

A infecção pelos *Alphaherpesvirus bovinos 1 e 5* e a indução de imunidade de mucosa

Infection by *bovine Alphaherpesvirus 1 and 5* and the induction of mucosal immunity

Infección por *Alphaherpesvirus bovinos 1 y 5* e inducción de inmunidad mucosa

Recebido: 01/04/2022 | Revisado: 08/04/2022 | Aceito: 11/04/2022 | Publicado: 16/04/2022

Nadálín Yandra Botton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7259-7710>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: nadalinyb@gmail.com

Carla Patrícia de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5329-7894>
Universidade de Passo Fundo, Brasil
E-mail: 182113@upf.br

Cristina Mendes Peter

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7879-3299>
Universidade do Estado de Oklahoma, Estados Unidos
E-mail: cristina_peter@hotmail.com

Lariane da Silva Barcelos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9235-9931>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: larianebarcelos@gmail.com

Leonardo Clasen Ribeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9031-8386>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: leoardo.clasen@gmail.com

Matheus Iuri Frühauf

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8786-5933>
Universidade Federal de Pelotas
E-mail: matheus.fruhauf@outlook.com

Paulo Ricardo Centeno Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2346-6981>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: priccenteno@hotmail.com

Silvia de Oliveira Hübner

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0482-9599>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: silviaohubner@gmail.com

Marcelo de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3102-1659>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: mdelima.ufpel@gmail.com

Geferson Fischer

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3521-395X>
Universidade Federal de Pelotas, Brasil
E-mail: geferson.fischer@gmail.com

Resumo

O sistema imune presente nas mucosas representa a barreira inicial frente à infecção por diversos patógenos que utilizam estas superfícies como porta de entrada no organismo hospedeiro, como é o caso dos Alphaherpesvirus bovino 1 (BoHV-1) e Alphaherpesvirus bovino 5 (BoHV-5). Estes vírus infectam os sistemas reprodutivo e respiratório de bovinos e são responsáveis por casos de Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, Vulvovaginite Pustular Infecciosa e Balanopostite Pustular Infecciosa, assim como Meningoencefalite Herpética Bovina, respectivamente. A infecção pelos BoHVs ocorre nas cavidades revestidas por células epiteliais de mucosa, principalmente nasal e genital, sendo o ponto inicial de replicação, seguindo-se a disseminação local, viremia eventual e disseminação neuronal, até o estabelecimento da latência. A cooperação dos mecanismos de defesa confere proteção através do sistema integrado de mucosas por meio da ativação dos sítios efetores e especialmente produção de diferentes isotipos de imunoglobulinas, como a SIgA, realiza neutralização nas superfícies mucosas, e a IgG, que desempenha neutralização na mucosa e sistemicamente. A indução da imunidade nas superfícies mucosas através do uso de vacinas torna-se de extrema importância para a prevenção da adsorção do vírus à célula e infecção pelos microrganismos patogênicos e depende, especialmente, do imunógeno, via de imunização e substância adjuvante empregada nas formulações. Esta revisão teve como objetivo abordar os principais aspectos relacionados à infecção pelo BoHV-1 e BoHV-5, assim como os tipos de resposta relacionadas ao sistema imune de mucosas frente a estes

vírus e, ainda, estudos relacionados à utilização das vias mucosas para administração de vacinas em diferentes espécies animais.

Palavras-chave: Superfície mucosa; Infecção viral; Vacinação; Ensino em saúde.

Abstract

The immune system present in the mucosa represents the initial barrier against infection by several pathogens that use these surfaces as a gateway to the host organism, such as the case of bovine Alphaherpesvirus 1 (BoHV-1) and bovine Alphaherpesvirus 5 (BoHV-5). These viruses infect the reproductive and respiratory systems of cattle and are responsible for cases of Infectious Bovine Rhinotracheitis, Infectious Pustular Vulvovaginitis and Infectious Pustular Balanopostitis, as well as Bovine Herpetic Meningoencephalitis, respectively. Infection by BoHVs occurs in cavities lined with mucosal epithelial cells, mainly nasal and genital, being the initial point of replication, followed by local dissemination, eventual viremia and neuronal dissemination, until latency is established. The cooperation of defense mechanisms provides protection through the integrated mucosal system through the activation of effector sites and especially the production of different isotopes of immunoglobulins, such as SIgA, which neutralizes mucosal surfaces, and IgG, which plays a neutralization in the mucosa and systemically. The induction of immunity on mucosal surfaces through the use of vaccines is extremely important for the prevention of virus adsorption to the cell and infection by pathogenic microorganisms and depends, especially, on the immunogen, immunization route and adjuvant substance used in the formulations. This review aimed to address the main aspects related to infection by BoHV-1 and BoHV-5, as well as the types of response related to the mucosal immune system against these viruses, and also studies related to the use of the mucosal pathways for administration of vaccines in different animal species.

Keywords: Mucosal surface; Viral infection; Vaccination; Health teaching.

Resumen

El sistema inmunológico presente en la mucosa representa la barrera inicial contra la infección por varios patógenos que utilizan estas superficies como puerta de entrada al organismo huésped, como es el caso del Alphaherpesvirus 1 bovino (BoHV-1) y el Alphaherpesvirus 5 bovino (BoHV-5). Estos virus infectan los sistemas reproductivo y respiratorio del ganado y son responsables de casos de rinotraqueítis infecciosa bovina, vulvovaginitis pustulosa infecciosa y balanopostitis pustulosa infecciosa, así como meningoencefalitis herpética bovina, respectivamente. La infección por BoHVs ocurre en cavidades revestidas por células epiteliales mucosas, principalmente nasales y genitales, siendo el punto de partida de la replicación, seguida de diseminación local, eventual viremia y diseminación neuronal, hasta que se establece la latencia. La cooperación de los mecanismos de defensa brinda protección a través del sistema mucoso integrado a través de la activación de sitios efectores y especialmente la producción de diferentes isotipos de inmunoglobulinas, como SIgA, que neutraliza las superficies mucosas, e IgG, que juega neutralización en la mucosa y sistémicamente. La inducción de inmunidad en las superficies mucosas mediante el uso de vacunas es extremadamente importante para la prevención de la adsorción de virus a la célula y la infección por microorganismos patógenos y depende, especialmente, del inmunógeno, vía de inmunización y sustancia adyuvante utilizada en las formulaciones. Esta revisión tuvo como objetivo abordar los principales aspectos relacionados con la infección por BoHV-1 y BoHV-5, así como los tipos de respuesta relacionados con el sistema inmunológico de la mucosa frente a estos virus, y también los estudios relacionados con el uso de las vías mucosas de administración de vacunas en diferentes especies animales.

Palabras clave: Superficie mucosa; Infección viral; Vacunación; Enseñanza em la salud.

1. Introdução

O aumento da demanda mundial por alimentos impulsionou o vigoroso desenvolvimento que o setor agropecuário tem experimentado nos últimos anos (Allim, 2019). O Brasil possui o maior rebanho bovino do mundo, com cerca de 217 milhões de cabeças (Embrapa, 2021), e a produção de bovinos pode aumentar através, especialmente, do controle de doenças reprodutivas nas propriedades.

Um dos principais patógenos responsáveis por causar transtornos reprodutivos nos bovinos é o Alphaherpesvirus bovino 1 (Bovine alphaherpesvirus 1 – BoHV-1), agente responsável pela Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e por casos de Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV) em fêmeas e Balanopostite Pustular Infecciosa (IPB) em machos. Da mesma família Herpesviridae, o Alphaherpesvírus bovino 5 (Bovine alphaherpesvirus 5 – BoHV-5) está relacionado à Meningoencefalite Herpética Bovina, também responsável por grandes prejuízos econômicos na criação de bovinos, uma vez que causa altos índices de mortalidade (Oliveira et al., 2015). A infecção por estes vírus ocorre através das cavidades mucosas que são revestidas por células epiteliais, onde ocorre o início do processo de replicação viral (Van Engelenburg et al., 1993),

seguida pela disseminação local, viremia eventual e disseminação neuronal, onde persistem no núcleo das células nervosas pelo resto da vida do animal. Este mecanismo é denominado de latência e é através dele que o genoma viral pode ser reativado no organismo em situações que acarretaram imunossupressão, voltando a ocorrer a replicação e, conseqüentemente, a disseminação viral (Araújo, 2014; Engels & Ackermann, 1996).

Os mecanismos mais eficientes para evitar a entrada destes Alphaherpesvírus no organismo animal estão relacionados com a imunidade local das superfícies mucosas, que conta com a cooperação de mecanismos inatos e específicos para a efetiva proteção (Hannant, 2002). A necessidade de ativação dos sítios indutores, especialmente para a secreção de imunoglobulina A secretora (SIgA), que atua na neutralização dos agentes patogênicos nas superfícies mucosas (Campos, et al., 2011) e de imunoglobulina G (IgG), que desempenha função, também na neutralização, na mucosa e sistemicamente (Cunha Neto, 2016) tem despertado o interesse em pesquisas que visam a indução vacinal de imunidade nas vias mucosas.

O objetivo desta revisão foi abordar os principais aspectos relacionados à infecção pelo BoHV-1 e BoHV-5, assim como os tipos de respostas relacionadas ao sistema imune de mucosas frente a estes vírus e, ainda, estudos relacionados à utilização das vias mucosas para administração de vacinas em diferentes espécies animais.

