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

“AVALIAÇÃO DO QUELATO DE COBRE E ZINCO NA FORMA DE SPRAY NO TRATAMENTO DE VACAS ACOMETIDAS POR DERMATITE DIGITAL”

RAYMIS BRUNO ROSA MOURA

Botucatu, São Paulo
Maio - 2021

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

AVALIAÇÃO DO QUELATO DE COBRE E ZINCO EM FORMA DE SPRAY NO TRATAMENTO DE VACAS ACOMETIDAS POR DERMATITE DIGITAL

RAYMIS BRUNO ROSA MOURA

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 TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Moura, Raymis Bruno Rosa.
Avaliação do quelato de cobre e zinco na forma de spray no tratamento de vacas acometidas por dermatite digital / Raymis Bruno Rosa Moura. - 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. Biotecnologia animal. 4. Quelatos - uso terapêutico.

Palavras-chave: Claudicação; Dermatite digital; Podologia bovina; Quelato de cobre e zinco.

Nome do autor: Raymis Bruno Rosa Moura

Título: Avaliação do quelato de cobre e zinco no tratamento de vacas acometidas por dermatite digital.

Comissão examinadora

Professor Dr. Celso Antonio Rodrigues
Presidente da banca e orientador
Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal
FMVZ – UNESP - Botucatu

Professor Dr. Rüdiger Daniel Ollhoff
Membro da banca
Programa de Pós Graduação em Ciência Animal
Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba/PR

Professor Dr. Fabio Celidonio Pogliani
Membro da banca
Departamento de Clínica Médica
Universidade de São Paulo - FMVZ

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sua infinita bondade e misericórdia, por ter me dado força e sabedoria nos momentos difíceis. E por me permitir chegar até aqui.

Agradeço a minha família pelo apoio emocional em todos os momentos. Em especial aos meus pais Wander Moura e Josefa de Melo, pelo seu amor incondicional.

Agradeço ao meu orientador Profº Dr. Celso Antonio Rodrigues por ter me aceito como orientado e por compartilhar seus conhecimentos, agradeço pelos momentos de conselhos e ajudas quando precisei.

Aos meus colegas de Pós-Graduação pela convivência diária, pela troca de conhecimento, aprendizado e amizade.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa, José Ricardo Barbosa pelos conselhos nas análises estatística. A minha amiga-irmã Ana Paula Abreu Mendonça, pelo auxilio nos momentos que precisei, pelos conhecimentos compartilhados.

Aos amigos que conheci durante o mestrado que sorriram comigo e também me auxiliaram quando precisei.

Agradeço ao proprietário e funcionários, por terem disponibilizado a propriedade e os animais para a realização da pesquisa. Ao Médico Veterinário Piero Henrique Teodoro pela disponibilidade, apoio e confiança.

Aos animais, que mesmo sem entender o que acontece, contribuíram essencialmente para a realização da pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes pela concessão da bolsa de mestrado. O presente trabalho foi realizado com o apoio da CAPES - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Páginas

RESUMO iv
ABSTRACT v
CAPÍTULO 1
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA 1
2 REVISÃO DE LITERATURA 2
2.1 Dermatite digital 2
2.1.1 Etiopatogenia 2
2.1.2 Diagnóstico 4
2.1.3 Protocolos terapêuticos 5
2.1.3.1 Tratamento com antibiótico 5
2.1.3.2 Tratamento sem a utilização de antibiótico 7
2.1.3.3 Prevenção e controle 8
2.2 Descrição da formula do produto 9
3. OBJETIVOS 12
3.1 Objetivos gerais 12
3.1 Objetivos específicos 12
4. REFERÊNCIAS 13
CAPÍTULO 2
5. ARTIGO CIENTÍFICO 21

RESUMO

A dermatite digital (DD) é uma enfermidade podal responsável por causar claudicação e prejuízos econômicos na bovinocultura leiteira. O tratamento envolve antibioticoterapia por via sistêmica e/ou tópica, contudo, a legislação tem limitado a utilização frente a seleção de microrganismos resistentes e a necessidade de respeitar o período de carência do leite. Assim terapias isentas de antibióticos têm sido estudadas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do quelato de cobre e zinco em forma spray no tratamento de lesões de DD. Foram utilizados 39 membros com lesões de DD, provenientes de 36 vacas leiteiras em regime *free-stall*, divididos em três grupos, sendo o grupo um (G1) tratado com spray sem bandagem, grupo dois (G2) com bandagem durante o período estabelecido para o tratamento, e grupo três (G3) com bandagem nos primeiros três dias. O início do tratamento ocorreu em D0 e em seguida as lesões foram avaliadas no D3 (terceiro dia de tratamento) e D7 (sétimo dia de tratamento) e D10 (décimo e último dia de tratamento). Os animais foram avaliados quanto ao escore de locomoção, e as lesões foram avaliadas por fotografia de forma a cegas por três avaliadores. Os dados foram analisados com os testes de Mann-Whitney, Friedman e teste de Kappa Fleiss (k). Os resultados obtidos não apresentavam diferença estatística entres os grupos para as variáveis analisadas, e ambos os grupos houve melhora do escore de locomoção e regressão do estágio ativo para inativo das lesões. No entanto, ao final do tratamento ainda existia lesões ativas em ambos os grupos. Conclui-se que o tratamento proposto de 10 dias foi insuficiente para a cicatrização completa das lesões, havendo a necessidade de prorrogar os dias de aplicação, considerando que houve regressão significativa das lesões durante o período estabelecido. São necessários mais testes a longo prazo com o objetivo de avaliar a eficácia do produto.

Palavras chaves: dermatite digital, claudicação, vacas leiteiras e quelato de cobre e zinco.

ABSTRACT

Digital dermatitis (DD) is a foot disease responsible for causing lameness and economic losses in dairy cattle. Treatment involves systemic and/or topical antibiotic therapy, however, legislation has limited its use against the selection of resistant microorganisms and the need to respect the milk withdrawal period. Thus antibiotic-free therapies have been studied. The aim of this study was to evaluate the efficacy of copper and zinc chelate in spray form in the treatment of DD lesions. Thirty-nine limbs with DD lesions were used, from 36 dairy cows in free-stall regime, divided into three groups, being group one (G1) treated with spray without bandage, group two (G2) with bandage during the period established for the treatment, and group three (G3) with bandages in the first three days. The start of treatment occurred on D0 and then lesions were evaluated on D3 (third day of treatment) and D7 (seventh day of treatment) and D10 (tenth and last day of treatment). The animals were evaluated for locomotion score, and injuries were evaluated by photography in a blinded fashion by three evaluators. Data were analyzed using the Mann-Whitney, Friedman and Kappa Fleiss (k) tests. The results obtained showed no statistical difference between the groups for the variables analyzed, and both groups showed an improvement in the locomotion score and regression from the active to inactive stage of the lesions. However, at the end of treatment, there were still active lesions in both groups. It is concluded that the proposed 10-day treatment was insufficient for the complete healing of the lesions, with the need to extend the days of application, considering that there was a significant regression of the lesions during the established period. More long-term testing is needed to assess the product's effectiveness.

Keywords: digital dermatitis, lameness, dairy cows, copper and zinc chelate.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A demanda por mais produtos de origem animal acarretou um sistema de produção mais intenso, predispondo o desenvolvimento das enfermidades podais, responsáveis por perdas econômicas, sendo essas superadas por problemas reprodutivos e infecções na glândula mamária nas vacas leiteiras (SILVA et al., 2001; NUFFEL et al., 2015; ZHANG et al., 2015).

A dermatite digital (DD) é uma enfermidade podal de origem infecciosa, responsável por causar dor e claudicação em bovinos leiteiros (FAJT; APLEY, 2001; PALMER; O'CONNELL, 2015; REFAAI et al., 2013). Não sendo totalmente esclarecida, sua etiologia é considerada como polimicrobiana, com predomínio das bactérias, espiroquetas, da espécie *Treponema* sp. (WILSON-WENDER et al., 2015; MOREIRA et al., 2018). Além disso, *Fusobacterium necrophorum* e *Dichelobacter nodosus* também são descritos como agentes oportunistas da dermatite digital (LEÃO et al., 2006; WILSON-WELDER et al., 2015; MOREIRA et al., 2018).

Os tratamentos convencionais utilizam antibióticos sistêmicos e/ou tópicos, dentre os mais empregados destaca-se a utilização de oxitetraciclina de longa ação por via sistêmica, na dose de 20 mg/kg ou aplicação por via tópica de 2g a 25g, associada ou não a bandagem, apresentando resultados satisfatórios no tratamento das lesões (NICOLETTI, 2004; LOUREIRO et al., 2010; CRAMER et al., 2019).

Porém a necessidade de respeitar o período de carência de antibióticos no leite, e o uso excessivo e inadequado de antibióticos tem acarretado na seleção de cepas resistentes, limitando o uso de antibióticos no tratamento das enfermidades podais (KAMILOGLU; DEMIRKAN; BARAN, 2002; NICOLETTI, 2004; CRAMER et al., 2019).

Junto as restrições elaboradas pelas legislações, ocorreu um aumento na busca por alimentos que são isentos de contaminantes, como defensivos químicos (antibióticos) e promotores de crescimento animal. O leite orgânico é um exemplo de produto do sistema de produção orgânico, que visa a utilização de recursos naturais, sem o uso de produtos químico (OLIVEIRA, 2013).

Conhecido pelo seu elevado valor nutricional para crianças e adultos, o leite é o mais nobre dos produtos de origem animal, assim como seus derivados, que se constituem em alimentos de alto valor nutritivo, além de serem fonte de renda para os diferentes segmentos da cadeia produtiva do leite (RIBEIRO, 2008).

A produção de leite orgânico no Brasil, em 2005, era de 0,01% de 24 milhões de litros, e, em 2010, cresceu para 0,02% (28 milhões de litros em 2010)(SOARES et al., 2011). Em outros países, como os Estados Unidos, o segmente tem apresentado rápido crescimento dentro da agricultura orgânica na última década. Também é possível observar o crescimento em países da Europa, onde a preocupação dos consumidores com a segurança alimentar alavanca esse desenvolvimento (MCBRIDE; GREENE, 2009).

Com isso, terapias com soluções isentas de antimicrobianos tem sido utilizada para o tratamento e controle das lesões por DD (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; SILVA et al., 2005). Alguns estudos demonstraram que a utilização de substâncias como sulfato de cobre e ácido salicílico, apresentaram bons resultados para o tratamento das lesões de DD (TEIXEIRA et al., 2010; SCHULTZ; CAPION, 2013).

Portanto há necessidade de realizar novos estudos com o objetivo de avaliar a eficiência de produtos isentos de antibióticos no tratamento de DD, sendo importante considerar a viabilidade econômica e fácil manejo, ajustando a realidade dos criatórios brasileiros (LAVEN; LOGUE, 2006; SILVA et al., 2006).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dermatite digital

2.1.1 Etiopatogenia

A dermatite digital é caracterizada pela infecção de pele digital, as lesões estão frequentemente localizadas na região interdigital palmar/plantar ou dorsal dos cascos, próxima à margem coronária na comissura entre os bulbos dos talões, e acomete principalmente bovinos leiteiros (NICOLETTI, 2004; REFFAI et al., 2013; PALMER; O'CONNELL, 2015; EGGER-DANNER et al., 2015).

As lesões iniciais são ulcerativas, tipicamente avermelhadas, planas variando de 1 a 4 cm de diâmetro, que posteriormente tem as dimensões ampliadas, adquirindo aspecto verrucoso com projeções papilares. Em seguida evoluem para a forma de hiperqueratose ou proliferação crônica, atingindo toda a quartela ou os talões (BERRY, 2010; REFFAI et al., 2013; PALMER e O'CONNELL, 2015; EGGER-DANNER et al., 2015).

Outras formas de classificação também são descritas, como o sistema de pontuação do *M-stage*, realizando a classificação macroscópica das lesões, desenvolvido primeiramente por Dopfer e colaboradores (1997), que classificaram as lesões de M1 a M4, sendo M1 uma lesão ulcerativa em estágio inicial (0-2 cm de diâmetro) que não é doloroso à palpação; M2 é a fase ulcerativa clássica com um diâmetro maior que 2 cm muitas vezes doloroso à palpação; M3 é a fase de cura com uma lesão coberta por uma crosta; M4 é a fase crônica caracterizada por hiperqueratose circunscrita, geralmente não é dolorosa. E mais tarde foi alterado por Berry et al. (2012), onde acrescentaram o estágio M5 como lesão cicatrizada. E atualmente, Kofler et al. (2019) renomearam o estágio de lesão inexistente ou pele normal como pontuação M0.

São apontados como fatores de risco ambientais e decisivos no aparecimento de doenças podais: instalações com condições de higiene precária; amplo acúmulo de fezes e urina, umidade, pisos abrasivos, superlotação (SILVA et al., 2001; SILVEIRA et al., 2018), sistema de produção onde os animais se encontram e mudanças repentinas da dieta (NICOLETTI, 2004; SILVEIRA et al., 2009; ALBUQUERQUE et al., 2009). Em resumo, fatores que comprometem a barreira física da pele, favorecem o estabelecimento e desenvolvimento dos agentes envolvidos na ocorrência da doença (SHEARER; VAN AMSTEL, 2007).

A DD é uma enfermidade de origem polimicrobiana, com predomínio das bactérias do gênero *Treponema* sp., do grupo das espiroquetas. Essas bactérias exibem a forma de bastonetes, gram-negativas e produzem uma toxina queratolítica, sendo essas bactérias encontradas em vida livre no solo úmido e em água doce (MAUCHLE et al., 2008).

Outras bactérias também tem sido identificadas em lesões pela DD, entre elas as bactérias *Borrelia burgdorferi, Fusobacterium necrophorum* e *Dichelobacter nodosus*. Contudo, a função das diferentes espécies de bactérias

na etiopatogenia da DD é duvidosa, mas alguns autores sugerem a provável ação oportunista entre as bactérias, atuando com sinergismo (MAUCHLE, 2008; WILSON-WELDER; ALT; NALLY, 2015; NIELSEN et al., 2016).

