, mesmo na presença de material orgânico.

É relatado que o cobre em contato com quantidade elevada de matéria orgânica, pode perder sua eficácia quando utilizado de forma isolada (Prastiwi et al. 2019). Como o Hoofcare® é composto pela associação do cobre, ácido cítrico, zinco e óleo de melaleuca, possivelmente, a interação entre eles, permitiu condição favorável para eficácia do produto. Visto que o ácido cítrico é um forte estabilizador (Papagianni 2011), sendo utilizado para manter o pH de pedilúvio em faixa aceitável; o óleo de melaleuca é um potente antisséptico, antimicrobiano e anti-inflamatório (Souza et al. 2014; Battisti et al. 2021; Ramadan et al. 2020); e tanto, o zinco, quanto o cobre, propriedades antimicrobianas e função essencial na reparação tecidual (Polefka et al. 2012; Hobman & Crossman 2014).

Como este foi o primeiro estudo, e o tempo de avaliação pós-tratamento pode não ter sido suficiente para constatação da cura completa nas lesões, investigações futuras com maior tempo de acompanhamento são necessárias. Além disso, não houve adoção de medidas preventivas no ambiente, podendo a causa da enfermidade ter persistido durante o estudo.

CONCLUSÕES

A utilização do produto na forma de pincelamento sem bandagem nos dois protocolos adotados resultou em redução significativa do grau de claudicação, da área da ferida e da temperatura no local da lesão, além de promover a inatividade das lesões, demonstrando eficácia no controle da DD.

Agradecimentos. - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela concessão da bolsa de mestrado, à Salmix pelo auxílio financeiro, à Maiara Rigoni Lodi e Gilberto Lodi pela contribuição no estudo, e aos funcionários da Fazenda Lodi pela valiosa ajuda.

REFERENCIAS

- Ahmed I.H. & Shekidef M.H. 2012. Incidence and management of bovine claw affections and their economic impact: a field study on dairy farms. *Am. J. Sci.* 8(6): 46-61.
- Akin I. & Akin T. 2018. Economic impact of digital dermatitis treatment on a dairy farm: an application of the break-even analysis. *Ciênc. Rural.* 48:1-7.
- Alsaad C., Syring J., Dietrich G., Doherr M.G., Gujan T. & Steiner A. 2014. A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. *Vet. J.* 199(2):281-285.
- Alsaad M & Büscher W. 2012. Detection of hoof lesions using digital infrared thermography in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95(2):735-742.
- Basile R.C., Albernaz R.M., Pereira M.C., Araújo R., Ferraz G.C. & Queiroz-Neto A. 2010. Guia prático de exames termográficos em equinos. *Bras J Equine Med.* 31:24-28.
- Battisti M.A., Caon T. & de Campos A.M. 2021. A short review on the antimicrobial micro- and nanoparticles loaded with Melaleuca alternifolia essential oil. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 63(1):1-8.
- Beninger C., Naqvi S.A., Naushad S., Orsel K., Luby C., Derakhshani H., Khafipour E. & Buck J. 2018. Associations between digital dermatitis lesion grades in dairy cattle and the quantities of four *Treponema* species. *Vet Res.* 49:1-15.
- Berry S.L., Read D.H., Famula T.R., Mongini A. & Döpfer D. 2012. Long-term observations on the dynamics of bovine digital dermatitis lesions on a California dairy after topical treatment with lincomycin HCl. *The Vet J.* 193:654-658.