2. Metodologia

Essa revisão de literatura se caracteriza como integrativa, com análise narrativa (Mariano & Santos, 2017).

Para a condução do estudo fez-se uso do banco de dados “Google acadêmico” executando buscas na aba “pesquisas avançadas” com as seguintes palavras-chave: “*alphaherpesvirus bovino*”, “imunidade contra vírus”, “imunidade de mucosa bovina”, “vacinação animal” e “vacinas de mucosa”.

Como critérios de inclusão, definiu-se que os estudos deveriam encontrar-se nos idiomas português, inglês ou espanhol e tratar sobre imunidade de mucosa contra vírus e/ou alphaherpesvirus bovinos. Como critérios de exclusão, estabeleceu-se que os trabalhos sem a metodologia concreta seriam excluídos, assim como estudos sem acesso gratuito. Não foi estabelecido um recorte temporal para a pesquisa.

3. Caracterização dos Agentes Etiológicos

O BoHV-1 e o BoHV-5 são classificados como pertencentes à ordem Herpesvirales, família Herpesviridae, subfamília Alphaherpesvirinae e gênero Varicellovirus (ICTV, 2020). A subfamília Alphaherpesvirinae compreende grande parte dos herpesvírus de interesse veterinário, como o vírus da Doença de Aujeszky (Suid alphaherpesvirus 1 - SuHV-1), Rinopneumonite Viral Equina (Equine herpesvirus 4 - EHV-4), Doença de Marek (Gallid herpesvirus 2 e 3 - GaHV-2 e 3), Rinotraqueíte Viral dos Felinos (Feline herpesvirus 1 - FeHV-1), entre outros (ICTV, 2020). A classificação destas espécies virais dentro da subfamília em questão é dependente de características relacionadas à gama variável de hospedeiros, ciclo replicativo curto, rápida destruição de cultivos celulares, capacidade de invasão neuronal e estabelecimento de infecções latentes em gânglios nervosos sensoriais e autonômicos (Araújo, 2014; Novaes, 2014), além de índice evolutivo superior na sequência de proteínas virais em comparação ao índice de genes nucleares de mamíferos (Thiry et al., 2007).

Os alphaherpesvírus possuem como material genético uma molécula de DNA de fita dupla (double strand DNA - dsDNA) linear (Petrini et al., 2019), com cerca de 137 a 140 kilo pares de bases (kbp), e mais de setenta genes (Crespo et al., 2016) que codificam as proteínas estruturais e as não estruturais, responsáveis pelo arranjo estrutural da partícula vírica e adsorção, replicação e egresso do vírus da célula hospedeira, respectivamente (Cerqueira et al., 2000). O genoma é envolto por um capsídeo icosaédrico, composto por cinco proteínas conservadas que apresentam funções específicas de manutenção da sua estrutura (Zajac et al., 2010). O capsídeo é recoberto pelo tegumento, que se caracteriza como uma camada proteica amorfa composta por oito proteínas, dentre as quais a VP16 e a VHS, que estão envolvidas na replicação viral e ativação dos genes

alfa (primeiros genes a serem transcritos na cinética de expressão gênica, seguido pelos genes beta e gama), e na supressão da síntese proteica celular, respectivamente (Fenner et al., 2014).

O envelope dos alphaherpesvirus é originado de seções de membranas celulares alteradas da célula hospedeira (Paim, 2017), incorporado no retículo endoplasmático, e através da passagem da partícula viral pelo Complexo de Golgi (Favoreel, 2006). Na sua superfície podem ser observadas protruções de glicoproteínas que atuam na ligação a receptores celulares, fusão, penetração e transporte das partículas virais entre células, além de mediar interações do vírus com o sistema imunológico do hospedeiro e se constituírem alvos de anticorpos neutralizantes (Antello, 2014). O genoma do BoHV-1 e BoHV-5 codifica de 10 a 12 glicoproteínas (g) de envelope (Schwyzer & Ackermann, 1996), dentre as quais gB, gC, gD, gE, gF, gG, gH, gI, gK, gL, gM, que são indispensáveis para a replicação do vírus em cultivo celular e, provavelmente, para a sua sobrevivência na natureza (Schröder & Keil, 1999).

A característica mais marcante entre os vírus que constituem a família Herpesviridae é a capacidade de estabelecer infecções latentes em seus hospedeiros (Van Engelenburg et al., 1993). Os nucleocapsídeos dos alphaherpesvirus, após replicação primária nas células epiteliais das mucosas, são transportados através do fluxo axoplasmático retrógrado, onde atingem os corpos neuronais, ocorrendo a supressão precoce dos genes alfa, que são essenciais para as etapas seguintes de expressão gênica e replicação do genoma (Engels & Ackermann, 1996). Isso ocasiona a interrupção do ciclo lítico, resultando na persistência do genoma viral, na forma episomal, no núcleo dos neurônios pelo resto da vida do animal (Vieira et al., 2003). Durante a infecção latente não ocorre expressão gênica significativa, replicação do genoma ou produção da progênie viral infecciosa, e o único transcrito viral encontrado nos neurônios infectados é denominado de transcrito associado à latência (latency associated transcript – LAT/LTR) (Fenner et al., 2014). Em situações de estresse e/ou imunossupressão, ocasionados por transporte, parto, desmame, carências nutricionais graves, manejo de descorno, vacinação ou excesso de trabalho, por exemplo, a infecção em estado latente pode ser reativada (Ackermann et al., 1982; Novaes, 2014; Roizman 2001), acarretando na retomada do ciclo lítico nos neurônios do hospedeiro e produção de progênie viral infecciosa. Os vírions produzidos são transportados pelas mesmas vias nervosas até o sítio de infecção primária, onde o vírus replica produtivamente e é eliminado através das excreções (Masri et al., 1996).

Na reativação de infecções latentes, a excreção viral ocorre por um período de cerca de cinco dias e em títulos menores em comparação àqueles secretados durante a infecção aguda, representando uma forma de perpetuação do vírus na natureza e tornando o animal infectado um potencial fonte de contaminação para outros animais (Viu et al., 2014). A latência é estabelecida, geralmente, nos gânglios que enervam a região onde ocorreu a infecção primária, sendo descritos gânglios sensoriais e autonômicos, neurônios sensoriais do gânglio trigêmeo em infecções respiratórias ou orais, gânglios sacrais em infecções genitais, e ainda, locais no sistema nervoso central (SNC) e periférico, além de tonsilas e linfócitos circulantes (Mayer-Winkelmann, 2005).

Inicialmente, o BoHV-1 foi subdividido em três subgenótipos (Flores, 2017) devido à diversidade de suas propriedades biológicas, antigênicas e moleculares, e por apresentar homologia entre as sequências de nucleotídeos de cerca de 85 a 90% (Delhon et al., 2003; Henzel et al., 2019). O BoHV-1.1 foi associado às amostras “clássicas” de Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), enquanto o BoHV-1.2 foi associado às amostras que causavam Vulvovaginite Pustular Infecciosa (IPV) em fêmeas e Balanopostite Pustular Infecciosa (IPB) em machos, enquanto que o BoHV-1.3 foi associado às amostras que causavam Meningoencefalite Herpética Bovina ou Meningoencefalite. O genótipo 1.2 foi ainda dividido em BoHV-1.2a, relacionado às manifestações clínicas como abortos e infecção no trato respiratório, além de IPV e IPB, e BoHV-1.2b, relacionado à doença respiratória leve, IPV e IPB (Batista et al., 2010; Crespo et al., 2016). Há cerca de 22 anos, no entanto, após analisadas as características de casos de Meningoencefalite reportados na Austrália e com o emprego de técnicas de análise genômica e observação de diferenças clínico-epidemiológicas, o então genótipo BoHV-1.3 foi considerado uma espécie

viral distinta e passou a ser denominada de BoHV-5, que se diferenciava da espécie BoHV-1 especialmente pela sua neuroinvasividade e capacidade de neurovirulência (Médici et al., 2000). A neuroinvasão provocada pelo BoHV-1, geralmente não vai além do neurônio de primeira ordem em que a infecção latente foi estabelecida, diferentemente do BoHV-5, que é capaz de infectar diferentes regiões do cérebro (Gabev et al., 2010; Zajac et al., 2010).

Os alphaherpesvirus utilizam como porta de entrada no organismo animal, as cavidades mucosas revestidas por células epiteliais (Engels & Ackermann, 1996; Viu et al., 2014), geralmente de bovinos jovens. A principal forma de transmissão ocorre através das secreções respiratória, genital e ocular (Medeiros, 2019), uma vez que, em infecções agudas, o vírus está presente em altos títulos nessas secreções, podendo haver disseminação por cerca de quinze dias. A transmissão é realizada através do contato direto das regiões nasais entre os animais ou através da monta natural, além de aerossóis em curtas distâncias, fômites contaminados, fluidos fetais, fetos abortados, inseminação artificial e transferência de embriões (Costa et al., 2017).