A prevalência e a incidência da doença são variáveis, Souza e colaboradores (2006) avaliaram no período de um ano 100 vacas em período de lactação da raça holandês preto e branco, mantidas em sistema *free-stall* e encontraram uma incidência de 55% de animais apresentando claudicação, onde a DD sendo a úlcera de sola foram as causas mais presentes, além disso relacionou a elevada incidência de DD as condições precárias de higiene das instalações.

Souza et al. (2015) avaliaram em seu estudo 2.479 vacas de aptidão leiteira, oriundas de 32 propriedades localizadas no oeste do Paraná e também encontraram a DD como a lesão mais prevalente em 7,5% dos casos observados. Já Leão et al. (2009) encontraram em seu estudo uma prevalência de 3,85% de 7752 vacas de aptidão leiteira oriundas de duas propriedades no estado de Goiás.

2.1.2 Diagnóstico

O diagnóstico da doença é com base no histórico clínico de desconforto, claudicação em animais do rebanho e visualização das lesões. A claudicação pode ser determinada durante a realização do exame de locomoção, onde se observa a relutância do animal em se locomover, arqueamento de dorso e encurtamento das passadas (NICOLETTI, 2004; THOMSEN; MUNKSGAARD; TOGERSEN, 2008). Para a visualização das lesões os membros precisam ser limpos com água e sabão para remoção de sujidades (BERRY et al, 2012; NIELSEN et al, 2016).

A visualização das lesões nos membros pélvicos é realizado com auxílio de um espelho giratório durante a ordenha, método também utilizado para o diagnóstico de DD, não havendo a necessidade de elevar o membro do animal acarretando estresse. Embora a elevação do membro seja o método mais utilizado para a visualização das lesões (RELUN et al., 2011; STOKES et al., 2012).

A utilização da reação cadeia polimerase (PCR) e a imunocitoquímica foi um método de diagnóstico adotado por Demirkan et al. (1998) para identificação de

anticorpos policlonais provenientes de espiroquetas *Borrelia burgdorferi*, *Treponema denticola* e *Treponema vicentii* presentes em lesões de dermatite digital. Todavia, anticorpos monoclonais para *Borrelia burgdorferi* e *Treponema pallidum* não exibiram resultados positivos. Concluísse que o PCR dessas espiroquetas e a reação com outros microrganismos, estão frequentemente associadas as mudanças patológicas decorrentes da DD.

A hibridização fluorescente *in situ* (FISH) é uma técnica citogenética usada para detectar a presença ou ausência de sequências de DNA em cromossomos, facilitando a identificação de microrganismos *in situ*, sem a necessidade de cultivos celulares, proporcionando um aumento significativo da resolução, rapidez e segurança de diagnósticos (BAUMAN et al., 1980). Contudo, o FISH não oferece informações sobre a localização espacial dos microrganismos no tecido ou sua associação com a lesão (NEVES; GUEDES, 2012).

2.1.3 Protocolos terapêuticos

2.1.3.1 Tratamento com antibiótico

Dentre os protocolos terapêuticos empregados, a utilização 20 mg/kg de Oxitetraciclina de longa ação, Penicilina G Procaína (22.000UI/kg 2 vezes/dia/3 dias) ou Ceftiofur Sódico (2 mg/kg/3 dias) por via parenteral tem sido eficiente no tratamento da DD. Contudo, a aplicação de antibioticoterapia sistêmica implica em resíduos do antibiótico nos tecidos e no leite, resultando no descarte do leite e em alguns casos ocorre insucesso do tratamento (NICOLETTI, 2004; SILVA et al., 2005).

Em um estudo realizado com aplicação de 1mg/kg de cefquinoma administrado durante cinco dias por via intramuscular apresentou redução do grau de lesão em comparação a uma única aplicação de 10 mg/kg de eritromicina (LAVEN, 2006).

A oxitetraciclina é o antibiótico comumente utilizado para o tratamento de DD, a terapia sistêmica exige o descarte do leite por um longo período, com taxa de cura variável (MANSKE et al., 2002; LEÃO et al., 2006; LOUREIRO et al., 2010).

Em protocolos tópicos com a utilização de bandagens, a utilização de 5g de cloridrato de oxitetraciclina com intervalo de 48h não só foi eficiente no tratamento, como também não exibiu níveis detectáveis do antibiótico no plasma,

no líquido sinovial e no leite. O que permitiria o consumo do leite durante todo o período de tratamento (LOUREIRO et al., 2010).

Cramer et al. (2019) descreveram em seu estudo que a aplicação tópica de oxitetraciclina em doses altas (25g) e baixas (2 e 5g), resultou em resíduos do antibiótico no leite, considerando o intervalo de retirada do leite. Concluindo que o risco de resíduos de antibióticos parece não ser dependente da dose, pois doses mais baixas também promoveram resíduos.

É importante observar que o resultado do protocolo terapêutico também depende de alguns fatores, como o histórico da utilização do antibiótico na propriedade, podendo influenciar no resultado de cura das lesões. Um exemplo, o estudo realizado por Nishikawa e Taguchi (2008) observaram que uma única aplicação tópica 100 mg/ml de oxitetraciclina em uma propriedade com histórico de uso prologando do antibiótico, resultou em baixa taxa de cicatrização de 13,8% e 38,7% em vacas primíparas e multíparas.

Shearer e Hernandez (2000) também relataram baixa eficácia da oxitetraciclina, pois a propriedade possuía um histórico de uso prolongado de oxitetraciclina no pedilúvio para o tratamento de DD, sugerindo o desenvolvimento de resistência bacteriana.

A utilização de cloridrato de tetraciclina em forma de pasta também é uma opção para o tratamento tópico, tendo sido observada cura das lesões no período de 8-12 dias de tratamento, não havendo a necessidade de bandagem (CUTLER et al., 2013).

Outros estudos também revelaram a utilização de outros antibióticos em soluções tópicas no tratamento de lesões de DD. Por exemplo, Holzhauer et al.(2017) avaliaram o uso de tianfenicol em forma de spray em lesões M2 de DD, resultou na cura de 89% das lesões no 28º dia de observação, sendo realizado 3 dias de aplicações consecutivas no início do tratamento .

Outro estudo demonstrou que a utilização de 10g de lincomicina e oxitetraciclina em forma de pasta não foram eficazes para a cicatrização das lesões, ocorrendo reincidiva após o término de 30 dias de tratamento (BERRY et al., 2010). Contudo, o mesmo autor menciona que a utilização de 10g de lincomicina em forma de pasta com bandagem foi eficaz na transição de lesões ativas para inativas por um período curto de 12 dias (BERRY et al., 2012).

Assim, protocolos de tratamento mais rígidos ou estendidos podem ser necessários para controlar o processo infeccioso e atingir a cura completa das lesões (BERRY et al., 2010; BERRY et al., 2012; CUTLER et al., 2013).

O uso de antibióticos no tratamento de DD na indústria de laticínios vem diminuindo ao longo dos anos, devido a preocupações com a resistência aos antibióticos. Por esse motivo, há necessidade de busca de novas terapias alternativas livres de antibióticos (CUTLER et al., 2013).

2.1.3.2 Tratamento sem a utilização de antibiótico

A utilização de substâncias ausente de antibióticos tem sido empregada no tratamento de enfermidades podais. Como exemplo, pode-se citar: os aldeídos, sulfatos de cobre e zinco, cal, ácido paracético, sulfato de cobre acidificado e hipoclorito de sódio (MANSKE; HULTGREN; BERGSTEN, 2002; CUNHA et al., 2002; SILVA et al., 2005).

Laven e Hunt (2002) conduziram um estudo experimental com produtos não antibióticos, eles utilizaram em seu estudo a formalina, sulfato de cobre e ácido acético, em pedilúvios para o tratamento da dermatite digital. Nesse estudo experimental, chegaram a obter resultados de 60% de cura das lesões.

O ácido salicílico é outro produto que tem sido usado como um tratamento tópico para lesões de DD. Em sua apresentação em pó possuí ação queratolítica, anti-inflamatória, bactericida e antisséptica (VANE, 1971). Estudos recentes demonstram que o ácido salicílico (10g) é mais eficaz em termos de cura e melhora de lesões DD do que o spray com antibiótico (SCHULTZ; CAPION, 2013). Entretanto, deve ser aplicado junto com bandagem, o que exige contenção do animal, tornando laboriosa a utilização em vários animais dentro do rebanho (CAPION; LARSSON; NIELSEN, 2018; WEBER; RICHTER; FREICK, 2019).

Um estudo comparou a eficácia do spray de clortetraciclina com um produto comercial em forma de spray de quelato de cobre e zinco. Ao final de 10 dias de tratamento, a eficácia do produto foi de 91%, enquanto o spray de clortetraciclina teve eficácia de 45% na cura de lesões (DOTINGA, 2014).

Relun e colaboradores (2012) também utilizaram em seu experimento solução de quelato de cobre e zinco para tratamento tópico coletivo de animais apresentando nos membros lesões de DD, onde observaram que no período

médio de 28 dias, mais de 80% das lesões presentes, transgrediram de M1 e M2 (ativas) para M0 ou M4 (inativas), sendo considerado lesões curadas.

Holzhauer et al. (2011) também demonstram em seu estudo que a utilização do quelato sulfato de cobre e zinco em forma de gel foi mais eficiente na cura de lesões DD, em comparação com spray de clortetraciclina.

Outra alternativa que apresentou um resultado satisfatório na terapia tópica de lesões de DD foi a combinação de antisséptico-antibiótico em forma de pasta, em que se utilizou 250mg de cefazolina com 3g de iodo, 2g de iodeto potássio e 30g de óxido de zinco, sendo realizados curativos semanalmente, resultando na cura de lesões ativas (M2) em 21 dias (EL-SHAFAEY; ELSEADY; EL-KHODERY, 2016). Paudyal et al. (2020) testaram, ainda, três diferentes substâncias para o tratamento de DD, constatando que a sustância que possuía mistura de iodo com cobre foi o tratamento mais eficaz na redução do tamanho da lesão, dor e claudicação em vacas acometidas.

2.1.3.3. Prevenção e controle

O pedilúvio é principal medida preventiva utilizada para a diminuição da incidência de doenças podais em rebanhos, sendo sua eficácia comprovada em diversos estudos, e entre suas diversas ações, colabora em melhorar a resistência do tecido córneo (SILVA et al., 2004; EVANS; MURRAY; CARTER, 2016). Leão (2006) descreveu que a correta utilização do pedilúvio em uma propriedade rural dispensou o uso da terapia parenteral com antibióticos.

As soluções mais utilizadas em um pedilúvio são: formalina 3-5%, de 3 a 5 litros de formol 40% /100L água, sulfato de cobre 5-10% e sulfato de zinco 10-20% (ABBOTT; LEWIS, 2005). Com ação sobre a síntese de colágeno, da queratina no estojo córneo, e também ação antibacteriana, o cobre é o mineral mais utilizada nas soluções de pedilúvio em propriedades leiteiras (NICOLETTI, 2004; PRASTIWI et al., 2019).

A concentração do sulfato de cobre dependerá da frequência de uso, da prevalência de casos na propriedade e do número de animais a passar pelo pedilúvio. Em propriedades com rebanhos pequenos e pouca prevalência da DD, recomenda-se a concentração de 2% de sulfato de cobre, sendo eficaz para a prevenir o aparecimento de lesões em animais sadios (SOLANO et al., 2017). A utilização da concentração á 5% de sulfato de cobre são empregados em

protocolos semanais de pedilúvios em propriedades de alta prevalência (SPEIJERS et al. 2010; SOLANO et al., 2017).

O uso de antibióticos no pedilúvio também tem demonstrado eficácia para o tratamento de lesões de DD, exemplos de antibióticos utilizados são: eritromicina (35mg/litro), oxitetraciclina (solução de 0,4%) e lincomicina (0,01%) (GUARD, 1999; LAVEN; PROVEN, 2000). Porém a utilização de antibióticos em pedilúvios é questionável, por conta da resistência bacteriana (GREENOUGH, 2007).

O pedilúvio e o casqueamento preventivo são duas opções de controle das enfermidades podais. Ambas necessitam fazer parte da rotina das propriedades, principalmente as leiteiras, pois auxiliam na manutenção da saúde dos cascos, restaurando a forma e as proporções normais dos dígitos e favorecendo a distribuição equilibrada do peso do animal (LEÃO, 2006).

2.2 Descrição da formula do produto.

Os minerais estão presentes em diversos processos enzimáticos envolvidos no metabolismo de nutrientes, formação e regeneração de pele, músculos, cascos e cartilagens (TOMLINSON; MULLING; FAKLER., 2004).

Diferentes civilizações antigas já utilizaram o cobre e o zinco para o tratamento de feridas e infecções de pele (BORKOW, 2014). O estudo realizado por Cangul et al. (2006), observaram que a utilização do cobre e zinco no tratamento de feridas em animais, contribuiu para um processo de cicatrização mais rápido, sugerindo que a combinação desses princípios foi benéfica para reparação de feridas.

Os quelatos, também chamados de minerais orgânicos, são moléculas formadas pela ligação covalente de um íon metálico com um carreador inorgânico, como aminoácidos e carboidratos. Essa ligação permite que a molécula tenha carga elétrica nula (PEIXOTO et al., 2005). O resultado é a formação de complexos de íons metálicos quelatados e, consequentemente, uma molécula com maior biodisponibilidade quando comparada aos minerais tradicionais na forma de sulfatos, carbonos ou óxidos (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004).

Os quelatos formados pela reação entre sais e aminoácidos, ou peptídeos obtidos através de reações enzimáticas, formam uma estrutura biologicamente estável. Dentre os minerais, o cobre, zinco, ferro e manganês apresentam estruturas físico-químicas que possibilitam a formação da ligação covalente, coordenada pelos aminoácidos e peptídeos (RUTZ; MURPHY, 2009)

O zinco é um micro mineral presente no meio intracelular, e está envolvido em diversas funções catalíticas, estruturais e regulatórias no processo de queratinização. É o componente responsável pela ativação das metaloenzimas, tais como superoxido-dismutase, anidrase carbônica, alcool-desidrogenase, carboxipeptidase, fosfatase alcalina, DNA e RNA polimerases, com efeitos no metabolismo dos carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos, além da destruição de radicais livres (PECHOVÁ; PAVLATA; LOKAJOVÁ, 2006).