- 475 Bomjardim H.A., Oliveira M.C., Brito M.F., Oliveira C.M.C., Monteiro B.M., Silveira N.S.S. &
 476 Barbosa J.D. 2020. Bovine digital dermatitis in the Brazilian Amazon biome and topic treatment with
 477 *Copaifera reticulata* oil. *Pesq. Vet. Bras.* 40(11):842-851.
- 478 Borges J.R.J., Câmara A.C.L., Moscardini A.R.C., Rodrigues C.A., Pitombo C.A., Graça F.A.S., Silva
 479 L.A.F., Silva P.C.A.R., Cunha P.H.J., Viana R.B., Rabelo R.E. & Ollhoff R.D; 2017. Doenças dos dígitos dos
 480 bovinos: nomenclatura padronizada para o Brasil. *Revista CFMV.* 23: 45-52.
- 481 Cha E., Hertl J.A., Bar D. & Grohn Y.T. 2010. The cost of different types of lameness in dairy
 482 cows calculated by dynamic programming. *Prev. Vet. Med.* 97(1):1-8.
- 483 Cramer G., Solano L & Johnson R. 2019. Evaluation of tetracycline in milk following extra-
 484 label administration of topical tetracycline for digital dermatitis in dairy cattle. *J. of Dairy Sci.*
 485 102:883-895.
- 486 Cruz C., Driemeier D., Cerva C. & Corbellini, L. G. 2001. Clinical and epidemiological aspects
 487 of bovine digital lesions in Southern Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 53(6):654 - 657
- 488 Cunha P.H.J. 2000. Pedilúvio para bovinos: avaliação físico-química, microbiológica e eficácia
 489 terapêutica das soluções desinfetantes. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Goiás,
 490 Goiânia. 131p.
- 491 Desrochers A., Anderson D.E. & ST-Jean G. 2001. Lameness examination in cattle. *Vet. Clin.*
 492 *North Am. Food Anim. Pract.* 17(1):39-51.
- 493 Dirksen, G. 1993. Sistema Locomotor, p; 315-340. In: Diksen G.; Gründer H-D.; Stöber M.
 494 Rosenberger, *Exame Clínico dos Bovinos.* 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 495 Ebling R. C. 2018. Prevalência e distribuição de lesões podais em vacas leiteiras criadas em
 496 Free Stall. 2018. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 54p.
- 497 Elliott M.K., Alt D.P. & Zuerner R.L. 2007. Lesion formation and antibody response induced
 498 by papillomatous digital dermatitis- associated spirochetes in a murine abscess model. *Infect.*
 499 *Immun.* 75:4400-4408.
- 500 Harris-Bridge G., Young L., Handel I., Farish M., Mason C., Mitchell M. A. & Haskell M. J. 2018.
 501 The use of infrared thermography for detecting digital dermatitis in dairy cattle: What is the best
 502 measure of temperature and foot location to use? *Vet. J.* 237: 26–33.
- 503 Hobman J.L. & Crossman L.S. 2014. Bacterial antimicrobial metal ion resistance. *J. Med.*
 504 *Microbiol.* 64:471 – 497.
- 505 Holzhauer M., Bartels C.J., Van Barneveld M., Vulders C. & Lam T. 2011. Curative effect of
 506 topical treatment of digital dermatitis with a gel containing activated copper and zinc chelate. *Vet*
 507 *Rec.* 169: 555.
- 508 Holzhauer M., Bartels C.J.M., Van Den Borne B.H.P. & Van Schaik G. 2006. Intra-class
 509 correlation attributable to claw trimmers scoring common hind-claw disorders in Dutch dairy herds.
 510 *Prev. Vet. Med.* 75: 47–55.
- 511 Jacobs C., Orsel K., Mason S. & Barkema H.W. 2018. Comparison of effects of routine topical
 512 treatments in the milking parlor on digital dermatitis lesions. *J. of Dairy Sci.* 101(6): 5255–5266.
- 513 Kamiloglu A., Demirkan I. & Baran V. 2002. Comparison of ceftiofur sodium by intravenous
 514 region antibiotherapy and local oxytetracycline application for treatment of bovine digital dermatitis.
 515 *Kafkas Uni. Vet. Med. J.* 2 (8):107-110.
- 516 Kofler J., Fiedler A., Charfeddine N., Capión N., Fjeldaas T., Cramer G., Bell N.J., Müller K.E.,
 517 Christen A.M., Thomas G., Heringstad B., Stock K.F., Holzhauer M., Nieto J.M., Egger-Danner C. &
 518 Döpfer D. 2020. ICAR Claw Health Atlas – Appendix 1: Digital Dermatitis Stages (M-stages). Roma:
 519 ICAR, 2020. 40p.
- 520 Krull A.C., Shearer J.K., Gorden P.J., Cooper V.L., Phillips G.J. & Plummer P.J. 2014. Deep
 521 sequencing analysis reveals the temporal microbiota changes associated with the development of
 522 bovine digital dermatitis. *Infect. Immun.* 82(8):3359-3373.
- 523 Krull A.C., Shearer J.K., Gorden P.J., Scott H.M. & Plummer P.J. 2016. Digital dermatitis: Natural
 524 lesion progression and regression in Holstein dairy cattle over 3 years. *J. Dairy Sci.* 99:3718-3731.
- 525 Landis J.R. & Koch G.G. 1997. The measurement of observer agreement for categorical data.
 526 *Biometrics.* 33(1):159-174.
- 527 Laven R.A. & Logue D.N. 2006. Treatment strategies for digital dermatitis for the UK. *Vet J.*
 528 171:79-88.
- 529 Laven R.A. & Proven M.J. 2000. Use of an antibiotic footbath in the treatment of bovine digital
 530 dermatitis. *Vet Rec.* 147:503 – 506.
- 531 Loureiro M.G., Rodrigues C.A., Nascimento E.S, Esteban C., Perri S.H. & Anhesin C.R. 2010.
 532 Comparação entre as administrações tópica e sistêmica de oxitetraciclina no tratamento de vacas
 533 com dermatite digital papilomatosa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 62(1):13-22.