Durante o curso das enfermidades causadas pelo BoHV-1, as manifestações clínicas relatadas incluem, no caso da IBR, febre, depressão, anorexia, mucosa nasal hiperêmica, com presença de lesões vesiculares e erosivas, dispneia, taquipneia, tosse, descargas nasais serosas que podem tornar-se mucopurulentas conforme a progressão da enfermidade, bloqueio das vias respiratórias superiores, salivação excessiva, bronquite, pneumonia, bem como queda na produção de animais lactantes (Arruda et al., 2019; Fino et al., 2012; Medeiros, 2019) e baixa qualidade do sêmen (Crespo et al., 2016). Já os sinais clínicos relatados em casos de Meningoencefalite Herpética incluem secreção nasal e ocular, protrusão da língua, salivação, ranger de dentes, oscilações rítmicas involuntárias e repetidas dos olhos nas posições de mirada, cegueira, incoordenação, flexionamento do pescoço e pressão da cabeça sobre as superfícies, quedas, decúbito dorsal, opistótono e convulsões (Massitel et al., 2016; Roos, 2009).

4. Epidemiologia, Medidas de Controle e Profilaxia

Após 65 anos da realização do primeiro isolamento de BoHV-1 (Flores, 2017) e 59 anos do BoHV-5, estes vírus continuam se disseminando e perpetuando nos organismos animais, causando prejuízos significativos no que diz respeito à criação comercial de bovinos (Almeida et al., 2016; Dejucq & Jégou, 2001; Thiry et al., 2006;). O BoHV-1 possui ampla distribuição mundial e, na maioria dos países com criação bovina expressiva, a situação é endêmica, com exceção de países com condições geográficas e climáticas favoráveis como Áustria, Dinamarca, Finlândia, Noruega e Suécia, que erradicaram a infecção mediante identificação e eliminação dos animais soropositivos (Ackermann & Engels, 2006). O BoHV-5 é mais comumente descrito em países da América do Sul, como Brasil e Argentina, e Austrália (Elias et al., 2004; Ferreira et al., 2018), com baixa ocorrência na América do Norte devido, provavelmente, a programas de vacinação contra o BoHV-1, através dos quais poderia conferir-se uma imunização cruzada para o BoHV-5 (Silva, 2014).

As medidas de controle e profilaxia relacionadas aos Alphaherpesvírus bovinos são voltadas a minimizar as perdas econômicas causadas pela infecção. Estima-se um gasto médio de US\$ 379 com atendimento veterinário, medicamentos e perdas reprodutivas, por animal infectado (Can et al., 2016) e, neste âmbito, aqueles destinados à reprodução são os que requerem maior atenção dentro da propriedade rural. Em um cenário ideal, medidas como o teste de sêmen e reprodutores, uso de sêmen e embriões livres do vírus (Castro, 2016) e o conhecimento do status sanitário do rebanho, assim como seu monitoramento periódico, além do período de quarentena estipulado para animais advindos de outras propriedades, ajudariam a prevenir a entrada do vírus na propriedade (Rissi et al., 2007).

Em rebanhos que apresentam histórico da infecção, em confinamentos que agregam animais de diversas procedências e em estabelecimentos com alta rotatividade de animais, os protocolos vacinais desempenham papel na redução da circulação do vírus e das manifestações da doença, controlando as perdas reprodutivas e, conseqüentemente, diminuindo as perdas

econômicas (Merchioratto et al., 2020). A vacinação deve ser realizada em novilhas que entrarão em reprodução pois estas, via de regra, são soronegativas e podem entrar em contato com o vírus no momento da Inseminação Artificial (IA), se o sêmen em questão estiver contaminado, ou no momento do “repasso”, caso o touro estiver contaminado (Alfieri & Alfieri, 2017).

As vacinas previnem os sinais clínicos das doenças e reduzem a excreção viral, mas não são capazes de conter a infecção a campo (Costa et al., 2017). Além disso, as vacinas inativadas, comercialmente disponíveis, embora seguras quando em comparação com as atenuadas, em sua grande maioria não conferem uma resposta imune rápida e duradoura, além de requererem a adição de substâncias adjuvantes em sua formulação (Anziliero et al., 2015). Já as vacinas atenuadas, embora induzam uma eficiente e duradoura resposta imune, não são recomendadas para animais prenhes, uma vez que permitem a replicação viral na célula do hospedeiro, apresentam o risco de reversão da virulência e infecção latente pela cepa vacinal e podem causar abortamentos (Jones et al., 2011; Nandi et al., 2009).

Alguns estudos propõe a utilização do BoHV-1 como vetor vacinal (Chowdhury et al., 2021; Kweon et al., 1999; Wang et al., 2003), e estes podem representar uma alternativa a ser adotada a longo prazo, para a resolução de problemas associados à imunomodulação gerada por vacinas inativadas (Jones & Chowdhury, 2008), mas ainda apresenta um viés no que diz respeito as propriedades biológicas desse agente de estabelecer latência em seu hospedeiro (Canal et al., 2017). Além disso, a dificuldade em diferenciar anticorpos vacinais de anticorpos naturalmente produzidos durante a infecção prejudica o diagnóstico e a exclusão dos animais soropositivos (Fino et al., 2012). Cepas vacinais modificadas pela deleção da glicoproteína E (gE) do BoHV têm sido empregadas para a imunização e testagem de rebanhos na América do Norte, e tem auxiliado no processo de detecção dos animais infectados (Brum, 2009). A vacina com gE deletada, encontra-se comercialmente disponível no mercado veterinário brasileiro.

O título de anticorpos neutralizantes capaz de conferir proteção aos animais são aqueles maiores ou iguais a 8, com 80% dos animais reagentes (USGP, 2014). As vacinas para BoHV-1 deveriam induzir esta resposta, no entanto, não existem referências destas informativas no Brasil (Costa et al., 2017).

5. Imunidade de Mucosa Contra Vírus

As cavidades mucosas são compostas por um estreito tecido de células epiteliais unidas por junções ocludentes, que se caracteriza como a principal barreira física de defesa do animal, juntamente com a pele (Corthesy & Kraehenbuhl, 1999; Lamm, 1997;), não só contra os BoHV-1 e 5, mas contra os mais diversos patógenos. Diferentemente do sistema imunológico sistêmico, que é responsável pela eliminação ativa do microrganismo, as mucosas dos tratos respiratório, gastrointestinal e urogenital são providas de mecanismos de expulsão com caracteres químicos e físicos, cuja função primária é manter o antígeno fora do epitélio, impedindo interações com substâncias que possam causar danos ao hospedeiro (Czerkinsky & Holmgren, 2010). Destacam-se, neste sentido, a descamação, pH diferencial, presença de ácidos graxos, peptídeos antimicrobianos, microbiota endógena, enzimas e proteases, movimento ciliar, que exercem grande parte da imunidade inata (Iwasaki, 2010) .

A capacidade esterilizante das cavidades mucosas é, muitas vezes, afetada por outras funções que essas superfícies desempenham (Silva et al., 2007). A interferência hormonal varia durante o ciclo estral das fêmeas, alterando características do muco endocervical (Hladik & McElrath, 2008). Nos bovinos, no período da ovulação em que níveis crescentes estrógeno são observados, o muco encontra-se menos viscoso e mais alcalino, tornando o trato genital mais vulnerável a infecções virais (De Lima & Alves, 2008).

O tecido linfoide associado às mucosas (mucosal associated lymphoid tissue - MALT) é um ambiente diferenciado (Zarzaur & Kudsk, 2001) quando comparado a outros órgãos (Holmgren & Czerkinsky, 2005), além de possuir os componentes necessários para iniciar uma resposta imune. A mucosa epitelial externa contém os linfócitos T intraepiteliais, e na lâmina própria, que está imediatamente abaixo da camada epitelial, encontram-se os linfócitos B, os plasmócitos, os

linfócitos T, os macrófagos, as células dendríticas e as células M, que capturam antígenos da luz do órgão em que estão localizadas e os transportam até o tecido linfoide correspondente (Gonçalves et al., 2016).

O MALT é subdividido em quatro grupos: tecido linfoide associado à conjuntiva ou ao olho (conjunctiva associated lymphoid tissue – CALT ou eye associated lymphoid tissue - EALT), que faz parte da superfície ocular e é constituído por células de Langerhans, neutrófilos, macrófagos e células T (Akpek & Gottsch, 2003; Knop & Knop, 2007); tecido linfoide associado aos brônquios (bronchus associated lymphoid tissue – BALT), que recobre as vias respiratórias e é constituído, especialmente, por linfócitos B e T (Grützenmacher et al., 2011); o tecido linfoide associado aos tecidos nasais e faríngeos (nasopharynx-associated lymphoid tissue - NALT) que inclui as tonsilas (Brandtzaeg et al., 1999; Brandtzaeg, 2003); e o tecido linfoide associado ao intestino (gut-associated lymphoid tissue - GALT) que engloba as placas de Peyer, o apêndice e numerosos folículos linfoides associados entre si. Devido a sua extensão, o GALT é o principal componente dentre todos os tecidos contidos no MALT (Da Fonseca, 2010). O sistema imune do trato urogenital não apresenta estruturas linfoides definidas, sugerindo ser dependente da migração celular e expressão de moléculas de adesão tecido-específicas (De Lima & Alves, 2008).