As metaloenzimas também são responsáveis pelo aumento da atividade dos queratinócitos e sua diferenciação durante a atividade celular (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER, 2004). O zinco é ainda responsável pela formação de proteínas estruturais, que requerem interações proteína-proteína, resultando na diferenciação ou proliferação celular durante o processo de queratinização. A ausência do zinco afeta a formação das proteínas estruturais, portanto, a formação de filamentos de queratina necessários no queratinócito em desenvolvimento.

O zinco é ainda necessário para a ativação da enzima Cu, Zn-superóxido dismutase, desencadeando mecanismos celulares de defesa contra as espécies reativas de oxigênio (EROS), as quais podem desencadear o processo de estresse oxidativo (EO) (NASCIMENTO et al., 2018; SPEARS; WEISS, 2008). Ele também é um cofator das metalotioneínas, proteínas antioxidantes que aumentam a resistência celular à apoptose por ter um efeito protetor contra espécies reativas de oxigênio e toxinas bacterianas. Seu efeito anti-inflamatório também está associado à sua ação regulatória da migração de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares (HASAN; RINK; HAASE, 2013; LI et al., 2017).

O papel do zinco na cicatrização de feridas foi avaliado em estudos experimentais com animais, e sabe-se que ele está envolvido nos processos de replicação e migração celular, síntese de proteínas e reparo celular (LANSDOWN et al., 2007). Além disso, também foi demonstrado que o zinco aplicado no tratamento tópico de feridas ulcerativas e queimaduras promove o

desbridamento autolítico, por causa da atividade colagenase das metaloproteinases (MMPs) na matriz extracelar (ECM), em que as MMPs dependem do zinco para a sua ação sobre a ECM. Assim, ocorrendo degradação da matriz, migração de queratinócitos sobre ECM, angiogênese, proliferação celular, ativação / migração de fibroblastos e formação de tecido fibroso, durante remodelação do tecido (KYRIAKIDES et al., 2009; LANSDOWN et al., 2007; ZIGRINO et al., 2011).

O sulfato de zinco não possui ação irritante quando em contato com a pele, porém, apresenta um valor relativamente alto em comparação as demais soluções, e os animais precisam ficar por um período de tempo longo em contato com a solução, cerca de 30 minutos a 1 hora. Quando utilizado com o surfactante lauril sulfato de sódio, ocorre um aumento da penetração do zinco no tecido córneo dos cascos, e pode reduzir a necessidade de casqueamento antes do pedilúvio (ABBOTT; LEWIS, 2005).

Pardo e colaboradores (2004) demonstraram seu estudo que a suplementação com zinco favoreceu a integridade dos cascos, por acelerar a cicatrização das feridas, aumentar a velocidade de reparação do tecido epitelial e manter a integridade celular.

O cobre é um microelemento presente em diversas enzimas do organismo dos animais, que atuam na produção de hemoglobina, formação dos ossos e pigmentação dos pelos e lã, mecanismo de defesa, respiração celular, formação óssea, desenvolvimento do tecido conjuntivo, mielinização da medula espinhal e queratinização (DEL CLARO, 2007; GONÇALVES, 2007; REZLER, 2007). Além disso, estudos demonstraram que o cobre é essencial para a cicatrização de feridas, agindo na síntese e estabilização da matriz extracelular da pele, estimulando a proliferação de fibroblastos, contribuindo para regulação na produção de colágeno (tipos I, II e V) e estimulando a angiogênese (PHILIPS et al., 2012; POLEFKA; BIANCHINI; SHAPIRO, 2012).

Ele é ainda responsável pela ativação da enzima tiol-oxidase, responsável pela ligação cruzada entre fibras colágenas, que confere rigidez estrutural e elasticidade ao tecido epitelial. A ausência do cobre resulta em falha na formação de colágeno, onde atua a enzima tiol-oxidase, assim, dificultando a queratinização e cornificação das células (TOMLINSON; MÜLLING; FAKLER,

2004). Ademais, o cobre também possui ação antimicrobiana, ocasionando a morte dos microrganismos pela exposição direta com os íons de cobre, danificando a camada fosfolipídica, proteínas intracelulares ou os ácidos nucleicos dos microrganismos (BORKOW, 2014; BORKOW; GABBAY, 2005). Atua também inibindo os grupos sulfidrílicos (-SH) de certas enzimas bacterianas que impedem as reações de óxido redução, vitais para célula bacteriana (DEMASI, 2004; PAULINO, 2006).

O envolvimento do Cu com o sistema antioxidante, pelas enzimas ceruloplasmina e CuZnSOD, o torna importante na defesa da glândula mamária contra infecções. Além disso, a utilização de fontes orgânicas desse mineral torna-se interessante principalmente devido à redução na interação com antagonistas (CORTINHAS, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo desse estudo foi avaliar a eficiência do quelato de zinco e cobre em forma de spray associado ou não a bandagem no tratamento de vacas acometidas por DD.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar os três protocolos terapêuticos estabelecidos com o quelato de cobre e zinco em forma de spray, com e sem a utilização de bandagem durante os 10 dias e com bandagem nos três primeiros de tratamento.

- Avaliar a praticidade do quelato de cobre e zinco em forma de spray durante o tratamento dos animais.

- Determinar qual a melhor opção de tratamento, dentre os três protocolos propostos.

- Identificar possíveis efeitos adversos no tratamento de vacas acometidas por dermatite digital com spray à base de quelato de zinco e cobre.

3. REFERÊNCIAS

ABBOTT, K.A.; LEWIS, C.J. Current approaches to the management of ovine footrot. **The Veterinary Journal**, v. 169, n.1, p. 28–41, 2005.

ALBUQUERQUE, P. I.; XIMENES, F.H.B.; MOSCARDINI, A.C.R.; Gouvêa, L.V.; MOTA, A.L.A. de A., GODOY, R.F.; BORGES, J.R.J. Caracterização das afecções podais em rebanho de gado holandês confinado. **Ciência Animal Brasileira**. Brasília, v. 1, p. 46-52, 2009.

BAUMAN, J.G.J.; WIEGANT, J.; BORST, P.; DUIJN, P. A new method for microscopical localization of specific DNA sequences by in situ hybridization of fluorchromelabelled RNA. **Experimental Cell Research**. v.128, n. 2,1980, p.485-490, 1980.

BERRY, S.L. Diseases of the digital soft tissues. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.17, n.1, p.129-142, 2001.

BERRY, S.L., READ, D.H., WALKER, R.L., FAMULA, T.R. Clinical, histologic, and bacteriologic findings in dairy cows with digital dermatitis (footwarts) one month after topical treatment with lincomycin hydrochloride or oxytetracycline hydrochloride. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.237, n. 5, p. 555–560, 2010.

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, n 3, p. 654–658, 2012.

BORKOW, G. Using Copper to Improve the Well-Being of the Skin. **Current Chemical Biology**, v. 8, n. 2, p. 89–102, 2014.

BORKOW, G.; GABBAY, J. Copper as a biocidal tool. **Current Medicinal Chemistry**. v.12, n.18, p. 2163-75, 2005.

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, n.6, p. 417–423, 2006

CAPION, N.; LARSSON, E.K.; NIELSEN, O.L. 2018. 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 Dairy Science**, v.101, n. 2, p. 1325–1333, 2018.

CORTINHAS, C.S. **Fornecimento de zinco, cobre e selênio orgânicos para vacas leiteiras e efeitos sobre a qualidade do leite e saúde da glândula**

mamária. 2009. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2009

CRAMER, G.; SOLANO, L.; JOHNSON, R. Evolution of tetracycline in milk following extra-label administration of topical tetracycline for digital dermatitis in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.102, n. 1, p.883-895,2019.

CUTLER, J.H.; CRAMER, G.; WALTER, J.J.; MILLMAN, S.T.; KEL-TON, D.F. Randomized clinical trial of tetracycline hydrochloride bandage and paste treatments for resolution of lesions and pain associated with digital dermatitis in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 96, n. 12, p. 7550–7557, 2013.

CUNHA, P. H. J. DA, SILVA, L. A. F. DA FIORAVANTI, M. C. S., BORGES, N. C., MORAES, R. R., SANTANA, A. P. Avaliação físico-química e microbiológica de diversas soluções desinfetantes utilizadas em pedilúvio para bovinos. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, SP, v. 18, n. 2, p. 130-136, 2002.

DEL CLARO, G. R. **Influência da suplementação de cobre e selênio no metabolismo de lipídios em bovinos**. 2007. 89p. Tese de Doutorado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

DEMASI, M. Antissépticos, desinfetantes e esterilizantes. In: DELUCIA, R.; OLIVEIRA – FILHO, R. M. **Farmacologia Integrada**. 2ed. Rio de Janeiro: Revinter, cap. 58, p. 555 – 565, 2004.

DEMIRKAN, I.; CARTER, S.D.; MURRAY, R.D.; BLOWEY, R.W.; WOODWARD, M.J. The frequent detection of a treponeme in bovine digital dermatitis by immunocytochemistry and polymerase chain reaction. **Veterinary Microbiology**. v. 60, n. 2-4, p. 285-292, 1998.

DÖPFER, D.; KOOPMANS, A.; MEIJER, F.A.; SZAKALL, 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 faecalis. **The Veterinary Record**, v. 140, n.24, p. 620–623, 1997.

DOTINGA, A.G. The cure rate of individual chlortetracycline spray treatment on digital dermatitis in dairy cattle. Research project at the Department of Farm Animal Health. Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University. 2014

EL-SHAFAEY, E.; ELSEADY, Y.; EL-KHODERY, S. Comparative therapeutic effect of antiseptic-antibiotic paste for topical treatment of digital dermatitis in dairy cows. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n.2, p. 197–208, 2016.

EGGER-DANNER, C.; NIELSEN, P.; FIEDLER, A.; MÜLLER, K.; FJELDAAS, T.; DÖPFER, D.; DANIEL, V.; BERGSTEN, C.; CRAMER, G.; CHRISTEN, A.M.; STOCK, K.F.; THOMAS, G.; HOLZHAUER, M.; STEINER, A.; CLARKE, J.; CAPION, N.; CHARFEDDINE, N.; PRYCE, J.E.; OAKES, E.; BURGSTALLER, J.; HERINGSTAD, B.; ØDEGÅRD, C.; KOFLER, J. Dermatite Digital. In: ICAR – Atlas de Saúde Podal. Editora: ICAR, Via Savoia 78, Scala A, Int. 3, 00191, Rome, Italy, p.15-17, 2015. Disponível em <https://www.icar.org/index.php/publications-technical-materials/technical-

series-and-proceedings/atlas-claw-health-and-translations/>Acessado 13/03/2012

EVANS, N. J.; MURRAY, R. D.; CARTER, S. D. Bovine digital dermatitis: current concepts from laboratory to farm, **The Veterinary Journal**, v. 211, n.1, p.3-13, 2016.

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

GONÇALVES, J. R. **Determinação de Pb, Cd, Fe, Zn e Cu em carnes de bovinos e Pb, Cd e P em suplementos minerais no Estado de Goiás**. 2007, 132p. Tese Doutorado em Ciência Animal – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

GREENOUGH, P.R. **Bovine Laminitis and Lameness: Claw Trimming, Foot Baths, Restraint, Bandaging, Lifts, and Shoes**. St. Louis: Elsevier Health Sciences, p.170 – 186, 2007.

HASAN, R.; RINK, L.; HAASE, H. Zinc signals in neutrophil granulocytes are required for the formation of neutrophil extracellular traps. **Innate Immunity**. v. 19, n. 3, p. 253–264, 2013.

HOLZHAUER, M., BARTELS, C.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, n. 21, p. 555, 2011.

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, n. 20, p. 500–500, 2017.

KAMILOGLU, A.; DEMIRKAN, I.; BARAN, V. Comparisson of ceftiofur sodium by intravenous region antibiotherapy and local oxitetracycline application for treatment of bovine digital dermatitis. **Kafkas University Veterinery Dergisi**, v.2, n.8, p.107-110, 2002.

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. 2019. ICAR Claw Health Atlas – Appendix 1: Digital Dermatitis Stages (M-stages). Disponível em: http://www.icar.org/Documents/ICAR-Claw-Health-Atlas-Appendix-1-DD-stages-M-stages.pdf.

KYRIAKIDES, T.R.; WULSIN, D.; SKOKOS, E.A.; FLECKMAN, P.; PIRRONE, A.; SHIPLEY, J.M.; SENIOR, R.M.; BORNSTEIN, P. Mice that lack matrix metalloproteinase-9 display delayed wound healing associated with delayed re epithelization and disordered collagen fibrillogenesis. **Matrix Biology**. v. 28, p. 65–73, 2009.

LANSDOWN, A.B.; MIRASTSCHIJSKI, U.; STUBBS, N.; SCANLON, E.; AGREN, M.S. Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects. **Wound Repair and Regeneration**, v. 15, n.1, p. 2-16, 2007

LAVEN, R.A. Efficacy of systemic cefquinome and erythromycin against digital dermatitis in cattle. **Veterinary Record**, v.159, n. 1, p. 19 –20, 2006.

LAVEN, R.A; HUNT, H. Evolution of copper sulphate, formalin and peracetic acid in footbaths for the treatment of digital dermatitis in cattle. **Veterinary Record**, v.151, n. 5, p. 144-146, 2002.

LAVEN, R. A.; LOGUE, D. N. Treatment strategies for digital dermatitis for the UK. **Veterinary Journal**, v. 171, n. 1, 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, n. 18, p. 503 – 506, 2000

LEÃO, M.A. **Aspectos epidemiológicos, evolução clínica e controle da dermatite digital em duas propriedades de exploração leiteira no Estado de Goiás**. 2006. Tese Doutorado em Ciência Animal – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

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, n. 4, p. 1135-1147, 2009.

LI, A.; LU, G.; QI, J.; WU, L.; TIAN, K.; LUO, T.; SHI, Y.; YAN, J.; GAO, G.F. Structural basis of nectin-1 recognition by pseudorabies virus glycoprotein D. **Plos Pathogens**, v.13, n. 5, 2017 e1006314

LOUREIRO, M.G.; RODRIGUES, C.A.; NASCIMENTO, E.S.; ESTEBAN, C. PERRI, S.H.; ANHESINI 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, n.1, p.13-22, 2010.