- 534 Lux R., Miller J.N., Park N.H. & Shi, W. 2001. Motility and chemotaxis in tissue penetration of
535 oral epithelial cell layers by *Treponema denticola*. Infect. Immun. 69:6276–6283.
- 536 Manske T, Hultgeen J & Bergsten, C. 2002. Topical treatment of digital dermatitis associated
537 with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. Prev. Vet. Med. 53:215-231.
- 538 Moreira T.F., Nicolino R.R., de Andrade L.S., Filho E.J.F. & de Carvalho A.U. 2018. Prevalence
539 of lameness and hoof lesions in all year-round grazing cattle in Brazil. Trop Anim Health Prod.
540 50(8):1829-1834.
- 541 Nicoletti J.L.M. 2004. Manual de Podologia Bovina. 1. ed. Manole, São Paulo, SP.
- 542 Nielsen B.H., Thomsen P.T. & Sørensen J.T. 2009. A study of duration of digital dermatitis
543 lesions after treatment in a Danish dairy herd. Acta Vet. Scand. 51:1-5.
- 544 Nielsen M.W., Strube M.L., Isbrand A., Al-Medراسي W.D.H.M., Boye M., Jensen T.K. & Klitgaard
545 K. 2016. Potential bacterial core species associated with digital dermatitis in cattle herds identified
546 by molecular profiling of interdigital skin samples. Vet. Microbiol.186:139-149.
- 547 Nikkhah A., Plaizier J.C., Einarson M.S., Berry R.J., Scott S.L. & Kennedy A.D. 2005. Short
548 communication: Infrared thermography and visual examination of hooves of dairy cows in two stages
549 of lactation. J. Dairy Sci. 88: 2749–2753.
- 550 Nishikawa A. & Taguchi K. 2008. Healing of digital dermatitis after a single treatment with
551 topical oxytetracycline in 89 dairy cows. Vet. Rec. 163:574-576.
- 552 Papagianni M. 2011. Organic Acids, p. 110-114. In: The Biochemical Basis. Elsevier,
553 Thessaloniki, Grécia.
- 554 Plummer P.J. & Krull A. 2017. Clinical perspectives of digital dermatitis in dairy and beef
555 cattle. Vet Clin Food Anim. 33:165-181.
- 556 Polefka T.G., Bianchini R.J. & Shapiro S. 2012. Interaction of mineral salts with the skin: a
557 literature survey. Int. J. Cosmet. Sci. 34:416-23.
- 558 Pozzatti P.N., Casagrande F.P., Dórea M.D., Borges L.F.N.M., Porfírio L.C., Pinheiro H.B. & da
559 Silva P.C.A.R. 2018. Prevalência das afecções podais em vacas leiteiras da região sul do estado do
560 Espírito Santo, Brasil. Rev. Acad. Cienc. Anim. 16:1-7.
- 561 Prastiwi A., Okumuş Z., Hayirli A., Çelebi D., Yanmaz L.E., Doğan E., Şenocak M.G. & Ersoz U.
562 2019. Effectiveness of copper sulfate solutions in footbaths in dairy cattle. Atatürk University J. Vet.
563 Sci.14(3):238-245.
- 564 Ramadan M.A., Shawkey A.E., Rabeh M.A. & Abdellatif A.O. 2020. Promising antimicrobial
565 activities of oil and silver nanoparticles obtained from *Melaleuca alternifolia* leaves against
566 selected skin-infecting pathogens. J. Herb. Med. 20:1-8.
- 567 Refaai W., Ducatelle R., Geldhof P., Belgacem M. & Opsomer G. 2013 Digital dermatitis in
568 cattle is associated with an excessive innate immune response triggered by the keratinocytes. BMC
569 Vet. Res. 3(9):193-199.
- 570 Rodrigues M. 2013. Avaliação das características do líquido ruminal associada à termografia
571 digital e atividade pedométrica em vacas holandesas. Dissertação de Mestrado, Universidade
572 Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.
573 101p.
- 574 Schultz N. & Capion N. 2013. Efficacy of salicylic acid in the treatment of digital dermatitis in
575 dairy cattle, Vet. J. 198(2):518-523.
- 576 Sellera F.P., Barbosa B.S., Gargano R.G., Rísoli V.F.P., Sabino C.P., Ollhoff R.D., Baptista M.S.,
577 Ribeiro M.S., de Sá L.R.M. & Pogliani F.C. 2021. Methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic
578 therapy can be a novel non-antibiotic platform for bovine digital dermatitis. Photodiagnosis
579 Photodynamic ther. 34:1-8.
- 580 Sellera F.P., Gargano R.G., dos Anjos C., Baptista M.S., Ribeiro M.S. & Pogliani F.C. 2018.
581 Methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic therapy: A novel strategy for digital
582 dermatitis-associated sole ulcer in a cow – A case report. Photodiagnosis Photodynamic ther.24:121-
583 122.
- 584 Shearer J.K. & Hernandez J. 2000. Efficacy of two modified nonantibiotic formulations
585 (Victory) for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. J. Dairy Sci. 83:741-745.
- 586 Silva L.A.F., Silva C.A., Borges J.R.J., Fioravanti M.C.S., Borges G.T. & Atayde I.B. 2005. A clinical
587 trial to assess the use of sodium hypochlorite and oxytetracycline on the healing of digital dermatitis
588 lesions in cattle. Can. Vet. J.46(4):345-348.
- 589 Silva L.A.F., Silva L.M., Romani A.F., Rabelo R.E. et al. 2001. Características clínicas e
590 epidemiológicas das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizónia-GO. Ciênc.
591 Anim. Bras. 2(2):119 – 126.