As células epiteliais contidas nas superfícies mucosas apresentam como um dos seus principais componentes, as células M especializadas (Nochi et al., 2007), localizadas em maior quantidade no BALT, NALT e GALT (Pavot et al., 2012). Essas células transportam antígenos da luz dos órgãos para os folículos linfoides associados, onde são capturados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), especialmente por DCs, e apresentados aos linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD8+ que estão localizados nos sítios de indução (local de encontro com o antígeno) (Holmgren & Czerkinsky, 2005), dando início a uma resposta imunológica específica (Takahashi et al., 2009).

A resposta imune nas mucosas é regulada pela natureza química do antígeno (proteína, polissacarídeo, lipídeo, ácido nucleico), pelo tipo de APC envolvida, como as DCs ou os linfócitos B, e pelo microambiente local. A imunidade humoral nas mucosas é mediada por anticorpos específicos secretados pelos plasmócitos. Após a sensibilização de linfócitos B e T nos sítios de indução, como as placas de Peyer, as tonsilas ou o apêndice, estas células respondem ao antígeno através da expansão clonal, diferenciando-se em plasmócitos e linfócitos T efetores, respectivamente, e células de memória (Holmgren & Czerkinsky, 2005). Os linfócitos T helper ativados, ainda, secretam citocinas relacionadas com o estímulo da imunidade humoral, estimulando assim os linfócitos B (Holmgren & Czerkinsky, 2005).

Os linfócitos T e B, assim como as APCs que são ativadas em um determinado sítio indutor, podem migrar através dos vasos linfáticos para outro sítio efetor nas mucosas (Bergquist et al., 1997), com consequente secreção de IgA em um local diferente daquele onde ocorreu o estímulo antigênico primário (Mestecky, 1987), sendo esta relação observada entre as mucosas nasal e vaginal (Gallichan et al., 2001; Gallichan & Rosenthal, 1995; Parr & Parr, 1999). Este mecanismo está relacionado com a expressão de citocinas e seus receptores, que caracterizam-se como moléculas de adesão tecido-específicas e guiam estas células de volta ao local onde houve o estímulo antigênico e aos sítios efetores relacionados (Lanning et al., 2005; Neutra & Kozlowski, 2006). Por exemplo, linfócitos B ativados e diferenciados em plasmócitos recebendo estímulos para a produção de IgA e ativados no MALT, expressam em sua superfície a molécula CCR10, que é receptora para a molécula quimiocina CLL28, que por sua vez é secretada por células epiteliais presentes no trato intestinal, nas glândulas salivares, tonsilas, trato respiratório e glândulas mamárias em fase de lactação (Kunkel & Butcher, 2003). Desta forma, estes plasmócitos podem ser atraídos para qualquer um destes tecidos (Mestecky, 1987).

Ainda, com a co-estimulação de células B ativadas por linfócitos T helper, ocorre a formação de centros germinativos, havendo a maturação de afinidade e a troca do isotipo de imunoglobulina secretado (Kunkel & Butcher, 2003). O resultado destas modificações evidencia-se na geração de células B de memória e plasmócitos que sintetizam anticorpos de alta afinidade. Estes plasmócitos podem permanecer no tecido linfoide secundário de origem, o que é particularmente comum no

caso de plasmócitos que secretam IgM, ou trafegam através da linfa eferente até o sangue a fim de colonizar locais distantes (Brandtzaeg et al., 1999; Calame, 2001).

O isotipo da imunoglobulina secretada pelo plasmócito é determinado pelo local de apresentação do antígeno pelas APCs, assim como a natureza da estimulação antigênica, sendo que, juntos, ambos determinarão o tecido para o qual estes plasmócitos serão destinados (Kunkel & Butcher, 2003). As células B ativas sofrem mudança de classe de imunoglobulinas ao serem estimuladas por determinadas citocinas secretadas pelos linfócitos T helper, como por exemplo IL-4, IL-5, IL-6 e TGF- α , TGF- β , que levam a secreção de IgA (Sonoda et al., 1989), anticorpo predominante nas secreções mucosas (Cerutti, 2008; Woof & Kerr, 2006), ou IL-2, IL-4, IFN- γ , que levam a secreção de imunoglobulina G (IgG) (Calich & Vaz, 1989).

A IgA é secretada por plasmócitos localizados nas superfícies corpóreas (Oliveira, 2017). É sintetizada principalmente nos tratos intestinal e respiratório, mas também no trato urogenital, na glândula mamária e na pele (Mesquita Júnior et al., 2010). Apresenta a terceira maior concentração (mg dL⁻¹) sérica em bovinos (10-50 mg dL⁻¹), depois da IgG (1.700-2.700 mg dL⁻¹) e da IgM (250-400 mg dL⁻¹). Nas secreções corporais desses mamíferos, a IgA é principal imunoglobulina encontrada, e possui concentrações maiores do que as séricas, como no colostro (400 mg dL⁻¹), no muco nasal (200 mg dL⁻¹), na secreção salivar (56 mg dL⁻¹) ou nas lágrimas (260 mg dL⁻¹) (Tizard, 2009).

Os monômeros de IgA possuem peso molecular de cerca de 150 kilodaltons (kDa), mas são normalmente secretados como dímeros (Woof, 2013; Woof & Kerr, 2006), unidos por um polipeptídeo denominado de cadeia J (Mestecky et al., 1971; Solé et al., 2018) que, além de ligar estes monômeros, interage com o receptor de imunoglobulina polimérica (pIgR). Este receptor é uma glicoproteína transmembrana transportadora de anticorpos expressa na superfície basal das células epiteliais de mucosa, com peso molecular de 71 kDa (Mostov & Deitcher, 1986). O pIgR transporta a IgA através das células epiteliais por um processo de transcitose que finda com a translocação de IgA secretora (SIgA) à superfície mucosa (Macpherson et al., 2008). A SIgA possui ainda uma peça secretora advinda da clivagem endocítica do pIgR, que confere propriedades mucófilas à imunoglobulina (Brandtzaeg, 1974; Phalipon et al., 2002), como resistência à degradação provocada por proteases (Van Egmond et al., 2001), como é o caso da tripsina no trato gastrointestinal (Mestecky et al., 2005).

A IgA não tem a capacidade de ativação do sistema de complemento e não pode agir como opsonina para a facilitação da fagocitose. No entanto, pode aglutinar um antígeno particulado e neutralizar vírus, assim como algumas enzimas virais. Estudos com o vírus Influenza sugerem que este mecanismo varia de acordo com o número de moléculas IgA por vírion (Gombart et al., 1993). Porém, sua principal atividade é atuar na exclusão imune, que consiste na prevenção à aderência de microrganismos estranhos às superfícies epiteliais, para que esses sejam expelidos sem causar nenhum dano ao organismo animal (Breitfeld et al., 1989). Por ser transportada pelos enterócitos, a IgA também atua dentro das células, podendo ligar-se, por exemplo, a proteínas virais sintetizadas e interromper a replicação viral, impedindo o crescimento e perpetuação viral antes que a integridade celular seja danificada (Zambrano et al., 1996). Neste caso, formam-se, então, complexos IgA-vírus no interior da célula infectada que, provavelmente, são expelidos para a luz do órgão (Van Egmond et al., 2001).

Outra imunoglobulina importante na defesa das mucosas é a IgG, secretada por plasmócitos e encontrada em maiores concentrações no sangue dos animais, sendo por isso de fundamental importância nos mecanismos de defesa mediados por anticorpos (Burton, 1985). A IgG possui peso molecular de cerca de 180 kDa (Penha, 2007) e caracteriza-se como sendo a menor das moléculas dentre as imunoglobulinas, apresentando facilidade em escapar dos vasos sanguíneos, mecanismo especialmente importante na inflamação, onde a maior permeabilidade vascular permite com que a IgG participe de processos para a proteção dos tecidos e superfícies mucosas (Tizard, 2009). Dentre as funções desse anticorpo, está a eliminação do antígeno, extremamente importante na defesa das superfícies, que pode ser realizada através da ativação do sistema complemento a partir da ligação de duas moléculas de IgG no antígeno seguida da união da proteína C1 do complemento, ativando a sua via clássica, e resultando na produção de substâncias bioativas que podem resultar na eliminação do

microrganismo (Campagne et al., 2007). Além disso, a IgG age ainda como opsonina (Oliveira et al., 2002), facilitando a atividade de células fagocíticas (Joshi et al., 2006) e de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC), realizada especialmente através da degranulação de células natural killer (Salgado, 2013). Nos ruminantes a IgG1 representa um importante papel na defesa das superfícies mucosas, principalmente na glândula mamária, onde é encontrada em quantidades superiores à IgA (Pastoret et al, 1998). Nos bovinos há predominância de IgG no útero, sendo que apenas uma fração de IgG1 provém do endométrio, ademais é derivada, juntamente com IgG2, da circulação periférica (Butt et al., 1993; Curtain et al., 1971).