MANSKE, T., HULTGEEN, J., BERGSTEN, C. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 53, n. 3, p. 215-231, 2002.

MAUCHLE, U.; CARVALHO, A.U.; FILHO, F.A.; FERREIRA, P.M.; FILHO, E.J.F.; CAVALCANTE, M.P. Efeito da sazonalidade sobre a ocorrência de lesões podais em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 9, n. 1, p. 109-116, 2008.

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.

MCBRIDE, W. D.; GREENE, C. Costs of Organic Milk Production on U.S. Dairy Farms. **Review of Agricultural Economics**. v. 31, n. 4, p. 793–813, 2009.

NASCIMENTO, L.M.; GOMES, K.R.O., MASCARENHAS, M.D.M., MIRANDA, C.E.S., ARAÚJO, T.M.E., FROTA, K.M.G. Association between the consumption of antioxidant nutrients with lipid alterations and cardiometabolic risk in adolescents. **Revista de Nutrição**, v. 31, n.2, p 183–197, 2018.

NEVES, S.M.N.; GUEDES, R.M.C. Hibridização in Situ Fluorescente: princípios básicos e perspectivas para o diagnóstico de doenças infecciosas em medicina veterinária. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 4, p. 627-632, 2012,

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

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.

NISHIKAWA, A., TAGUCHI, K. Healing of digital dermatitis after a single treatment with topical oxytetracycline in 89 dairy cows. **The Veterinary Journal**. v.163, n.19, p. 574-576, 2008.

NUFFEL, A. V.; ZWERTVAEGHER, I.; WEYENBERG, S. V.; PASTELL, M.; THORUP, V. M.; BAHR, C.; SONCK, B.; SAEYS, W. Lameness Detection in Dairy Cows: Part 2. Use of Sensors to Automatically Register Changes in Locomotion or Behavior. **Animals**. v. 5, p. 861-885, 2015.

OLIVEIRA, B. P. **Acompanhamento do experimento de tecnologias para um sistema de produção de leite orgânico**. 2013. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Gestão do Agronegócio). Faculdade UnB Planaltina, Universidade de Brasília. 2013.

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, n. 3, p.512-535, 2015.

PARDO, P.E.; NETO, H.B.; CHIACCHIO, S.B.; NAGOSHI, M; PADILHA, P.M. Determinação de zinco da sola do casco de bovinos leiteiros com ou sem lesões podais, suplementados ou não com levedura seca de cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria. v.34, n.5, p.1501-1504, 2004.

PAUDYAL, S., MANRIQUEZ, D., VELASQUEZ, A., SHEARER, J. K., PLUMMER, P. J., MELENDEZ, P., PINEDO, P. J. Efficacy of non-antibiotic treatment options for digital dermatitis on an organic dairy farm. **The Veterinary Journal**, v.255, p.417, 2020.

PAULINO, C. A. Antissépticos e desinfetantes. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNKIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4 ed., São Paulo: Editora Guanabara Koogan S.A. 2006, cap.35, p.440-452.

PECHOVA, A.; PAVLATA, L.; LOKAJOVA, E. Zinc supplementation and somatic cell count in milk of dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**. v.75, n. 3, p. 355 – 361, 2006.

PEIXOTO, P.V.; MALAFAIA, P.; BARBOSA, J.D.; TOKARNIA, C.H. 2005. Princípios sobre suplementação mineral e a sanidade de ruminantes**. Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n.3, p.195-200, 2005.

PHILIPS, N.; SAMUEL, P.; PARAKANDI, H.; GOPAL, S.; SIOMYK, H.; MINISTRO, A.; THOMPSON, T.; BORKOW, G. Beneficial regulation of fibrillar collagens, heat shock protein- 47, elastin fiber components, transforming growth factor-beta1, vascular endothelial growth factor and oxidative stress effects by copper in dermal fibroblasts. **Connective Tissue Research**, v. 53, n. 5, p. 373-378, 2012.

POLEFKA, T.G.; BIANCHINI, R.J.; SHAPIRO, S. Interaction of mineral salts with the skin: a literature survey. **International Journal Cosmetic Science**, v.34, n. 5, p. 416-23, 2012.

REFAAI, W.; DUCATELLE, R.; GELDHOF, P.; BELGACEM, M.; OPSOMER, G. Digital dermatitis in cattle is associated with an excessive innate immune response triggered by the keratinocytes. **BMC Veterinary Research**. v. 3, n. 9, p. 193-199, 2013.

RELUN, A.; GUATTEO, R.; ROUSSEL, P.; BAREILLE, N. 2011. A simple method to score digital dermatitis in dairy cows in the milking parlor. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n.11, p. 5424–5434, 2011.

REZLER, U. **Cobre sérico e enzimas relacionadas ao seu metabolismo em ovinos preparados para exposição e criados a campo na depressão central do estado do Rio Grande do Su**l. 2007. 35 f. Dissertação – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2007

RIBEIRO, M.G. Princípios terapêuticos na mastite em animais de produção e de companhia. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 3.ed. Roca: São Paulo, 2008. p.759-771

RUTZ, F.; MURPHY, R. Minerais orgânicos para aves e suínos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, v.1., 2009, Campinas, SP. Anais ... Campinas: CBNA, p.21-36

Disponível em https://www.avisite.com.br/cet/img/20091103_minerais.pdf

Acessado em 11/03/2020.

SILVA, L. A. F. da; SILVA, L. M. da; ROMANI, A. F.; RABELO, R. E.; FIORAVANTI, M. C. S.; SOUZA, T. M. de; SILVA, C. A. da. Características clínicas e epidemiológicos das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona - GO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 119–126, 2006.

SILVA, L. A. F. da; SILVA, L. M. da; ROMANI, A. F.; RABELO, R. E.; FIORAVANTI, M. C. S.; SOUZA, T. M. de; SILVA, C. A. da. Características clínicas e epidemiológicos das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona - GO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 119–126, 2001

SILVA, L. A. F. D.; FIORAVANTI, M. C. S.; TRINDADE, B. R.; SILVA, O. C. D.; EURIDES, D.; CUNHA, P. H. J. D.; MOURA, M. I. D. Enfermidades digitais em vacas de aptidão leiteira: associação com mastite clínica, metrites e aspectos epidemiológicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n.4, p.217-222, 2004.

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. **The Canadian Veterinary Journal**. v. 46, n. 34, p. 345-348, 2005.

SILVA, L.A.F. Enfermidades digitais em bovinos confinados: uso parenteral do cobre na prevenção. **Veterinária Noticia Uberlândia**, v.12, n. 1, p. 21-28, 2006.

SILVEIRA J. A. S.; ALBERNAZ T. T.; OLIVEIRA C. M. C.; DUARTE M.D.; BARBOSA J. D. Afecções podais em vacas da bacia leiteira de Rondon do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n.11, p. 905–909, 2009.

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: MARCONDES, M. I.; VELOSO, C. M.; GUIMARÃES, J. D.; ANDRADE, F. L.; PRADOS, L. F.; AMORIM, L. S.; FERNANDES, L. S.; MACHADO, M. G.; CARDOSO, W. L. In: **Simpósio nacional de bovinocultura leiteira, 3.; simpósio internacional de bovinocultura leiteira**, 1., Viçosa. Anais... Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, v. 1, 2011 p. 13-43.

SOUZA, R.C.; FERREIRA, P.M.; MOLINA, L.R.; CARVALHO A.U.; FACURY FILHO, E.J. Perdas econômicas ocasionadas pelas enfermidades podais em vacas leiteiras confinadas em sistema *free stall.* **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v.58, n.6, p.982-987, 2006

SOUZA, R.A.; TULIO, L.M.; GAI, V.F. Incidência de lesões podais em bovinos de aptidão leiteira na região oeste do Paraná. **Revista Cultivando o Saber**, p. 194-202, 2015.

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, n. 2, p. 1295-1307, 2017.

SCHULTZ, N.; CAPION, N. Efficacy of salicylic acid for treatment of digital dermatitis in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v.198, n.2, p. 518–523, 2013.

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

SHEARER, J.K.; VAN AMSTEL, S. R. Effect of flooring and/or flooring surfaces on lameness disorders in dairy cattle. **In: WESTERN DAIRY MANAGEMENT CONFERENCE**, Reno, USA, Proceedings. NAHNS. mar. 2007.

Disponível em <https://dairy-cattle.extension.org/effect-of-flooring-and-flooring-surfaces-on-lameness-disorders-in-dairy-cattle/#:~:text=Hard%20flooring%20surfaces%20are%20less,disturbances%20that%20predispose%20to%20lameness.&text=The%20development%20of%20ulcers%20is,predispose%20to%20poor%20cow%20comfort.>

Acesso em 29/09/2020.

SPEARS, J.W.; WEISS, W.P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows**. The Veterinary Journal**. v. 176, n. 1, p. 70-76, 2008.

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, n.3, p. 679–684, 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

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, n. 8, p. 3628–3634, 2010.

TOMLINSON, D. J.; MULLING, C. H.; FAKLER, T. M. Formation of Keratins in the Bovine Claw: Roles of Hormones, Minerals, and Vitamins in Functional Claw Integrity. **Journal of Dairy Science**, v.87, p. 797-809, 2004.

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

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**, v. 231, n. 25, p. 232–235, 1971.

WEBER, J.; RICHTER, S.; FREICK, M. Comparison of the therapeutic efficacy of salicylic acid paste with a polyurethane wound dressing for the treatment of digital dermatitis lesions in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 125, p. 7-13, 2019.

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

ZIGRINO, P.; AYACHI, O.; SCHILD, A.; KALTENBERG, J.; ZAMEK, J.; NISCHT, R.; KOCH, M.; MAUCH, C. Loss of epidermal MMP-14 expression interferes with angiogenesis but not with re-epithelialization. **European Journal of Cell Biology**, v. 91, p. 748–756, 2012.

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: an Open Access Journal from MDPI**, v. 5, n. 3, p. 71, 2015

CAPITULO 2

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo científico a ser submetido ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira versão online ISSN 1678-5150.

Normas em https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo

As figuras e as tabelas estão contidas no meio do texto para melhor compreensão do leitor.

Avaliação do quelato de cobre e zinco na forma de spray no tratamento de vacas acometidas por dermatite digital

Evaluation of copper and zinc chelate in the form of spray in the treatment of cows affected by digital dermatitis

Raymis B. R. Moura[2], Piero H.M. Teodoro[3], Jose R. B. Silva[4], Ana P. A. Mendonça[2], H. Cestari[2], Celso A. Rodrigues[1],

ABSTRACT.: Moura R.B.R., Teodoro P.H.M., Mendonça A.P.A., Silva J.R.B., Cestari H., Rodrigues C.A., 2021. **[Evaluation of copper and zinc chelate in the form of spray in the treatment of cows affected by digital dermatitis]** Avaliação do quelato de cobre e zinco na forma de spray no tratamento de vacas acometidas por dermatite digital. 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

Digital dermatitis (DD) is a foot disease responsible for causing lameness and economic losses in dairy cattle. Treatment includes systemic or topical antibiotic therapy, however, legislation has limited its use, given bacterial resistance and the need to respect the milk withdrawal period. Thus, new antibiotic-free therapies have been studied. The aim of this study was to evaluate the efficacy of copper and zinc chelate in spray form in the treatment of DD lesions. Thirty-nine limbs with DD lesions were used, from 36 dairy cows in a free-stall regime, divided into three groups, being group 1 treated with spray without bandage, group 2 with spray and bandage and group 3 with spray and bandage in the former 3 days. The start of treatment occurred on D0 and then lesions were evaluated on D3 (third day of treatment) and D7 (seventh day of treatment) and D10 (tenth and last day of treatment). The animals were evaluated for locomotion score, and the injuries evaluated by photography in a blinded way by three evaluators. Data were analyzed using the Mann-Whitney, Friedman and Kappa Fleiss (k) tests. The results obtained showed no statistical difference between the groups for the variables analyzed, and both groups showed an improvement in the locomotion score and regression from the active to inactive stage of the lesions. However, at the end of treatment, there were still active lesions in both groups. It is concluded that the proposed 10-day treatment was insufficient for the complete healing of the lesions, with the need to extend the days of application, considering that there was a significant regression of the lesions during the established period. Further long-term testing is needed to assess the effectiveness of copper and zinc chelate in spray form.
INDEX TERMS: digital dermatitis, dairy cows, lameness in cattle, copper and zinc chelate

RESUMO

A dermatite digital (DD) é uma enfermidade podal responsável por provocar claudicação e prejuízos econômicos na bovinocultura leiteira. O tratamento abrange antibioticoterapia por via sistêmica ou tópica, contudo, a legislação tem limitado a utilização, frente a resistência bacteriana e a necessidade de respeitar o período de carência do leite. Assim novas terapias sem antibióticos têm sido estudadas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do quelato de cobre e zinco em forma de spray no tratamento de lesões de DD. Foram utilizados 39 membros com lesões de DD, provenientes de 36

vacas leiteiras em regime *free-stall*, divididos em três grupos, sendo o grupo 1 tratado com spray sem bandagem, grupo 2 com spray e bandagem e grupo 3 com spray e bandagem nos primeiros 3 dias. O início do tratamento ocorreu em D0 e em seguida as lesões foram avaliadas no D3 (terceiro dia de tratamento) e D7 (sétimo dia de tratamento) e D10 (décimo e último dia de tratamento). Os animais foram avaliados quanto ao escore de locomoção, e as lesões avaliadas por fotografia de forma a cegas por três avaliadores. Os dados foram analisados com os testes de Mann-Whitney, Friedman e teste de Kappa Fleiss (k). Os resultados obtidos não apresentavam diferença estatística entres os grupos para as variáveis analisadas, e ambos os grupos apresentaram melhora do escore de locomoção e regressão do estágio ativo para inativo das lesões. No entanto ao final do tratamento ainda existia lesões ativas em ambos os grupos. Conclui-se que o tratamento proposto de 10 dias foi insuficiente para a cicatrização completa das lesões, havendo a necessidade de prorrogar os dias de aplicação, considerando que houve regressão significativa das lesões durante o período estabelecido. São necessários mais testes a longo prazo com o objetivo de avaliar a eficácia do quelato de cobre e zinco na forma de spray.

