

**Resultados:** A forma de colheita das amostras, o seu acondicionamento e transporte e o seu registro facilitam o processamento *a posteriori* no laboratório. Observou-se que das 48 amostras colhidas, todas amplificaram para o primer Universal 16S e *Treponema spp.*, 46 amostras amplificaram para o grupo específico *Treponema medium / Treponema vincentii like*. Não houve diferenças entre os meios de colheita e de transporte utilizados, contudo houve diferença na forma de armazenamento, no qual 24 amostras foram acondicionadas a fresco e 24 amostras em PBS. Das 24 amostras acondicionadas em PBS, duas não obtiveram o seu DNA expressado em gel de agarose, sendo que estas mesmas amostras acondicionadas a fresco obtiveram o seu DNA expressado em gel de agarose.

**Conclusão:** A obtenção criteriosa de amostras a campo aumenta a eficiência das análises em laboratório também nas lesões contaminadas do locomotor distal bovino.

Devido ao pequeno número de lesões analisadas, ainda não é possível informar a melhor maneira de acondicionar e transportar amostras de dermatite digital, porém tanto a manutenção em meio de PBS quanto a fresco permitiram a amplificação do genoma bacteriano até o presente momento. Palavras chave: Casco bovino, amostras de campo, espiroquetas.

### 23. TERAPIA FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE ÚLCERA DE PINÇA EM BOVINOS.

SELLERA, F.P.; GARGANO, R.G.; SOUZA, A.S.L.; AZEDO, M.R.; BENESI, F.J.; POGLIANI, F.C.

**INTRODUÇÃO:** As enfermidades podais estão entre as afecções que mais causam prejuízo na bovinocultura leiteira. Dentre as lesões, a úlcera de pinça vem se tornando cada vez mais frequente, provavelmente relacionada à ocorrência de laminite inaparente nos rebanhos do país. A literatura demonstra resultados com tratamento utilizando antibiótico tópico e sistêmico, porém com perdas econômicas por causa do descarte dos produtos de origem animal. A Terapia Fotodinâmica (TFD) consiste na associação de luz de comprimento de onda específico, fotossensibilizador (Fs) e oxigênio molecular. Essa interação promove o surgimento de espécies reativas de oxigênio que destroem bactérias e aceleram a reparação tecidual

**RELATO DE CASO:** Foram atendidos na Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes (FMVZ-USP), dois bovinos, fêmeas, adultas, SRD, apresentando úlcera de pinça, aumento de temperatura local, sensibilidade à palpação e claudicação em membros pélvicos. Após o diagnóstico, foi instituído o tratamento com TFD aplicando-se sobre as lesões o Fs azul de metileno (concentração de 300µM), seguido por irradiação com laser de diodo de 660nm (DMC, Ltda, São Carlos/SP), com energia igual a 8 J/ponto irradiado. Após a aplicação de TFD as lesões eram cobertas com bandagens protetoras, sem antibiótico local e sistêmico associados.

**RESULTADOS:** O tempo médio de resolução da enfermidade foi de um mês (oito aplicações) com frequência de duas aplicações/semana.

**DISCUSSÃO:** A associação de lasers de baixa intensidade e o Fs determina a destruição seletiva de microrganismos, promove aceleração da reparação tecidual, migração de fibroblastos e angiogênese, acelerando o processo cicatricial e sem efeito residual.

A revisão de literatura realizada confirma que a úlcera de pinça é uma doença podal de alta incidência na clínica médica de bovinos e reforça a importância do estudo de novas técnicas para seu tratamento.

**CONCLUSÃO:** A TFD se mostrou um tratamento eficiente e de baixo custo para úlcera de pinça em bovinos. Não existem trabalhos na literatura correlacionando a TFD e esta enfermidade, tornando esse relato pioneiro. Mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos envolvendo a TFD e a úlcera de pinça em bovinos.

### 24. PRODUÇÃO DE IFN- (INTERFERON GAMA) PELAS CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE DE BEZERROS RECÉM-NASCIDOS ESTIMULADOS COM O VÍRUS DA DIARREIA VIRAL BOVINA (VDVB).

BACCILI, C. C.; SILVA, C. P. C.; BALDACIM, V.A.P.; NOVO, S. M. F.; VASCONCELLOS, G. S. F. M.; POZZI, C.R.; PITUCO, M.; GOMES, V.

O desenvolvimento dos órgãos linfóides primários e secundários de fetos da espécie bovina se completa com 175 dias de gestação, no entanto, seu crescimento ocorre em ambiente uterino estéril e impermeável, que dificulta o amadurecimento da sua resposta imune específica, que é dependente da exposição aos patógenos. Acredita-se que os altos níveis de progesterona, prostaglandina E<sub>2</sub>, IL-4 e IL-10 produzidas pela placenta bovina promovem resposta imune no bezerro pré-termo predominantemente do tipo TH<sub>2</sub>, envolvidas com a ativação de linhagens de células B e produção de anticorpos, direcionadas à defesa contra microorganismos extracelulares. Desta forma, a resposta celular do tipo TH<sub>1</sub>, responsável pela imunidade específica para agentes virais estaria suprimida. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a resposta imune TH<sub>1</sub> pela mensuração de IFN- $\gamma$  interferon gama produzidos pelas células mononucleares do sangue de bezerros recém-nascidos estimulados com o VDVB estirpe NADL. Foram selecionados 03 bezerros recém-nascidos, que receberam 6L de colostro, provenientes de mães vacinadas com vacina comercial contendo as estirpes 5960 e 53637 do VDVB. Foram colhidas amostras de sangue dos bezerros (40mL) em tubos contendo heparina, nos seguintes momentos: 15 dias (T<sub>0</sub>) e 40 dias (T<sub>1</sub>) após o nascimento. Realizou-se a separação das células mononucleares por gradiente de densidade usando Ficoll-paque 1.077 (GE). As células foram lavadas duas vezes em solução salina tamponada (PBS) por meio de centrifugação refrigerada. Em seguida, o "pellet" celular foi ressuspenso em 1mL de meio de cultivo celular RPMI suplementado. A concentração celular foi obtida pelo teste de exclusão do azul de Trypan e ajustada para 5x10<sup>6</sup>/mL. Foram distribuídos 200 microlitros da suspensão celular (1x10<sup>6</sup> células) em placas de cultivo celular na ausência e presença do vírus, usando as seguintes doses virais: TCID<sub>50</sub> 10<sup>-5</sup>/mL; TCID<sub>50</sub> 10<sup>-6</sup>/mL, TCID<sub>50</sub> 10<sup>-7</sup>/mL, TCID<sub>50</sub> 10<sup>-8</sup>/mL. As placas foram cultivadas por quatro dias a 37°C em estufa de CO<sub>2</sub>. Após a incubação, o conteúdo das placas foi aspirado para a determinação da produção de IFN- $\gamma$  por meio de imunoenzimático qualitativo (Bovine IFN-  $\gamma$  EASIA, Invitrogen®). Foi possível verificar a produção de IFN- $\gamma$  na ausência e presença do estímulo viral em 2/3 bezerros, usando as doses TCID<sub>50</sub> 10<sup>-5</sup>/mL; TCID<sub>50</sub> 10<sup>-6</sup>/mL, TCID<sub>50</sub> 10<sup>-8</sup>/mL. No entanto, apenas 1/3 dos animais responderam a dose TCID<sub>50</sub> 10<sup>-7</sup>/mL. Desta forma pode-se concluir que os leucócitos mononucleares ao sangue de bezerros recém-nascidos são capazes de produzir citocina IFN-  $\gamma$ , mesmo na ausência da estimulação viral.