6. A Utilização da Via Mucosa para a Administração de Vacinas

Os BoHVs continuam sendo uma das principais causas de perdas econômicas na bovinocultura, mesmo com o crescente desenvolvimento em tecnologias vacinais nos últimos anos (Almeida et al., 2016). As imunizações parenterais não resultam em uma resposta imune apropriada de mucosa (Ferreira et al., 2017), a qual poderia prevenir a fixação desses antígenos. A indução de SIgA, efetiva em conferir proteção e realizar a neutralização de antígenos nas superfícies mucosas, e de IgG, exercendo sua função através da neutralização e posterior eliminação imune, é dependente do imunógeno, da rota de imunização e do adjuvante utilizado (Dehghan et al., 2014). O emprego de partículas altamente complexas como imunógenos, a escolha da melhor via de aplicação da vacina e a identificação de substâncias adjuvantes que atuem na potencialização da resposta imune local e sistêmica, podem ser altamente proveitosas para o controle das enfermidades e consequentes prejuízos causados pelos BoHVs.

A inoculação de um antígeno através da via oral, nasal, retal ou vaginal induz uma resposta mais eficiente nas mucosas (Neutra & Kozłowski, 2006; Oliveira, 2017). Em sua pesquisa, Thiry et al. (2007) inocularam em caprinos por via intranasal, uma vacina viva atenuada contra o BoHV-1, modificada através da deleção do gene não essencial da glicoproteína E (gE), seguida pelo desafio destes animais, por via intravaginal, com uma cepa de Alphaherpesvirus caprino 1 (Caprine alphaherpesvirus 1 - CpHV-1). Considerando que esse vírus está associado a doença sistêmica em animais jovens, doença genital que culmina em casos de Balanopostite e Vulvovaginite e abortos em animais adultos, e que as cepas de BoHV-1 e CpHV-1 estão intimamente relacionadas antigenicamente, os autores constataram que a imunização não induziu nenhuma reação indesejada (local ou sistêmica) e que houve redução dos títulos médios de excreção viral de CpHV-1 nos animais imunizados com BoHV-1 gE deletada, em comparação com os animais do grupo controle, não vacinados, além de redução na severidade da doença. No mesmo ano, Tempesta et al. (2007), avaliando a eficácia da imunização na mucosa de cabras inocularam, através da via intravaginal, uma vacina inativada contra o CpHV-1, utilizando como substância adjuvante a enterotoxina termolábil da *Escherichia coli*, LTK63, administrando o fármaco em duas doses com intervalo de 21 dias. Os animais vacinados demonstraram altos títulos de SIgA, apresentando-se, ainda, significativamente protegidos após o desafio intravaginal com uma cepa virulenta de CpHV-1, demonstrando queda na excreção viral, quando em comparação ao grupo controle composto por animais não vacinados.

Quando em comparação entre as vias nasal e vaginal para avaliação da resposta imune sistêmica e resposta imune na mucosa vaginal contra a LTK63, mensurada em ratas, Di Tommaso et al. (1996) observaram o incremento na imunidade humoral sistêmica e altos níveis de IgA e IgG através de ambas as vias de imunização. Porém, os animais imunizados através da via intranasal apresentaram uma resposta relacionada a IgA vaginal mais tardia e com um título maior de anticorpos, quando comparados aos animais imunizados por via intravaginal. Uma provável explicação para este fato seria a alta vascularização do trato respiratório, que pode facilitar a dispersão das células B e T efectoras, para outros órgãos e tecidos (Iwasaki, 2010).

Parr e Parr (1999), ao confrontarem as vias de imunização mucosas vaginal e nasal, em camundongos fêmeas,

utilizando uma vacina viva atenuada contra o Alphaherpesvirus humano tipo 2 (HSV-2), observaram que a via de aplicação intranasal não incrementou a resposta imune de IgA e IgG na mucosa vaginal, quando comparada a via de inoculação intravaginal. Em contrapartida, a via intravaginal gerou incremento do número de plasmócitos secretores de IgG na vagina e aumento desse anticorpo tanto na secreção vaginal como no soro, indicando imunidade local e sistêmica, visto que proporcionou maior proteção frente ao desafio dos camundongos com uma cepa virulenta de HSV-2.

Nosso grupo de pesquisa vem avaliando a utilização de vacinas inativadas de aplicação vaginal, associada a adjuvantes, contra as doenças provocadas por BoHV-1 e BoHV-5: Siedler (2012) avaliou a imunogenicidade de uma vacina contra o BoHV-5 associado à subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (rLTB) e à xantana. Analisando soro sanguíneo, muco nasal e muco vaginal, constatou o incremento nos níveis de IgA e IgG no soro, na mucosa nasal e na mucosa vaginal dos animais inoculados com a vacina intravaginal, em comparação ao grupo controle, uma vacina comercial de aplicação intramuscular, além de estímulo na expressão de IL-2 e IL-13. Peter et al. (2019), avaliou a imunogenicidade de uma vacina inativada de aplicação intravaginal contra o BoHV-1 associado ao esporo inativado da bactéria gram-positiva *Bacillus toyonensis*. A presença de anticorpos neutralizantes foi verificada apenas quando os animais foram inoculados via parenteral com uma vacina comercial. No teste de ELISA indireto, para a mensuração de IgA e IgG, o estímulo na produção de ambos os anticorpos no soro sanguíneo, 90 dias após a primeira inoculação, foi verificado nos tratamentos em que o antígeno foi associado ao *Bacillus toyonensis*, em relação ao tratamento controle. O mesmo perfil foi encontrado com relação à produção de IgA e IgG na mucosa vaginal. Em dados ainda não divulgados, pudemos constatar que a utilização de proteínas recombinantes imunogênicas, associadas a polímeros derivados da celulose e estabilizantes, já descritos na literatura como sistemas de entrega de medicamentos nas superfícies mucosas (Webb et al., 2007), produzem anticorpos neutralizantes, aumento de IgA e IgG total no soro, secreção nasal e secreção vaginal, além de proporcionar incremento na produção de interleucinas, contra infecções provocadas por BoHV-1 e BoHV-5.

Algumas variáveis devem ser levadas em consideração durante a escolha da via mucosa de inoculação a ser utilizada, como a espécie a ser inoculada, a porta de entrada natural do antígeno em questão no organismo animal e a natureza da vacina, além dos mecanismos inatos químicos e físicos que merecem atenção especial neste processo (Neutra & Kozlowski, 2006). Para Pavot et al. (2012), uma formulação vacinal completa e ideal para induzir a resposta imune nos sítios locais deve proteger o antígeno da degradação enzimática, limitar sua taxa de dissolução, facilitar a absorção pelas células especializadas nos sítios indutores, facilitar a captura e resposta pelas células efetoras, mimetizar pontos chave da infecção natural, além de utilizar adjuvantes que realizem um eficiente incremento na resposta imune.

7. Considerações Finais

As vias mucosas para a aplicação de fármacos apresentam vantagens como o estímulo conjugado das imunidades local e sistêmica, com incremento, na produção, especialmente, de imunoglobulina A secretora e imunoglobulina G, que são eficientes na proteção de bovinos contra microrganismos que infectam as cavidades mucosas.

O desenvolvimento de vacinas que estimulem a imunidade humoral e que apresentem segurança garantida é de grande importância no mercado veterinário mundial, uma vez que estas podem ser a chave para a erradicação de enfermidades que prejudicam o desenvolvimento de criações há décadas, como é o caso das doenças reprodutivas provocadas pelos BoHV.

Uma vez que o estímulo essencial da imunidade seja dependente do imunógeno, da rota de imunização e do adjuvante utilizado, é necessária uma sinergia entre as partes. A pesquisa por adjuvantes imunoestimulantes e imunomoduladores que favoreçam a geração de resposta imune nas vias mucosas é constante, e as proteínas recombinantes apresentam destaque neste âmbito. No entanto, a necessidade de profissionais e equipamentos altamente especializados, bem como o baixo rendimento aliado ao elevado custo para sua produção faz com que compostos alternativos sejam estudados. Além disso, a necessidade de

pesquisas que esclareçam o funcionamento dos componentes vacinais nas vias de geração de imunidade nos sítios de indução das mucosas é essencial para o desenvolvimento de produtos funcionais que cumpram com o seu papel na pecuária mundial.