Palavra-chave: dermatite digital, vacas leiteiras, claudicação em vacas, quelato de cobre e zinco.

[2] Mestrando, Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, UNESP - Botucatu, SP – Brasil;
[3] Médico veterinário consultor nacional, Salmix Indústria e Comércio Ltda, Piedade, SP – Brasil;
[4] Doutorando, Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, UNESP- Botucatu, SP – Brasil;
[5] Professor Doutor, Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, UNESP - Botucatu, Distrito de Rubião Jr., s/n – Caixa Postal 560, Botucatu – SP CEP 18618-970, Brasil. *Autor para correspondência: celso.a.rodrigues@unesp.br;

INTRODUÇÃO

As enfermidades relacionadas ao sistema locomotor, são responsáveis por causarem dor e claudicação e são um dos mais importantes problemas que acometem a espécie bovina, principalmente as raças de aptidão leiteiras, sendo superadas somente pelos problemas reprodutivos e pelas infecções na glândula mamária, implicando assim em prejuízos econômicos significativos as propriedades (Faye & Lescourret 1989, Navarre et al. 1999, Green et al. 2002).

Dentre as afecções podais destaca-se a dermatite digital (DD), é uma enfermidade infectocontagiosa, em sua fase aguda é muito dolorosa e é responsável em causar claudicação em rebanhos leiteiros. A claudicação tem sido considerada um dos maiores problemas relacionados ao bem estar animal nos bovinos (Flower & Weary, 2008, Huxley 2012), as lesões provenientes da DD estão localizadas na margem coronariana no espaço interdigital, entre os talões palmar/plantar ou dorsal (Fajt & Apley 2001, Reffai et al. 2013, Palmer & O'connell 2015). Apresenta caráter endêmico em vários países no mundo e a prevalência pode variar de 9,3% (Cramer et al. 2008) a 83% (Holzhauer et al. 2006). No Brasil á registros de prevalência que variam de 3,8% (Leão et al. 2009) a 30,3% (Souza et al. 2007).

A DD é uma enfermidade de origem multifatorial, tendo diversos envolvidos, como genética, composição da dieta e manejo nutricional, manejo do ambiente e higiene das instalações e casqueamento preventivo (Silva et al. 2001, Nishikawa & Taguchi 2008). É considerada uma enfermidade polimicrobiana, sendo o agente etiológico frequentemente encontrado em lesões as bactérias espiroquetas do gênero *Treponema sp,* outras bactérias também já foram encontradas, dentre elas o *Fusobacterium nechophorum* e *Dichelobacter nodosus.* (Mauchle et al. 2008, Wilson-Welder et al. 2015, Nielsen et al. 2016, Moreira et al. 2018)

O tratamento é realizado com a utilização de antibióticos sistêmicos e/ou tópicos, dentre os mais empregados destaca-se a utilização de oxitetraciclina de longa ação por via sistêmica, na dose de 20 mg/kg ou aplicação por via tópica de 2g a 25g, associada ou não a bandagem, apresentando

resultados satisfatórios (Nicoletti 2004, Loureiro et al. 2010, Cramer et al. 2019). Nas últimas décadas, a utilização de antibióticos tópicos resultou em uma taxa de cura das lesões de 73% e 68% (Berry et al. 2010).

Porém, com a presença de cepas bacterianas resistentes á alguns protocolos terapêuticos com antibióticos, aumento na restrição quanto a presença de resíduos no leite e a necessidade de respeitar o período de carência, fez com que as opções terapêuticas com uso de antibióticos fossem limitadas (Shearer & Hernandez 2000, Kamiloglu et al. 2002, Cramer et al. 2019).

Com isso, formulações livres de antibióticos têm sido estudadas com a finalidade de demonstrar a sua eficácia no tratamento e controle das lesões de DD (Hernandez et al. 1999, Cunha 2000; Manske et al. 2002, Silva et al. 2005). Estudos realizados comprovaram a eficácia na cura de lesões de DD utilizando sulfato de cobre, ácido salicílico e quelato de cobre e zinco (Teixeira et al. 2010; Schultz & Capion 2013, Dotinga 2014).

O objetivo desse estudo foi avaliação o quelato de cobre e zinco na forma de spray, no tratamento de vacas leiteiras acometidas por dermatite digital e mantidas em regime de *free stall*.

MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada foi aprovada (0135/2019) pela Comissão de Ética no uso dos animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, campus Botucatu**.**

Animais utilizados e manejo

Foram utilizadas 36 vacas (32 em período de lactação, duas no pré-parto e duas no período de seco) da raça Holandesa preto e branca, com idade variando de dois anos e meio a oito anos, provenientes de uma única propriedade e mantidas em galpões com ventiladores no sistema de *free-stall,* com pisos de concretos com ranhuras. Os animais estavam divididos em diferentes lotes (cinco lotes) e em diferentes categorias e idades, mantidas sob as mesmas condições de manejo. A dieta dos animais baseou-se no seu nível de produção e exigência nutricional, elaborada por um técnico proveniente da propriedade e consistia em silagem de milho, caroço de algodão, sal mineral à vontade em um cocho separado e ração farelada produzida na propriedade. A água era disponibilizada a vontade em um cocho de cimento.

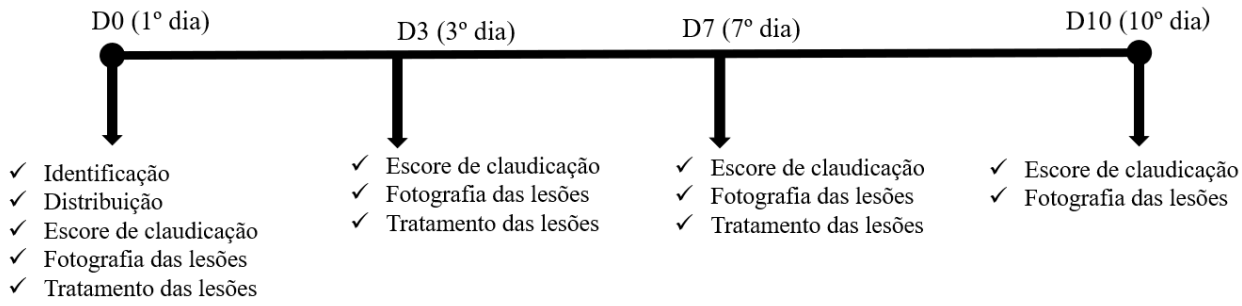
A ordenha era realizada três vezes ao dia, onde os animais ficavam alojados em um lote com piso de borracha e recebiam banho por aspersão prévio. Ao mesmo tempo era realizado a limpeza dos barracões, com remoção dos dejetos com auxílio de tratores com lâminas, seguido do sistema de *flush* com água, a cama dos animais provida de areia não era trocada. A fazenda não realizava medidas preventivas às doenças podais, como pedilúvio e manejo de casqueamento preventivo dos animais.

Delineamento experimental

Foram incluídos 39 membros com lesões agudas de DD, oriundos dos animais selecionados para o tratamento, os membros com lesões foram divididos em três grupos de forma aleatoriamente simples, seguindo a ordem 1, 2 e 3. O grupo 1 (G1) composto por 13 membros apresentando lesões e tratadas com quelato de zinco e cobre em forma de spray sem bandagem, durante todo o tratamento estabelecido. O grupo 2 (G2) contendo 13 membros com lesões tratadas com o mesmo produto, com bandagem utilizando duas ataduras de crepom durante todo o período estabelecido para o tratamento e grupo 3 (G3) por 13 membros tratados, com bandagem utilizando duas ataduras de crepom, apenas nos três primeiros dias.

As lesões foram diagnosticadas a partir da inspeção direta dos membros e exame físico visual macroscópico das lesões da DD em pelo menos um dos membros, para isso os animais foram contidos em um brete de contenção específico para casqueamento em posição quadrupedal. Após a contenção, procedeu-se registro das informações do animal, como: idade, identificação do animal de acordo com a numeração do brinco oriundo da propriedade (ID), categoria, lote e grupo (referente ao tratamento).

As lesões foram identificadas no D0, ou seja, momento da inicial de identificação e início do tratamento, em seguida foram avaliadas no D3 (três dias após D0) e D7 (sete dias após D0) e a última avaliação foi no D10 (dez dias após D0) para todos os indivíduos. Todos os animais foram avaliados quanto ao escore de locomoção e as lesões fotografadas para posterior classificação por um avaliador.



G1 = Grupo sem bandagem; G2 = Grupo com bandagem; G3 = Grupo com bandagem nos 3 primeiros dias

Fig. 1: Fluxograma do delineamento experimental demonstrando os dias de avaliações, momentos e os dias tratamento das lesões dos três grupos.

Variáveis avaliadas

Avaliação clínica do escore de locomoção

Para a avaliação do efeito do tratamento proposto, foi realizado o exame de claudicação determinado pelo escore de locomoção (Sprecher et al. 1997) conforme descrito na Tabela 2. As avaliações do escore de locomoção foram realizadas em quatros momentos (D0, D3, D7e D10) e antes da contenção dos animas no brete.

Tabela 1: Descrição do escore de locomoção utilizada para categorizar a presença e o grau de claudicação em vacas leiteiras. Adaptado de Sprecher (1997)

Escore de locomoção	Descrição clínica	Descrição
1	Locomoção normal	Locomoção normal com o dorso nivelado. Marcha firme e longo.
2	Locomoção irregular	Fica em estação com o dorso plano, mas arqueia quando caminha. Locomoção ligeiramente anormal.
3	Claudicação moderada	Dorso arqueado em estação e quando caminha. Caminha com passos curtos.
4	Claudicação evidente	Dorso arqueado em estação e locomoção. Favorece o apoio em um ou mais membros, consegue apoiar pouco peso neles.
5	Claudicação grave	Dorso fica sempre arqueado. Reluta em se locomover, dificuldade de apoio do peso no membro afetado.

Avaliação e classificação das lesões

Os animais foram mantidos em posição quadrupedal e contidos em brete para casqueamento, onde foi possível realizar a elevação do membro do animal e o exame clínico específico dos dígitos e caracterização macroscópica da lesão (Dirksen 1993). Nesse momento, procedia-se a limpeza dos dígitos com água corrente, com o objetivo de remover as sujidades do casco e garantir melhor visualização da ferida. Após a limpeza, foi realizada a fotografia das lesões e, em seguida, aplicação do quelato de zinco e cobre em forma de spray.

O sistema de pontuação M (Kofler et al. 2019), foi utilizado para avaliar as características morfológicas e macroscópicas das lesões, sendo classificadas de forma a cega por 3 avaliadores experientes, que desconheciam o momento da avaliação. Os avaliadores classificaram as lesões em *M-stages* de acordo com o sistema de pontuação M. As lesões foram categorizadas de acordo com que se apresenta na Tabela 2, em quatros momentos (D0, D3, D7 e D10), sendo que os arquivos digitais continham as imagens fotográficas das lesões, uma ficha de avaliação ilustrando de forma direta todos os estágios do sistema de pontuação M da DD e uma tabela apresentando uma legenda descrevendo os M-*stages.*

Após a classificação dos avaliadores, os estágios M foram categorizados em três estágios (0 = M0; 1 = M3 e M4; 2 = M1, M2 e M4.1). Estes estágios tinham como objetivo classificar as lesões como 0 = lesão inexistente; 1 = lesão inativa e 2 = lesão ativa.

Tabela 2: Sistema utilizado para classificação das lesões de dermatite digital segundo Kofler et al. (2019).

M-stages	**Descrição**
M0	Pele saudável, sem sinais visíveis de lesões de DD.
M1	Estágio inicial da enfermidade, focal, lesão com aspecto cinza-avermelhada, circunscrita e pequena (menos de 2cm de diâmetro), localizada na epiderme da fenda interdigital (plantar ou dorsal) ou ao redor da coroa do casco.
M2	Lesão ulcerativa e aguda, com aspecto vermelho ou cinza-avermelhada, diâmetro superior a 2cm e comumente situada na pele da região interdigital plantar ou dorsal. Os animais apresentam dor quando realizado toque e pressão sobre a ferida, apresentam também odor forte.
M3	Lesão com aspecto cicatricial e indolor ao toque, observa, crosta firme com coloração preta, cinza, verde-azul ou marrom.
M4	Lesão indolor e crônica com vários tamanhos de diâmetro, apresentam característica de hiperqueratose circunscrita ou crescimento proliferativo irregular (verrucoso) com coloração marrom-acinzentado.
M4.1	Lesão crônica com características de M1-stage, se desenvolvendo nas lesões de hiperceratose e/ou proliferativa de M4.



Fig. 2: Imagens fotográficas ilustrativas dos M-stages. (A) = Imagem ilustrativa do M0 (B) = Imagem ilustrativa do M1 (C) = Imagem ilustrativa do M2 (D) = Imagem ilustrativa do M3 (E) = Imagem ilustrativa do M4 e (F) = Imagem ilustrativa do M4.1

Aplicação do produto

O produto comercial utilizado é composto por dois minerais na forma de quelato de cobre e zinco, e já apresenta observações a campo no tratamento de lesões de DD em vacas leiteiras, porém, não existem estudos clínicos que confirmem sua eficácia. Antes da aplicação do produto sobre as lesões, os membros foram higienizados com água, afim de remover as sujidades e melhorar a superfície de contato. Os animais receberam aplicação produto em forma de spray por toda extensão da lesão até recobri-la, mantendo o membro elevado por durante 30 segundos após a aplicação para garantir melhor aderência do produto sobre a lesão. Conforme o protocolo terapêutico do grupo ao qual pertencia o membro, alguns animais tinham seus membros pertencentes a diferentes grupos.

Análise estatística

As analises estatística seguiram o pressuposto de distribuição não normal a partir de determinação gráfica e matemática, utilizando o Q-Q plot de resíduos e o teste de Shapiro-Wilk, respectivamente. 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, ajustado com o teste Dunn para comparações múltiplas, respectivamente. Os resultados estão demonstrados como mediana [Q1 - Q3]. As diferenças foram consideradas quando $P < 0.05$.