- 592 Soares J.P.G., Aroeira L.J.M., Fonseca A.H.F., Fagundes G.M. & Silva J.B. 2011. Produção orgânica
593 de leite: desafios e perspectivas. Anais III SIMLEITE, Viçosa, MG, p.13-43.
- 594 Solano L., Barkema W., Jacobs C. & Orsel K. 2017a. Validation of the M-stage scoring system
595 for digital dermatitis on dairy cows in the milking parlor. J Dairy Sci.100: 1592–1603.
- 596 Solano L., Barkema W., Pickel C. & Orsel K. 2017b. Effectiveness of a standardized footbath
597 protocol for prevention of digital dermatitis. J Dairy Sci.100(2):1295-1307.
- 598 Souza M.E., Lopes L.Q.S., Vaucher R.A., Mário D.N., Alves S.H., Agertt V.A. & Santos R.C.V. 2014.
599 Antimycobacterial and antifungal activities of *Melaleuca alternifolia* oil nanoparticles. J. Drug Deliv.
600 Sci. Technol. 24:559–560.
- 601 Stokes J.E., Leach K.A., Main D.C.J. & Whay H.R. 2012. The reliability of detecting digital
602 dermatitis in the milking parlour. Vet. J. 193:679–684.
- 603 Teixeira A.G.V., Machado V.S., Caixeta L.S., Pereira R.V. & Bicalho, R.C. 2010. Efficacy of
604 formalin, copper sulfate, and a commercial footbath product in the control of digital dermatitis. J.
605 Dairy Sci. 93:3628–3634.
- 606 Thomsen P.T., Munksgaard L. & Togersen F.A. 2008. Evaluation of a lameness scoring system
607 for dairy cows. J. Dairy Sci. 91, p.119-126, 2008.
- 608 Toholj B., Stevančević M., Kos J., Smolec O., Potkonjak A., Cincović M., Belić B., Ivetić V.,
609 Spasojević J. & Stevančević O. 2012. Efficiency investigation into different therapeutic protocols in
610 treating digital dermatitis in dairy cows. Vet. Arh. 82:133-142.
- 611 Wilson-Welder J.H., Alt D. & Nally J. 2015. The etiology of digital dermatitis in ruminants:
612 recent perspectives. Vet. Med. Res. Rep. 6:155-164.