Referências

- Ackermann, M., & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113 (3-4), 293-302.
- Ackermann, M., Peterhans, E., & Wyler, R. (1982). DNA of bovine herpesvirus type 1 in the trigeminal ganglia of latently infected calves. *American Journal of Veterinary Research*, 43 (1), 36-40.
- Akpek, E. K e Gottsch, J. D (2003). Immune defense at the ocular surface. *Eye*, 17 (8), 949-956.
- Alfieri, A. A., & Alfieri, A. F (2017). Doenças infecciosas que impactam a reprodução dos bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 41 (1), 133-139.
- Allim, J. M. (2019). *Definição do Módulo Mínimo da Exploração da Bovinocultura de Corte (Ciclo Completo) na Região Centro-Oeste do Brasil*. Dissertação de Mestrado. Escola de Economia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.
- Almeida, I. C, Sena, L. M, Sarmiento, L. P, Barioni, G., & Oliveira, F. A (2016). Aspectos relacionados à brucelose, diarreia viral bovina e rinotraqueíte infecciosa bovina e sua relação com a qualidade do leite. Em *Tópicos Especiais em Ciência Animal V* (pp. 51-64). Espírito Santo: CAUFES.
- Al-Shammari, Z. S., Ahmed, B. M, Haroun, M., Afify, A. F, Elsanousi, A. A., & Shalaby M. A (2016). A First Molecular Phylogeny of an Egyptian Equine Herpesvirus-4 Strain Derived from a Fetal Arabian horse. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*, 5 (1), 2-4.
- Antello, T. F (2014). *Expressão de fatores ligados à apoptose: herpesvirus bovino tipo 5*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, SP, Brasil.
- Anziliero, A., Martins, M., Weiss, M., Monteiro, F. L, Ataíde, C. F, Weiblen, R., & Flores, E. F (2015). Serological response to bovine herpesvírus 1 and 5 and bovine viral diarrhea virus induced by comercial vaccines. *Ciência Rural*, 45 (1), 58-63.
- Araújo, I. L (2014). *Resposta imune humoral em bovinos induzida pela glicoproteína D recombinante de herpesvírus bovino tipo 5*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
- Arruda, E. F, Silva, T. I. B, Aragão, B. B, Castro, R. S., & Gomes, Y. A (2019). Seroprevalence of bovine alphaherpesvirus type 1 (BoHV-1) and risk factors associated with dairy properties of the municipality of Senador Guionard, Acre, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 86 (1-6), 1-6. doi: 10.1590/1808-1657001362018
- Batista, H. B D. C. R, Schmidt, E., Spilki, F. R, Franco, A. C., & Roehe, P. M (2010). Herpesvírus bovinos (BoHV-1.1 e BoHV-1.2 b) em forma infecciosa em encéfalos de bovinos submetidos ao diagnóstico de raiva no estado do Rio Grande do Sul. *Arquivos brasileiros de medicina veterinária e zootecnia*, 62 (5), 1023-1028.
- Bergquist, C., Johansson, E. L, Lagergård, T., Holmgren, J., & Rudin, A. (1997). Intranasal vaccination of humans with recombinant cholera toxin B subunit induces systemic and local antibody responses in the upper respiratory tract and the vagina. *Infection and Immunity*, 65 (7), 2676-2684.
- Brandtzaeg, P., Farstad, I. N., & Haraldsen, G. (1999). Regional specialization in the mucosal immune system: primed cells do not always home along the same track. *Immunology Today*, 20 (6), 267-277.
- Brandtzaeg, P. (1974). Mucosal and glandular distribution of immunoglobulin components: differential localization of free and bound SC in secretory epithelial cells. *The Journal of Immunology*, 112 (4), 1553-1559.
- Brandtzaeg, P. (2003). Role of secretory antibodies in the defence against infections. *International Journal of Medical Microbiology*, 293 (1), 3-15.
- Breitfeld, P. P, Harris, J. M., & Mostov, K. E (1989). Postendocytotic sorting of the ligand for the polymeric immunoglobulin receptor in Madin-Darby canine kidney cells. *The Journal of Cell Biology*, 109 (2), 475-486.
- Brum, M. C. S (2009). *Produção e caracterização de cepas recombinantes do Herpesvírus bovino tipo 5 defectivas na enzima Timidina Quinase e Glicoproteína E*. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.
- Burton, D. R (1985). Immunoglobulin G: functional sites. *Molecular immunology*, 22 (3), 161-206.
- Butt, B. M, Besser, T. E, Senger, P. L., & Widders, P. R (1993). Specific antibody to Haemophilus somnus in the bovine uterus following intramuscular immunization. *Infection and Immunity*, 61 (6), 2558-2562.
- Calame, K. L (2001). Plasma cells: finding new light at the end of B cell development. *Nature Immunology*, 2 (12), 1103.
- Calich, V. L G & Vaz, C. A. C (1989). *Imunologia básica*. Ed. Artes Médicas LTDA.
- Campagne, M., Wiesmann, C., & Brown, E. J (2007). Macrophage complement receptors and pathogen clearance. *Cellular Microbiology*, 9 (9), 2095-2102.
- Campos, M. J. S, Ferreira, A. P., & Vitral, R. W. F (2011). O Papel da Imunoglobulina A Secretora no Mecanismo de Defesa da Mucosa Bucal. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 11 (1), 139-143.

- Can, MF, Ataseven VS VYalçın C. (2016). Estimation of production and reproductive performance losses in dairy cattle due to bovine herpesvirus 1 (BoHV-1) infection. *The Journal Veterinarski Arhiv*, 86 (4), 499-513.
- Canal, CW, Vaz, CSL, & Cibulski, S. Vacinas víricas. In: Flores, EF. *Virologia Veterinária*. 2017. 363–394.
- Castro, VLDQ (2016). *Detecção do bovine herpesvirus 1 em órgãos genitais de vacas naturalmente infectadas e no interior de ovócitos infectados in vitro*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.
- Carqueira, RB, Carminati, R., Silva, JM, Camos, G., Meyer, R. & Sardi, S. (2000). Serological survey for bovine herpesvirus 1 in cattle from different regions in the state of Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 37 (6), 0-0.
- Cerutti, A. (2008). The regulation of IgA class switching. *Nature Reviews Immunology*, 8 (6), 421.
- Chowdhury, SI, Pannhorst, K., Sangewar, N., Pavulraj, S., Wen, X., Stout, RW & Paulsen, DB (2021). BoHV-1-Vectored BVDV-2 Subunit Vaccine Induces BVDV Cross-Reactive Cellular Immune Responses and Protects against BVDV-2 Challenge. *Vaccines*, 9 (1), 46.
- Corthesy, B., & Kraehenbuhl, JP (1999). Antibody-mediated protection of mucosal surfaces. Em *Defense of Mucosal Surfaces: Pathogenesis, Immunity and Vaccines* (pp. 93-111). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Costa, EP, Queiroz, VLD, Silva Junior, A., Guimarães, JD, Alves, VP, Santos, MR & Souza, LFL (2017). BoHV-1 (o vírus da IBR) e sua relação com estruturas e órgãos genitais da fêmea bovina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 41 (1), 254-263.
- Crespo, SEL, Possatti, F., Otonel, RAA., Favero, LM., Balbo, LC, Alfieri, AF, & Alfieri, AA (2016). Caracterização molecular de bohv-1.1 em touros com balanopostite pustular infecciosa. *Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública*, 3, 117-120.
- Cunha Neto, CAV (2016). *Proteinograma e concentração de imunoglobulina G séricas em potros, do nascimento aos 30 dias de vida, tratados com plasma*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, Brasil.
- Curtain, CC, Clark, BL, & Dufty, JH (1971). The origins of the immunoglobulins in the mucous secretions of cattle. *Clinical and Experimental Immunology*, 8 (2), 335.
- Czerkinsky, C., & Holmgren, J. (2010) Topical immunization strategies. *Mucosal Immunology* 3 (6), 545-55.
- Da Fonseca, FCP (2010). Influência da nutrição sobre o sistema imune intestinal. *CERES: Nutrição & Saúde*. 5 (3), 163-174.
- Dejucq, N., & Jégou, B. (2001). Viruses in the mammalian male genital tract and their effects on the reproductive system. *Microbiology and Molecular Biology. Reviews*, 65 (2), 208-231.
- Dehghan, S., Tafaghodi, M., Bolourieh, T., Mazaheri, V., Torabi, A., Abnous, K., & Kheiri, MT (2014). Rabbit nasal immunization against influenza by dry-powder form of chitosan nanospheres encapsulated with influenza whole virus and adjuvants. *International Journal of Pharmaceutics*, 475 (1-2), 1-8.
- Delhon, G., Moraes, MP, Lu, Z., Afonso, CL, Flores, EF, Weiblen, R., Kutish, GF & Rock, DL (2003) Genome of bovine herpesvirus 5. *Journal of Virology*, 77 (19), 10339-10347.
- De Lima, YAR & Alves, MDFC (2008). O Sistema imune da mucosa do trato genital feminino eo impacto das doenças sexualmente transmissíveis. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, 37 (4), 295-310.
- Di Tommaso, A., Saletti, G., Pizza, M., Rappuoli, R., Dougan, G., Abrignani, S., Douce, G. & De Magistris, MT (1996). Induction of antigen-specific antibodies in vaginal secretions by using a nontoxic mutant of heat-labile enterotoxin as a mucosal adjuvant. *Infection and immunity*, 64 (3), 974-979.
- Elias, F., Schild, AL & Riet-Correa, F. (2004). Meningoencefalite e encefalomalacia por herpesvírus bovino-5: distribuição das lesões no sistema nervoso central de bovinos naturalmente infectados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 24 (3), 123-131.
- Embrapa (2021). *Brasil é o quarto maior produtor de grãos e o maior exportador de carne bovina do mundo, diz estudo*. <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/62619259/brasil-e-o-quarto-maior-produtor-de-graos-e-o-maior-exportador-de-carne-bovina-do-mundo-diz-estudo#:~:text=bovino%20do%20mundo%202020%2C%20o%20rebanho%20bovino%20brasileiro%20foi%20o%20maior%20do,com%20190%20milh%C3%B5es%20de%20cabe%C3%A7as>.
- Engels, M. & Ackermann, M. (1996). Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Veterinary Microbiology*, 53 (1-2), 3-15.
- Favoreel, HW (2006). "O porquê dos motivos baseados em Y nas proteínas do envelope do alfa herpesvírus." *Virus research* 117 (2), 202-208.
- Fenner, FJ, Bachmann, PA, & Gibbs, EPJ (2014). *Veterinary Virology*. Academic Press.
- Ferreira, HCC, Campos, MG, Vidigal, PMP, Santos, MR, De Carvalho, OV, Bressan, GC, Fietto, JLR, Costa, EP, Almeida, MR & Silva Júnior, A. (2018). Latent bovine herpesvirus 1 and 5 in milk from naturally infected dairy cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 80 (11), 1787-1790.
- Ferreira, RC, Neves, H., Pinto, JF, & Lopes, CM (2017). Overview on Inhalable Nanocarriers for Respiratory Immunization. *Current pharmaceutical design*, 23 (40), 6160-6181.
- Fino, TCM, Melo, CB, Ramos, AF & Leite, RC (2012). Infecções por herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e suas implicações na reprodução bovina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 36 (2), 122-127.
- Flores, EF (2017). *Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas*. Santa Maria, SM: Ed. da UFSM.
- Gabev, E., Tobler, K., Abril, C., Hilbe, M., Senn, C., Franchini, M., & Ackermann, M. (2010). Glycoprotein D of bovine herpesvirus 5 (BoHV-5) confers an extended host range to BoHV-1 but does not contribute to invasion of the brain. *Journal of Virology*, 84 (11), 5583-5593