A concordância entre os avaliadores em relação ao grau da lesão foi realizada com a porcentagem de concordância seguida pela fórmula [número de concordâncias exatas/número total de observações x 100, PA_0]. Adicionalmente, a concordância real foi avaliada empregando o teste de Kappa Fleiss (k) considerando as diferentes categorias do grau da lesão e o conceito dos seis avaliadores. A concordância real foi interpretada 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. O nível de significância foi considerado quando $P < 0.05$. As análises foram realizadas empregando os pacotes estatísticos SAS versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) e GraphPad Prism versão 8.4.3.

RESULTADOS

Avaliação do escore de locomoção.

Com o intuito avaliar a eficácia dos três protocolos terapêuticos propostos, foi avaliado o escore de locomoção dos animais de ambos os grupos no decorrer dos dias de avaliações propostos. Onde evidenciou claudicação moderada (grau 3) no momento de identificação da lesão e anterior ao tratamento com evolução para locomoção normal dos animais de ambos os grupos no último dia de avaliação.

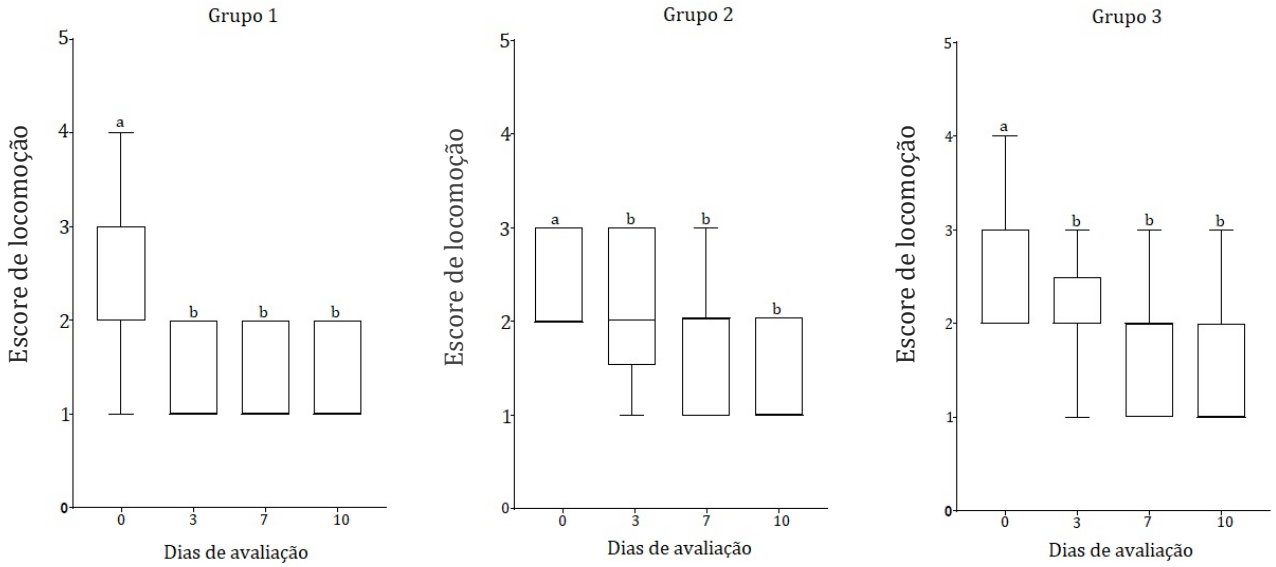


Fig. 3: Resultados da avaliação do escore de locomoção dos três grupos que receberam a aplicação tópica quelato de cobre e zinco em forma de spray. Os box-plot apresentam o percentil 25% e 75% e os valores da mediana (x). [(a-d)] Letras diferentes entre os box-plot indicam diferença estatística (P < 0,05).

Tabela 3: Mediana (1º e 3º quartil) dos escores de locomoção dos grupos que receberam o tratamento em todos os momentos de avaliação

Grupos	D0	D3	D7	D10
G1	3 (2 – 3) [A]	1 (1 – 2) [A]	1 (1 – 2) [A]	1 (1 – 2) [A]
G2	2 (2 – 3) [A]	2 (1,5 – 3) [B]	2 (1 – 2) [A]	1 (1 – 2) [A]
G3	2 (2 – 3) [A]	2 (2 – 2,5) [B]	2 (1 – 2) [A]	1 (1 – 2) [A]

[(A-B)] Letras diferentes entre linhas indicam diferença estatística (P < 0,05)

O teste de Mann-Whitney evidenciou diferença significativa do G1 em comparação aos demais grupos na melhora do escore de locomoção como evidencia na tabela (4), visto que no mesmo houve diferença significativa no D3 do mesmo em comparação a G2 e G3. Contudo, ao final do tratamento em D10, os três grupos apresentaram escore de locomoção grau 1, ou seja, marcha normal.

No teste de Friedman ao comparar os momentos dentro do mesmo grupo evidenciou que o tratamento foi eficaz na melhora da locomoção. Demonstrando diferença significativa de D0 em relação aos demais dias de avaliação do tratamento, como demonstrado na figura 2.

Avaliação da classificação do M-stage da DD

Todas as lesões de todos os grupos e momentos foram classificadas quanto ao sistema de pontuação M pelos avaliadores. Posteriormente, foram categorizados em estágios, estes tinham como objetivo classificar a lesão como 0 = lesão inexistente; 1 = lesão inativa e 2 = lesão ativa. Conforme, demonstrado na Tabela 2.

Tabela 4: Mediana (1º e 3º quartil) referente a classificação dos estágios dos grupos que receberam o tratamento em todos os momentos de avaliação.

Grupos	D0	D3	D7	D10
G1	2 (1 – 2) ^{Aa}	1 (1 – 1) ^{Aa}	1 (1 – 1) ^{Aa}	1 (1 – 1) ^{Aa}
G2	2 (1 – 2) ^{Aa}	1 (1 – 2) ^{Aa}	1 (1 – 2) ^{Aa}	1 (1 – 2) ^{Aa}
G3	2 (1 – 2) ^{Aa}	1 (1 – 2) ^{Aa}	1 (1 – 1,5) ^{Aa}	1 (1 – 1) ^{Aa}

$^{(A-B)}$ Letras diferentes entre colunas indicam diferença estatística (P < 0,05).
$^{(a-b)}$ Letras diferentes entre as linhas indicam diferença estatística (P < 0,05)

O teste de Mann-Whitney ao comparar os diferentes momentos dentro dos diferentes grupos, não evidenciaram diferença significativa em relação aos estágios das lesões. O teste de Friedman não evidenciou diferença significativa ao comparar os momentos dentro do mesmo grupo. Contudo, os estágios das lesões em D0 e D10 diferiram entre si, ou seja, as lesões que se encontraram em estágio ativo em D0 se apresentaram em estágio inativo em D10, sugerindo que o tratamento utilizado nos três grupos conduziu a transição dos estágios das lesões. Apenas uma lesão nos grupos 1 e 2 chegaram ao estágio inexistente.

Tabela 5: Resultado da concordância Inter observador, resultado proveniente das avaliações atribuídas pelos três avaliadores em todos os momentos de todos os grupos.

	Valores da concordância Kappa (95% IC)			
Grupos	D0	D3	D7	D10
G1	- 0,08 (-0,55 – 0,39)	-0,08 (-0,49 – 0,33)	0,28 (-0,23 – 0,79)	0,62 (-0,07 – 1,00)
G2	0,076 (-0,31 – 0,46)	-0,17 (-0,14 – 0,49)	0,13 (-0,38 – 0,64)	0,22 (-0,08 – 0,53)
G3	- 0,04 (-0,66 – 0,57)	0 (-0,37 – 0,36)	-0,06 (-0,39 – 0,27)	0,19 (-0,19 – 0,5)

A concordância medida usando κ foi interpretada como ≤0 = ausente; 0,01 a 0,20 = muito baixo; 0,21 a 0,40 = considerável; 0,41 a 0,60 = moderado; 0,61 a 0,80 = substancial e 0,81 a 1,00 = perfeito (Landis & Koch, 1977).

A concordância Inter observador foi ausente ou muito baixo na maioria dos momentos nos diferentes grupos como demonstrado pelo Teste de Kappa na tabela 6.

Abaixo as imagens de todos os momentos de ambos os grupos de alguns animais que receberam o tratamento com spray de quelato de cobre e zinco.



Fig. 4: Animal com membro tratado no grupo 1 (sem bandagem). (A) Ilustra o D0, momento inicial do tratamento, (B) Ilustra o D3, 3º dia após o início do tratamento, (C) Ilustra o D7, 7º dia de tratamento, (D) Ilustra o D10, 10º dia do tratamento

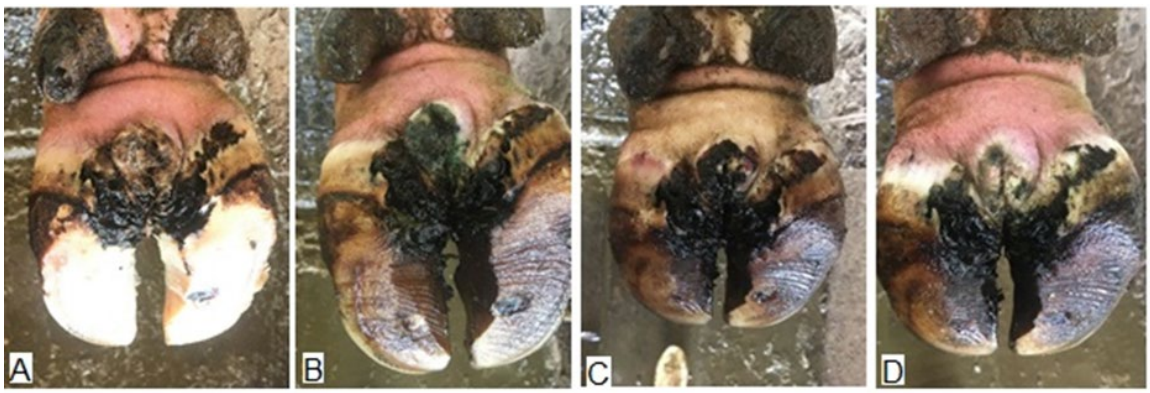


Fig. 5: Animal com membro tratado no grupo 2 (com bandagem). (A) Ilustra o D0, momento inicial do tratamento, (B) Ilustra o D3, 3º dia após o início do tratamento, (C) Ilustra o D7, 7º dia de tratamento, (D) Ilustra o D10, 10º dia do tratamento

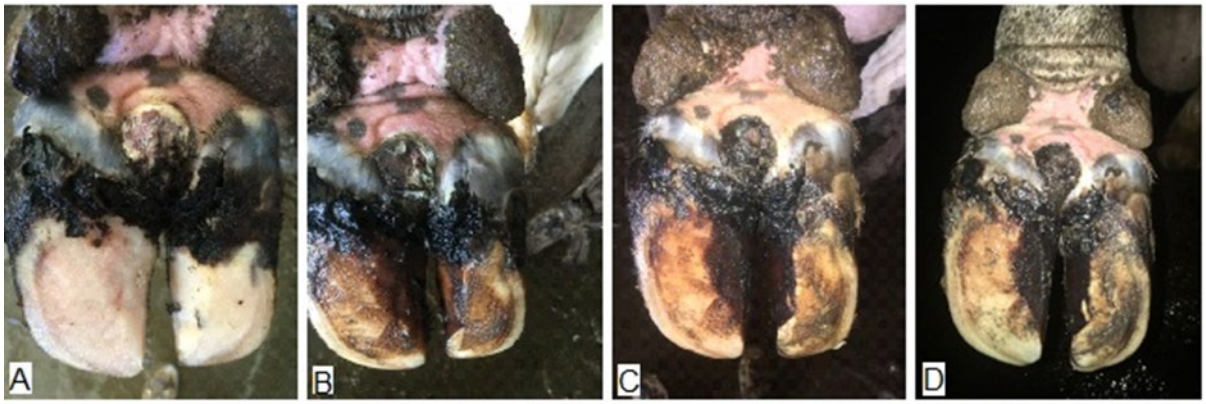


Fig. 6: Animal com membro tratado no grupo 3 (bandagem até 3º dia). (A) Ilustra o D0, momento inicial do tratamento, (B) Imagem ilustra o D3, 3º dia após o início do tratamento, (C) Imagem ilustra o D7, 7º dia de tratamento, (D) Imagem ilustra D10, 10º dia do tratamento

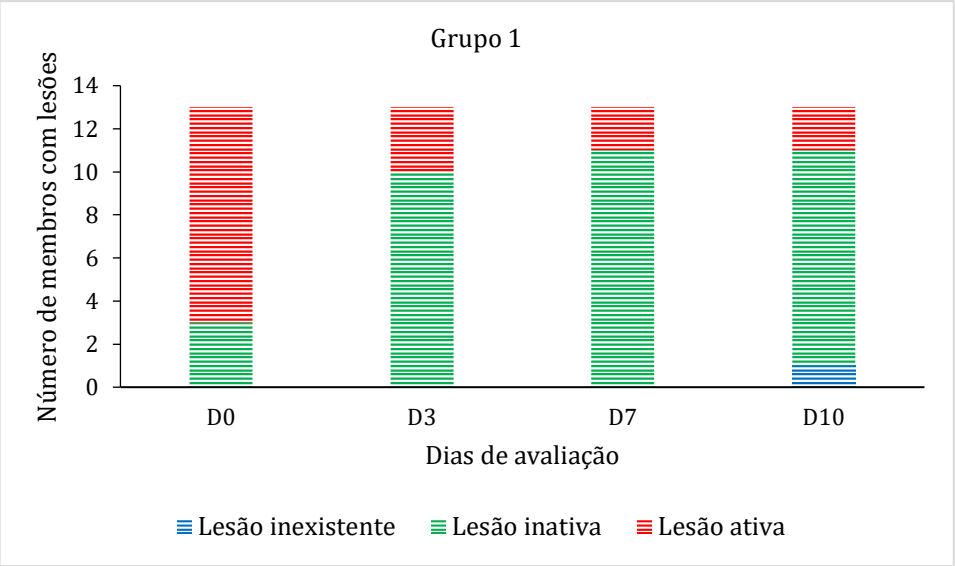


Fig. 7: Evolução clínica das lesões durante os 10 dias de tratamentos do G1. Observação da transição dos estágios (ativo, inativo e inexistente).

O gráfico acima demonstra que no início do tratamento o número (13) de lesões ativas (estágio 2) se apresentavam em maior quantidade, contudo, foram diminuindo no decorrer do tratamento, sendo que no último dia de avaliação prevaleceram maior número (10) de lesões inativas (estágio 1), enquanto as lesões ativas se apresentaram em menor número (2). Um membro apresentou cura completa da lesão (estágio 0).

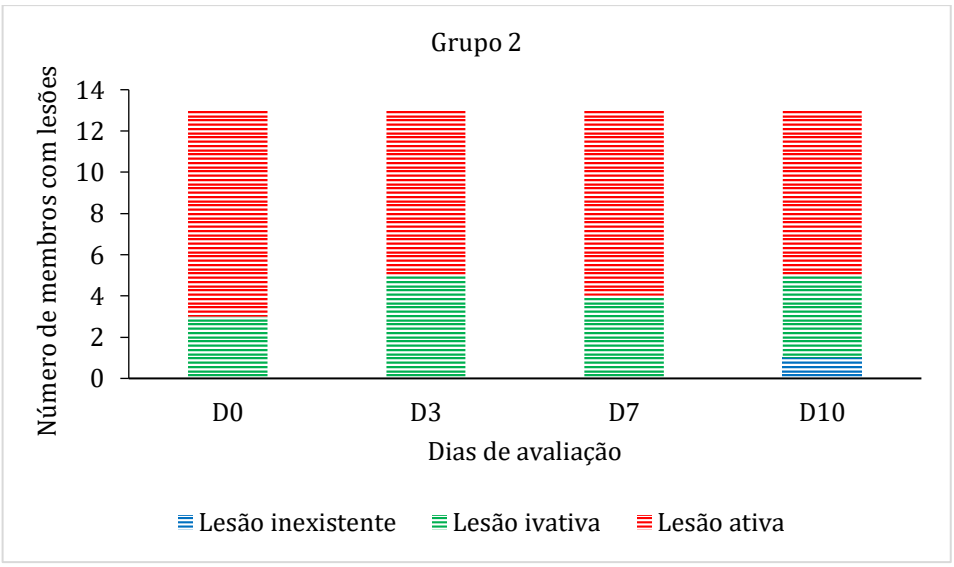


Fig. 8: Evolução clínica das lesões durante os 10 dias de tratamentos do G2. Observação da transição dos estágios (ativo, inativo e inexistente).

O gráfico acima demonstra que no início do tratamento o número (13) de lesões ativas (estágio 2) se apresentavam em maior quantidade e assim prevaleceram ao longo do tratamento, no último dia de avaliação as lesões inativas (estágio 1) se apresentaram em menor número (4) enquanto as lesões ativas se apresentaram em maior número (8). Um membro apresentou cura completa da lesão (estágio 0).

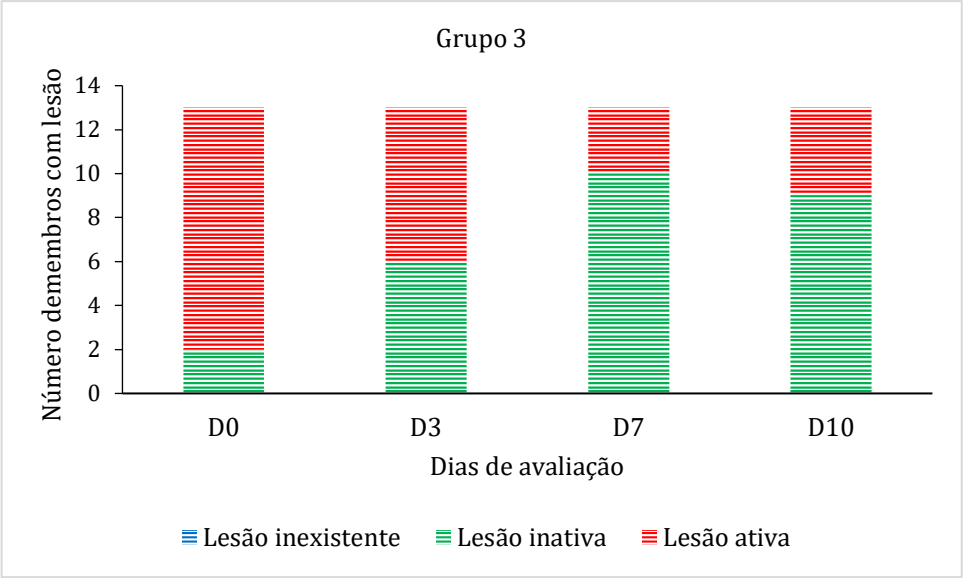


Fig. 9: Evolução clínica das lesões durante os 10 dias de tratamentos do G3. Observação da transição dos estágios (ativo, inativo e inexistente).

O gráfico acima demonstra que no início do tratamento do G3 o número (11) de lesões ativas (estágio 2) eram em maior quantidade e foram diminuindo no decorrer do tratamento, sendo que no último dia de avaliação prevaleceram maior número (9) de lesões inativas (estágio 1), enquanto as lesões ativas se apresentaram em menor número (4) no último momento de avaliação. Um membro apresentou cura completa da lesão (estágio 0).

DISCUSSÃO

A escolha de vacas oriundas da mesma propriedade, mantidas sob as mesmas condições ambientais, submetidas a rotina da fazenda, ordenha e dieta inalteradas proporcionou a homogeneidade dos grupos experimentais. Esta padronização colaborou para a redução do estresse e desconforto causado pelas modificações inerentes ao protocolo experimental proposto (Nicoletti 2004; Loureiro et al. 2010). A utilização de um brete de contenção adequado para o casqueamento, sem a necessidade de contenção química se mostrou eficiente, pois não houve nenhum acidente ou dificuldade durante a coleta dos dados (Desrochers et al. 2001, Loureiro et al. 2007).

Na avaliação da claudicação dos animais, não houve diferença significativa entre os grupos em relação ao escore de locomoção. E observou-se que ao longo do tratamento, ambos os grupos apresentaram menor grau de locomoção, ou seja, os animais apresentaram marcha normal ao final do tratamento como observado na tabela 4. Concluindo que a utilização ou não da bandagem, não influenciou na melhora do escore de locomoção.

Porventura, os animais do G1 mostraram uma evolução mais rápida do escore de locomoção, especialmente a partir de D3. Essa avaliação é corroborada por outros estudos, onde observaram que a utilização da terapia tópica de antissépticos como o sulfato de cobre e zinco, solução de cobre ionizado acidificado e solução de clorito de sódio acidificada, contribuíram para a melhora do escore de locomoção dos animais tratados (Britt et al. 1996, Stevancevic et al. 2009, Klawitter et al. 2019).

A evolução positiva das lesões, indistintamente nos grupos avaliados, mediante a aplicação tópica do quelato de cobre e zinco, baseia-se no princípio que os antissépticos possuem mecanismos que não permitem o desenvolvimento de resistência bacteriana. Sendo que o sulfato de zinco possui ação bactericida, penetrando nas camadas mais profundas do tecido. O cobre é um agente oxidante

com importantes efeitos deletérios sobre os microrganismos, agindo como adstringente, bactericida e fungicida (Stevancevic et al. 2009).

Os resultados obtidos também encontram respaldo em estudos que compararam a eficiência de duas soluções tópica no tratamento de DD, contendo iodo e cobre, sendo que neste caso também resultou em menor porcentagem de animais com claudicação em todos os momentos de acompanhamento do tratamento (Paudyal et al. 2020).

O resultado da concordância Inter observador (Tabela 6) para a pontuação da DD foi ausente na maioria das avaliações. O número de animais utilizados para o estudo junto com curto período de tratamento proposto pode ter influenciado na classificação das lesões dos avaliadores, resultados que se apresentaram diferentes em outros estudos propondo o mesmo método de avaliação de concordância (Solano et al. 2017, Jacobs et al. 2018).

A classificação do sistema de pontuação M-stage é uma avaliação subjetiva, em estudos anteriores que utilizaram o teste Kappa os avaliadores passaram por um treinamento com visualização das lesões ao vivo e em fotografias para posteriormente realizar a classificação das lesões em fotografias (Relun et al. 2012, Solano et al. 2017). No presente estudo os avaliadores não passaram por treinamento e as avaliações das lesões foram realizadas apenas em fotografias, e o foco da imagem junto com a distância focal pode ter influenciado na classificação das lesões pelos avaliadores e influenciou na análise estatística.

As análises visualizadas na Tabela 5 não demostraram superioridade significativa na estatística entre os grupos ao longo do tratamento. Apesar disso, a utilização tópica do quelato de zinco e cobre em forma de spray em associação ou não da bandagem contribuíram para a transição dos estágios ativos das lesões (estágio 2 - M1, M2 e M4.1) para os estágios inativos (estágio 1 - M3 e M4) da dermatite digital. Esse resultado também foi observado por Jacobs et al. (2018), que compararam a eficácia do tratamento tópico da solução de tetraciclina com um produto comercial contendo cobre e zinco, em que o produto demonstrou superioridade na cura clínica de lesões ativas no período de uma semana de tratamento.

Holzhauer et al. (2011) também descreveram a ação do tratamento tópico do quelato de cobre e zinco em gel na cura de lesões M2 (transição para M0) em comparação com spray de clortetraciclina ao final de 28 dias de tratamento. A quantidade de lesões ativas foram diminuindo, mas ao final dos 10 dias de tratamento ambos os grupos apresentaram DD ativa ao analisar a evolução das lesões ao longo do tratamento de todos os grupos nos gráficos 1, 2 e 3. Deve-se considerar que a cura completa da lesão implica na evolução para o estado M0, o que dificilmente ocorre em tratamentos com menos uma semana (Krull et al. 2016).

Outra observação a ser analisada foi que neste estudo considerou-se a transição de lesões ativas (M1, M2 e M4.1) para lesões inativas (M3 e M4). Porém, estudos evidenciaram que lesões em estágios M4 podem regredir para estágios ativo, e a possibilidade de se tornarem M0 é relativamente baixa, quando o tratamento é inferior a 4 semanas (Berry et al. 2012, Weber et al. 2019). Além disso, o estágio M4 é considerado uma lesão crônica da DD com característica de hiperqueratose, o que dificulta a penetrabilidade de substancias dos tratamentos tópicos e tornando difícil a terapia. Outros estudos apontam que as lesões em estágio M4 persistem por mais tempo em relação aos outros estágios e também são fontes de populações de bactérias, contribuindo para a ocorrência de novas lesões ou a recorrência de lesões existentes (Relun et al. 2012, Schultz & Capion 2013, Biemans et al. 2018, Klawitter et al. 2019). O que demonstra a importância no tratamento de lesões consideradas inativas.

No presente estudo, os 10 dias proposto para o tratamento e observação das transições dos M-stages das lesões de ambos os grupos não possibilitou a observação da probabilidade de ocorrer recidivas das lesões, contexto que deve ser avaliado, pois alguns estudos demonstraram que a cura completa de lesões ativas com produtos à base de quelato de cobre e zinco ocorreu em um tempo médio de 28 dias de tratamento (Relun et al. 2012).

Jacobs e colaboradores (2018) evidenciaram que a probabilidade de ocorrer recidivas de lesões tratadas com produto que continha cobre, zinco e aloe vera foi menor após 15 dias de observação. No presente estudo apenas um membro com DD ativa tratado nos grupos G1 e G2 evoluiu para o M0, entretanto, o tamanho das lesões e a utilização da bandagem colaboraram para uma cicatrização mais rápida. Assim, lesões maiores podem ser associadas a maior presença de micro-organismos combinados à etiologia, causando menor taxa de cura (Elliott et al. 2007, Shahabaddin et al. 2007, Nishikawa & Taguchi 2008). Outra observação a ser considerada, foi o agrupamento das lesões ativas (M1, M2 e M4.1), que pode ter contribuído em diluir o efeito do tratamento de um estágio mais susceptível em comparação com um estágio mais resistente, o que aconselha a iniciativa de estudos futuros que focalizem um único estágio (Jacobs et al. 2018).

Observamos que a utilização da bandagem não provocou diferença significativa entre os grupos. Contudo, a utilização da bandagem é comumente utilizada como parte do protocolo terapêutico das enfermidades podais, pois oferece proteção das lesões contra traumas e influencias do meio ambiente, favorecendo a cicatrização (Kamiloglu et al. 2002, Nicoleti 2004). Neste estudo os animais dos grupos G1 e G3 receberam o tratamento sem a bandagem por um período. Assim, pode-se sugerir que as lesões destes grupos demoraram mais para transitar para o estágio inativo, pois por estarem desprotegidas sofreram influencias de fatores externos (Capion et al. 2018). Quando há prevalência de DD no rebanho e má higiene das instalações, pode ocorrer reinfecção das vacas (Capion et al. 2012).

Em nosso estudo o G2 recebeu duas ataduras de crepom nos membros com lesões, com a finalidade de proteger contra fatores externos que poderia prejudicar o processo de cicatrização das lesões, contudo, nos dias de avaliações das lesões e troca das bandagens, as mesmas se apresentavam úmidas, ou seja, as bandagens não protegiam as lesões contra a umidade do ambiente. O gráfico apresentado pela figura 6 demonstra que a quantidade de lesões ativas prevaleceu ao longo do tratamento, sugerindo que mesmo com a utilização da bandagem a presença da umidade possa ter colaborado por aumentar o tempo de transição dos estágios das lesões.

A umidade é uns dos fatores que colaboram para o desenvolvimento da dermatite digital, e estudos já evidenciaram que os fatores ambientais, tais como umidade e má higienização das instalações, dificultam o processo de cicatrização das lesões (Silva et al. 2001, Dotinga 2014).

O tipo de bandagem também influencia no processo de cicatrização das lesões. Estudos já comprovaram que aplicação de uma bandagem reforçada com a utilização de algodão, gaze e atadura, colaboram por aumentar a probabilidade de cicatrização das lesões de DD, pois oferecem melhor proteção da ferida contra fatores externos (Toholj et al. 2012, Klawitter et al. 2019).