- Gallichan, WS, & Rosenthal, KL (1995). Specific secretory immune responses in the female genital tract following intranasal immunization with a recombinant adenovirus expressing glycoprotein B of herpes simplex virus. *Vaccine*, 13 (16), 1589-1595.
- Gallichan, WS, Woolstencroft, RN, Guarasci, T., McCluskie, MJ, Davis, HL, & Rosenthal, KL (2001). Intranasal immunization with CpG oligodeoxynucleotides as an adjuvant dramatically increases IgA and protection against herpes simplex virus-2 in the genital tract. *The Journal of Immunology*, 166 (5), 3451-3457.
- Gombart, AF, Hirano, AKIKO, & Wong, TC (1993). Conformational maturation of measles virus nucleocapsid protein. *Journal of Virology*, 67 (7), 4133-4141.
- Gonçalves, JL, Yaochite, JNU, Queiroz, CAA, Câmara, CC, & Oriá, RB (2016). Bases do sistema imunológico associado à mucosa intestinal. In: Oriá RB e Brito GAC. *Sistema Digestório: Integração Básico-Clinica*. Blucher Open Acess, 369-388.
- Grützenmacher, S., Robinson, DM, Sevecke, J., Mlynski, G., & Beule, AG (2011). Comparative investigations of anatomy and physiology in mammalian noses (Homo sapiens--Artiodactyla). *Rhinology*, 49 (1), 18-23.
- Hannant, D. (2002). Mucosal immunology: overview and potential in the veterinary species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 87 (3-4), 265-267.
- Henzel, A., Salla, PF, Mascitti, AK, Demoliner, M., Solyman, MC, Lunge, VR & Spilki, FR (2019). Bovine alphaherpesvirus 1 and 5 in semen from bulls presenting genital lesions under field conditions in Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71 (1), 197-203.
- Hladik, F., & McElrath, MJ (2008). Setting the stage: host invasion by HIV. *Nature Reviews Immunology*, 8 (6), 447-457.
- Holmgren, J., & Czerkinsky, C. (2005). Mucosal immunity and vaccines. *Nature medicine*, 11 (4s), S45.
- ICTV (2020). *Relatório ICTV, Vírus dsDNA, Herpesvirales*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsna-viruses-2011/w/dsna_viruses/89/herpesvirales
- Iwasaki, A. (2010). Antiviral immune responses in the genital tract: clues for vaccines. *Nature reviews Immunology*, 10 (10), 699.
- Jones, CJ, & Chowdhury, S. (2008). A review of the biology of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1), its role as a cofactor in the bovine respiratory disease complex and development of improved vaccines. *Papers in Veterinary and Biomedical Science*, 99.
- Jones C., Da Silva, LF & Sinani, D. (2011). Regulation of the latency-reactivation cycle by products encoded by the bovine herpesvirus 1 (BHV-1) latency-related gene. *Journal of Neurovirology*, 17, 535-45.
- Joshi, T., Butchar, JP, & Tridandapani, S. (2006). Fcγ receptor signaling in phagocytes. *International Journal of Hematology*, 84 (3), 210-216.
- Knop, E. & Knop, N. (2007). Anatomy and immunology of the ocular surface. *Immune Response and the Eye*, 92, 36-49.
- Kunkel, EJ, e Butcher, EC (2003). Plasma-cell homing. *Nature Reviews Immunology*, 3 (10), 822.
- Kweon, CH, Kang, SW, Choi, EJ, & Kang, YB (1999). Bovine herpes virus expressing envelope protein (E2) of bovine viral diarrhea virus as a vaccine candidate. *Journal of Veterinary Medical Science*, 61(4), 395-401.
- Lamm, ME (1997). Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annual Review of Microbiology*, 51 (1), 311-340.
- Lanning, DK, Rhee, KJ & Knight, KL (2005). Intestinal bacteria and development of the B-lymphocyte repertoire. *Trends in immunology*, 26 (8), 419-425.
- Mariano, AM, & Santos, MR (2017). Revisão da Literatura: Apresentação de uma Abordagem Integradora. Anais do XXVI Congresso Internacional AEDEM. Reggio Calabria, Italia.
- Masri, SA, Olson, W., Nguyen, PT, Prins, S., & Deregt, D. (1996). Rapid detection of bovine herpesvirus 1 in the semen of infected bulls by a nested polymerase chain reaction assay. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 60 (2), 100.
- Massitel, JL, Wesgueber, J., Oliveira, RAM, Queiroz, GR, Fritzen, JTT, Alfieri, AA & Lisbôa, JAN (2016). Presence of BoHV-5 genome in cerebrospinal fluid of cattle with herpetic meningoencephalitis. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68 (2), 548-552.
- Macpherson, AJ, McCoy, KD, Johansen, FE, & Brandtzaeg, P. (2008). The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal immunology*, 1 (1), 11.
- Medeiros, DM, Campos, FS, Lima, M., Hubner, SO, Vargas, GDA, & Fischer, G. (2019). Infecção latente pelo herpesvírus bovino tipo 1 em búfalos (*Bubalus bubalis*) no Rio Grande do Sul. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71, 1236-1242.
- Médici, KC, Alfieri, AA, & Alfieri, AF (2000). Prevalência de anticorpos neutralizantes contra o herpesvírus bovino tipo 1, decorrente de infecção natural, em rebanhos com distúrbios reprodutivos. *Ciência Rural*, 30 (2), 347-350.
- Megid, J., Ribeiro, MG & Paes, AC (2016). *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. Rio de Janeiro, RJ: Roca.
- Merchioratto, I., Aurélio, AA, Villela, JM, Stone, NV, Roman, IJ, Traesel, CK, & Brum, MCS (2020). Immunogenicity in sheep of Uruguayan commercial vaccines against bovine alphaherpesvirus 1, 5 and bovine pestiviruses. *Ciência Rural*, 50 (4).
- Mesquita Júnior, D., Araújo, JAP, Catelan, TTT, Souza, AWS, Cruvinel, WDM, Andrade, LEC, & Silva, NP (2010). Sistema imunitário-parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 50 (5).