Por tanto, torna-se importante conhecer qual o tipo de bandagem a ser utilizada como no tratamento da DD, levando em consideração os fatores ambientais provenientes da propriedade. Do mesmo modo, a utilização de bandagem como parte dos protocolos terapêuticos nas propriedades envolve custos com os matérias, tempo e habilidade no manuseio com o animal e remoção da mesma quando necessário, afim de evitar o surgimento de outras lesões (Anderson & White 2000, Toholj et al. 2012, Klawitter et al. 2019).

As extremidades dos membros foram lavadas somente com água, objetivando a remoção das sujidades (fezes e lama) aderidas, colaborando na melhora da superfície de contato da lesão com o produto. Contudo, sem interferência na assepsia da superfície lesada. A mesma metodologia foi realizada por Jacobs et al. (2018), que observaram que lavar os dígitos apenas com água, melhora a higiene dos pés e melhora a superfície de contato do produto que está sendo aplicado.

O produto na forma de spray de quelato de cobre e zinco, possuiu a ação de ocasionar a transição de lesões da DD. O mesmo também foi evidenciado em outros estudos (Holzhauer et al. 2011, Dotinga 2014). Os microminerais presentes na fórmula, cobre e zinco, são responsáveis em participar e regular parte do processo de cicatrização e regeneração tecidual (Schwartz et al. 2005, Polefka et al. 2012, Lin et al. 2017), e acreditamos que a adição do quelato na formula, contribuiu por

melhorar a biodisponibilidade dos microminerais, e, assim, melhorar a biodisponibilidade e a sua ação sobre a lesão.

Contudo, é preciso que se realizem estudos a fim de averiguar a sua ação a longo prazo (Holzhauer et al. 2011, Relun et al. 2012).

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a aplicação tópica do quelato de cobre e zinco na forma de spray foi eficiente no tratamento de lesões em vacas acometidas por dermatite digital, promovendo a transição dos estágios das lesões e a diminuição do escore de locomoção. A utilização ou não da bandagem não causou diferença no tratamento entre os grupos. Contudo, o período de tratamento proposto não foi o suficiente para ocorrer a cicatrização das lesões, havendo a necessidade de prorrogar o período de tratamento além de 10 dias.

Referências

Anderson D.M & White R.A. 2000. Ischemic bandage injuries: a case series and review of the literature. Vet Surg. 29:488–98.

Berry S.L., Read D.H., Walker R.L. & Famula T.R. 2010. Clinical, histologic, and bacteriologic findings in dairy cows with digital dermatitis (footwarts) one month after topical treatment with lincomycin hydrochloride or oxytetracycline hydrochloride. J. Am. Vet. Med. Assoc. 237(5):555–560

Berry S.L., Read D.H., Famula T.R., Mongini A. & Dopfer D. 2012. Long-term observations on the dynamics of bovine digital dermatitis lesions on a California dairy after topical treatment with lincomycin HCl. Vet. J. 193(3):654-658

Biemans F., Bijma P., Boots N.M. & Jong M.C.M. 2018. Digital dermatitis in dairy cattle: the contribution of different disease classes to transmission. Epidemics. 23:76–84

Britt J.S., Gaska J., Garrett E.F., Konkle D. & Mealy M. 1996. Comparison of topical application of three products for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 209:1134–1136

Capion N., Boye M., Ekstrom C.T. & Jensen T.K. 2012. Infection dynamics of digital dermatitis in first-lactation Holstein cows in an infected herd. J. Dairy Sci. 95(11):6457‑6464.

Capion N., Larsson E.K & Nielsen O.L. 2018. 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. J. Dairy Sci. 101(2):1325–1333.

Cunha PHJ. 2000. Pedilúvio para bovinos: avaliação físico-química, microbiológica e eficácia terapêutica das soluções desinfetantes. Dissertação Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.131p

Cramer G., Lissemore K.D., Guard C.L., Leslie K.E., & Kelton D.F. 2008. Herd-level risk factors for seven different foot lesions in Ontario Holstein cattle housed in tie stalls or free stalls. J. Dairy Sci. 92(4):1404-1411.

Desrochers A., Anderson D.E. & ST-Jean G.2001. Lameness examination in cattle. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract**.** 17 (1): 39-51.

Dirksen, G 1993. Sistema Locomotor. p. 315-340 In: Dirksen; Gründer; Stöber; Rosenberger. Exame Clínico dos Bovinos. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro

Dotinga A.G. 2014. The cure rate of individual chlortetracycline spray treatment on digital dermatitis in dairy cattle. Research project at the Department of Farm Animal Health. Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University.

Elliott M.K., Alt D.P. & Zuerner R.L. 2007. Lesion formation and antibody response induced by papillomatous digital dermatitis- associated spirochetes in a murine abscess model. Infect. Immun. 75:4400–4408.

Fajt V.R. & ApleY M.D. 2001. Antimicrobial issues in bovine lameness. Vet. Clin. North Am. Food anim. Pract. 17(1):159-173.

Faye B. & Lescourret F. 1989. Environmental factors associated with lameness in dairy cattle. Prev. Vet. Med. 7(4):267- 287.

Flower F.C. & Weary D.M. 2008. Gait assessment in dairy cattle. Animal, Cambridge, 3(1):87-95.

Green L.E., Hedges V.J., Schukken Y.H., Blowey R.W. & Packington A.J. 2002. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. J. Dairy Sci. 85(9):2250–2256.

Hernandez J., Shearer J.K. & Elliot J.B. 1999. Comparison of topical application of oxytetracycline and four nonantibiotic solutions for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. J Am Vet Med. 214(5): 688-690.

Holzhauer M., Bartels C.J.M., Van Den Borne B.H.P. & Van Schaik G. 2006. Intra-class correlation attributable to claw trimmers scoring common hind-claw disorders in Dutch dairy herds. Prev. Vet. Med. 75:47–55.

Holzhauer M., Bartels C.J.M, Van Barneveld M., Vulders C. & Lam T. 2011. Curative effect of topical treatment of digital dermatitis with a gel containing activated copper and zinc chelate. Vet Rec. 169(21):555

Huxley J.N. 2012. Lameness in cattle: an ongoing concern. Vet. J. London. 193(3):610-611.

Jacobs C., Orsel K., Mason S. & Barkema H.W. 2018. Comparison of effects of routine topical treatments in the milking parlor on digital dermatitis lesions. J Dairy Sci. 101(6): 5255–5266.

Kamiloglu A., Demirkan I. & Baran V. 2002. Comparisson of ceftiofur sodium by intravenous region antibiotherapy and local oxitetracycline application for treatment of bovine digital dermatitis. Kafkas Uni. Vet. Med. J. 2(8):107-110.

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. 2019. ICAR Claw Health Atlas – Appendix 1: Digital Dermatitis Stages (M-stages). Disponível em: http://www.icar.org/Documents/ICAR-Claw-Health-Atlas-Appendix-1-DD-stages-494 M-stages.pdf.

Klawitter M., Döpfer D., Braden T.B., Amene E. & Mueller K.E. 2019. Randomised clinical trial showing the curative efect of bandaging on M2-stage lesions of digital dermatitis in dairy cows. Vet. Rec. Open. 6(1).

Krull A.C., Shearer J.K., Gorden P.J., Scott H.M. & Plummer P.J. 2016. Digital dermatitis: Natural lesion progression and regression in Holstein dairy cattle over 3 years. J. Dairy Sci. 99(5):3718–3731.

Landis J.R. & Koch G.G. 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 33:159‑174.

Leão M.A., Silva L.A.F., Jayme V.S., Silva L.M., Moura M.I. & Barbosa V.T. 2009. Aspectos epidemiológicos da dermatite digital bovina em duas propriedades produtoras de leite do estado de Goiás, Brasil. Ciênc. Anim. Bras. 10(4):135-1147.

Lin P.H., Sermersheim M., Li H., Phu L., Steinberg S.M. & Ma J. 2017. Zinc in wound healing modulation. Nutrients. 10(1):16-36.

Loureiro MG 2007. Concentrações de oxitetraciclina de longa ação vias sistêmica ou tópicas no leite, líquido sinovial e plasma de vacas acometidas de dermatite digital papilomatosa. 46 f. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 46f

Loureiro M.G., Rodrigues C.A., Nascimento E.S., Esteban C., Perri S.H. & Anhesin C.R. 2010. Comparação entre as administrações tópica e sistêmica de oxitetraciclina no tratamento de vacas com dermatite digital papilomatosa. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 62(1):13-22.

Mauchle U., Carvalho A.U, Alzamora F.F., Ferreira P.M., Filho E.J.F. & Cavalcante M.P. 2008. Efeito da sazonalidade sobre a ocorrência de lesões podais em vacas leiteiras. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. 9(1): 109-116.

Manske T., Hultgeen J. & Bergsten C. 2002. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. Prev. Vet. Med. 53(3): 215-231.

Moreira T.F., Nicolino R.R., de Andrade L.S., Filho E.J.F. & de Carvalho A.U. 2018. Prevalence of lameness and hoof lesions in all year-round grazing cattle in Brazil. Trop. Anim. Health Prod. 50(8):1829-1834.

Navarre C.B., Zhang L., Sunkara G., Duran S.H. & Kompella U.B. 1999. Ceftiofur distribution in plasma and joint fluid following regional limb injection in cattle. J. Vet. Pharmacol. Ther. 22(1):13-19.

Nicoletti, JLM. 2004. Manual de Podologia Bovina, 1. ed. São Paulo: Manole, p. 130

Nishikawa A. & Taguchi K. 2008. Healing of digital dermatitis after a single treatment with topical oxytetracycline in 89 dairy cows. Vet. Rec. 163(19):574–576.

Nielsen M.W., Strube ML., Isbrand A., Al-Medrasi W.D.H.M., Boye M., Jensen T.K. & Klitgaard K.2016. Potential bacterial core species associated with digital dermatitis in cattle herds identified by molecular profiling of interdigital skin samples. Vet. Microbiol. 186:139–149.

Paudyal S., Manriquez D., Velasquez A., Shearer J.K., Plummer P.J., Melendez P. & Pinedo P.J. 2020. Efficacy of non-antibiotic treatment options for digital dermatitis on an organic dairy farm. Vet J. 105: 417.

Palmer M.A. & O'Connell N.E. 2015. Digital Dermatitis in Dairy Cows: A Review of Risk Factors and Potential Sources of Between-Animal Variation in Susceptibility. Animals. 5(3): 512-535.

Polefka T.G., Bianchini R.J. & Shapiro S. 2012. Interaction of mineral salts with the skin: a literature survey. Int. J. Cosmet. Sci. 34(5): 416-423.

Refaai W., Ducatelle R., Geldhof P., Belgacem M. & Opsomer G. 2013. Digital dermatitis in cattle is associated with an excessive innate immune response triggered by the keratinocytes. BMC Vet. Res. 3(9):193-199.

Relun A., Lehebel A., Bareille N., Guatteo R. 2012. Effectiveness of different regimens of a collective topical treatment using a solution of copper and zinc chelates in the cure of digital dermatitis in dairy farms under field conditions. J. Dairy Sci. 95(7):3722–3735.

Silva L.A.F., Silva L.M., Romani A.F., Rabelo R.E., Fioravanti M.C.S., Souza T.M. & Silva C.A. 2001 Características clínicas e epidemiológicos das enfermidades podais em vacas lactantes do município de Orizona-GO. Ciênc. Anim. Bras. 2(2):119 – 126.

Silva L.A.F., Silva C.A, Borges J.R.J., Fioravanti M.C.S., Borges G.T. & Atayde I.B. 2005. A clinical trial to assess the use of sodium hypochlorite and oxytetracycline on the healing of digital dermatitis lesions in cattle. Can. Vet. J. 46(4):345-348.

Solano L., Barkema H.W., Jacobs C. & Orsel K. (2017). Validation of the M-stage scoring system for digital dermatitis on dairy cows in the milking parlor. J. Dairy Sci. 100(2): 1592–1603

Souza R.C., Carvalho A.U., Ferreira, P.M., Facury Filho E.J., Ferreira M.G., Ferreira R.G., Costa C.O., & Neto A.M. 2007. Prevalência e distribuição de lesões digitais em vacas leiteiras nas regiões de Belo Horizonte e Pedro Leopoldo. Cienc. Anim. Bras. Goiânia. 8(4):823-831.

Shahabaddin M., Nowrouzian I., Nouri M. & Javad S.M.K.S. 2007. Clinical assessment of four individual treatment for digital dermatitis in dairy cows. Iran. J. Vet. Surg. 2(4):56–61

Schwartz J.R., Marsh R.G. & Draelos Z.D. 2005. Zinc and skin health: overview of physiology and pharmacology. Dermatol. Surg. 31: 837-847

Schultz N. & Capion N. 2013. Efficacy of salicylic acid in the treatment of digital dermatitis in dairy cattle, Vet. J. 198(2):518-523.

Stevančević M., Toholj B., Lako B., Potkonjak B. & Kuljača V. 2009. Study on the effectiveness of topical application of antiseptics in the therapy of digital dermatitis in dairy cattle. Acta Veterinaria Brno. 59(4):437-446

Sprecher D.J., Hostetler D.E. & Kaneene J.B. 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. Theriogenology. 47(6):1179-1187.

Teixeira A.G.V., Machado V.S., Caixeta L.S., Pereira R.V. & Bicalho, R.C. 2010. Efficacy of formalin, copper sulfate, and a commercial footbath product in the control of digital dermatitis. J. Dairy Sci. 93:3628–3634.

Toholj B., Stevancevic M., Kos J., Smolec O., Potkonjak A., Cincovic M., Belic B., Ivetic V., Spasojevic J. & Stevancevic O. 2012. Efficiency of different therapeutic protocols in treating digital dermatitis in dairy cows. Veterinarski Arhiv. 82(2):133–142

Weber J., Richter S. & Freick M. 2019. Comparison of the therapeutic efficacy of salicylic acid paste with a polyurethane wound dressing for the treatment of digital dermatitis lesions in dairy cows. Res Vet Sci. 125:7-13

Wilson-Welder J.H., Alt D. & Nally J. 2015. The etiology of digital dermatitis in ruminants: recent perspectives. Vet. Med. Res. Rep. 6:155-164.