- Mestecky, J. (1987). The common mucosal immune system and current strategies for induction of immune responses in external secretions. *Journal of clinical immunology*, 7 (4), 265-276.
- Mestecky, J., Zikan, J., & Butler, WT (1971). Immunoglobulin M and secretory immunoglobulin A: presence of a common polypeptide chain different from light chains. *Science*, 171 (3976), 1163-1165.
- Mestecky, J., Moro, I., Kerr, MA, & Woof, JM (2005). Mucosal immunoglobulins. Em *Mucosal immunology* (pp. 153-181). Academic Press.
- Mayer-Winkelmann, SV (2005). Distribuição do dna dos herpesvírus bovino tipos 1 (bvh-1) e 5 (bvh-5) no encéfalo de coelhos durante a infecção latente. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.
- Mostov, KE, & Deitcher, DL (1986). Polymeric immunoglobulin receptor expressed in MDCK cells transcytoses IgA. *Cell*, 46 (4), 613-621.
- Nandi S., Kumar M., Manohar M., & Chauhan RS (2009). Bovine herpes virus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 10 (1), 85-98.
- Neutra, MR, & Kozlowski, PA (2006). Mucosal vaccines: the promise and the challenge. *Nature Reviews Immunology*, 6 (2), 148.
- Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Terahara, K., Kim, D., Fukuyama, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Kawaoka, Y., Kohda, T., Kozaki, S., Igarashi, O. & Kiyono H. (2007). A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *Journal of Experimental Medicine*, 204 (12), 2789-2796.
- Novaes, JB (2014). *Apoptose relacionada à infecção in vitro por herpesvírus bovino tipo 1 e 5*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, SP, Brasil.
- Oliveira, LM (2017). *O papel da SIgA na resposta imune de mucosa contra a Ascariidose Larval*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- Oliveira, CA, Seixas, AEAC, Chedraoui, SS, Kanashiro, A., Mariko, LK, Braga, APDAG, Gonçalves, CFF, Coredirol, DS, Leitão, DPS, Gaspar, LR, Souza, PLV, Valim, YML & Mantovani, B. (2002). Avaliação bioquímica e ultraestrutural da interação de imunocomplexos de IgG com leucócitos polimorfonucleares: efeito de antioxidantes naturais. *Eclética Química*, 27 (1es), 0.
- Oliveira, RAM, Lorenzetti, E., Alfieri, AA, & Lisbôa, JAN (2015). Prevalência das infecções latentes por BoHV-1 e BoHV-5 em bovinos de corte no Estado do Paraná. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 67, 1217-1225.
- Paim, WP (2017). *Sequência completa do genoma de Herpesvírus bovino tipo 5 subtipo c*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.
- Parr, EL, & Parr, MB (1999). Immune responses and protection against vaginal infection after nasal or vaginal immunization with attenuated herpes simplex virus type-2. *Immunology*, 98 (4), 639-645.
- Pastoret, PP, Griebel, P., Bazin, H. & Govaerts, A. (1998). Immunology of Cattle. Em *Handbook of Vertebrate Immunology*, San Diego, CA: Academic Press.
- Pavot, V., Rochereau, N., Genin, C., Verrier, B., & Paul, S. (2012). New insights in mucosal vaccine development. *Vaccine*, 30 (2), 142-154.
- Pejakovic, S., Mfossa, ACM, Wiggers, L., Kheimar, A., Coupeau, D., Kaufner, BB & Muylkens, B. (2020). Role of DNA Methylation and CpG Sites in the Viral Telomerase RNA Promoter during Gallid Herpesvirus 2 Pathogenesis. *Journal of Virology*, 94 (23), 1-21.
- Penha, TR (2007). *Produção e caracterização de anticorpos monoclonais anti fragmento Fc de IgG de bovino*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.
- Peter, CM, Fruhauf, MI, Botton, NY, Barcelos, LS, Bozembeck, R. & Fischer, G. (2019). Desenvolvimento e imunogenicidade de uma vacina inativada de aplicação intravaginal contra o *Alphaherpesvirus bovino* tipo 1 em associação com o esporo inativado do *Bacillus toyonensis*. Anais do XXI Encontro de Pós-Graduação. Pelotas, RS: UFPel.
- Petrini, S., Iscaro, C. & Rigui, C (2019). Antibody Responses to Bovine Alphaherpesvirus 1 (BoHV-1) in Passively Immunized Calves. *Viruses*, 11 (1), 23.
- Phalipon, A., Cardona, A., Kraehenbuhl, JP, Edelman, L., Sansonetti, PJ & Corthésy, B. (2002). Secretory component: a new role in secretory IgA-mediated immune exclusion in vivo. *Immunity*, 17 (1), 107-115
- Rissi, DR, Rech, RR, Flores, EF, Kommers, GD & Barros, CS (2007). Meningoencefalite por herpesvírus bovino-5. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 27(7), 251-260.
- Rodriguez, JMM, Leeming, G., Kohler, K. & Kipar A. (2017). Feline Herpesvirus Pneumonia: Investigations Into the Pathogenesis. *Veterinary Pathology*, 54 (6), 922-932.
- Roizman, B. (2001). The family Herpesviridae: A brief introduction. Em: *Fields Virology* (pp. 2381-2398) Philadelphia, PA: Williams and Wilkins publishers.
- Roos, TB (2009). *Efeito imunomodulador de Bacillus cereus var. Toyoi e Saccharomyces boulardii em animais vacinados contra Herpesvírus Bovino tipo 5*. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
- Salgado, RM (2013). Avaliação do papel do soro imune de camundongos CD28KO (deficiente em IgG específica) na interação in vivo e in vitro do T. cruzi Sylvio X10/4 com células da linhagem macrófaga. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Schröder, C. & Keil, GM (1999). Bovine herpesvirus 1 requires glycoprotein H for infectivity and direct spreading and glycoproteins gH (W450) and gB for glycoprotein D-independent cell-to-cell spread. *Journal of General Virology*, 80 (1), 57-61.

- Schwyzer, M. & Ackermann, M. (1996). Virologia molecular de herpesvírus de ruminantes. *Microbiologia veterinária*, 53 (1-2), 17-29.
- Silva, DR (2014). *Deteção molecular de herpesvírus bovino tipo-1 e herpesvírus bovino tipo-5 em amostras de encéfalos bovinos incluídos em parafina*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás, Goiania, GO, Brasil.
- Silva, MS, Brum, MCS, Weiblen, R. & Flores, EF (2007). Identificação e diferenciação de herpesvírus bovino tipos 1 e 5 isolados de amostras clínicas no Centro-Sul do Brasil, Argentina e Uruguai (1987-2006). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 27 (10), 403-408.
- Siedler, BS (2012). *Avaliação de uma vacina de aplicação intravaginal contra o Herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de Escherichia coli (rLTB)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
- Solé, D. et al (2018). Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018-Parte 1-Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. *Arquivos de Alergia e Imunologia*, 2 (1), 7-38.
- Sonoda, Eiichiro et al (1989). Transforming growth factor beta induces IgA production and acts additively with interleukin 5 for IgA production. *The Journal of experimental medicine*, 170 (4), 1415-1420.
- Takahashi, I., Nochi, T., Yuki, Y., & Kiyono, H. (2009). New horizon of mucosal immunity and vaccines. *Current opinion in immunology*, 21 (3), 352-358.
- Tempesta, M., Camero, M., Bellacicco, AL, Tarsitano, E., Lorusso, A., Martella, V., Decaro, N., Del Giudice, G., Cassone, A., Quaranta, A. & Buonavoglia, C. (2007). Caprine herpesvirus 1 vaccine with the LTK63 mutant as a mucosal adjuvant induces strong protection against genital infection in goats. *Vaccine*, 25 (46), 7927-7930.
- Thiry, J., Keuser, V., Muylkens, B., Meurens, F., Gogev, S., Vanderplasschen, A. & Thiry, E. (2006). Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Veterinary Research*, 37 (2), 169-190.
- Thiry, J., Tempesta, M., Camero, M., Tarsitano, E., Muylkens, B., Meurens, F., Thiry, J. & Buonavoglia, C. (2007). Clinical protection against caprine herpesvirus 1 genital infection by intranasal administration of a live attenuated glycoprotein E negative bovine herpesvirus 1 vaccine. *BioMed Central Veterinary Research*, 3 (1), 33.
- Thiry, J., Windén, F., Grégoire, F., Linden, A., Belák, S. & Thiry, E. (2007). Isolation and characterization of a ruminant Alphaherpesvirus closely related to Bovine Herpesvirus 1 in a free-ranging red deer. *BioMed Central Veterinary Research*, 3 (26).
- Tizard, IR (2009). *Veterinary Immunology: An Introduction*. Elsevier.
- USGP (2014). Code of Federal Regulations, *Animal and animal products*. 9 CFR 113.215 - Bovine virus diarrhoea vaccine, killed virus. v.1, chapter I, subchapter E, part 113, section 113.215/216. <http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title9-vol1/xml/CFR2012-title9-vol1sec113-215.xml>.
- Van Engelenburg, FA, Maes, RK, Van Oirschot, JT, & Rijsewijk, FA (1993). Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. *Journal of Clinical Microbiology*, 31 (12), 3129-3135.
- Van Egmond, M., Damen, CA, Van Spriel, AB, Vidarsson, G., Van Garderen, E., & Van de Winkel, JG (2001). IgA and the IgA Fc receptor. *Trends in Immunology*, 22 (4), 205-211.
- Vieira, S., Brito, WMEDD, Souza, WJ, Alfaia, BT, & Linhares, DCL (2003). Anticorpos para o herpesvírus bovino 1 (BHV-1) em bovinos do Estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, 4 (2), 131-137
- Wang, L., Whitbeck, JC, Lawrence, WC, Volgin, DV, & Bello, LJ (2003). Expression of the genomic form of the bovine viral diarrhoea virus E2 ORF in a bovine herpesvirus-1 vector. *Virus genes*, 27(1), 83-91.
- Webb, MS et al. (2007). Distribuição de drogas lipossomais: patentes recentes e oportunidades emergentes. Patentes recentes sobre entrega e formulação de medicamentos, 1 (3), 185-194.
- Woof, JM, & Kerr, MA (2006). The function of immunoglobulin A in immunity. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 208 (2), 270-282.
- Woof, JM (2013). Immunoglobulin A: molecular mechanisms of function and role in immune defence. Em *Molecular and Cellular Mechanisms of Antibody Activity* (pp. 31-60). Springer, New York, NY.
- Zajac, MPDM, Ladelfa, MF, Kotsias, F., Muylkens, B., Thiry, J., Thiry, E., & Romera, SA (2010). Biologia do herpesvírus bovino 5. *The Veterinary Journal*, 184 (2), 138-145.
- Zambrano-Villa, S., Salazar-Villa, RM, & Ortiz-Ortiz, L. (1996). Inmunología de la IgA y las mucosas. *Cirugía y Cirujanos*, 64 (5), 147-151.
- Zarzur, BL, & Kudsk, KA (2001). The mucosa-associated lymphoid tissue structure, function, and derangements. *Shock*, 15 (6), 411-42.