

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

**Desenvolvimento e imunogenicidade de uma vacina de aplicação intravaginal
contra o *alpha*herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B
recombinante da enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (rLTB)**

Cristina Mendes Peter

Pelotas, 2021

Cristina Mendes Peter

Desenvolvimento e imunogenicidade de uma vacina de aplicação intravaginal contra o *alpha*herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (rLTB)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Geferson Fischer
Coorientador: Prof. Dr. José Mário Barichello

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P478d Peter, Cristina Mendes

Desenvolvimento e imunogenicidade de uma vacina de aplicação intravaginal contra o alphaherpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (rLTB) / Cristina Mendes Peter ; Geferson Fischer, orientador ; José Mário Barichello, coorientador. — Pelotas, 2021.

81 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Imunidade de mucosas. 2. Vacina intravaginal. 3. BoHV-5. 4. Sistemas de entrega. 5. rLTB. I. Fischer, Geferson, orient. II. Barichello, José Mário, coorient. III. Título.

CDD : 636.208982

Cristina Mendes Peter

Desenvolvimento e imunogenicidade de uma vacina de aplicação intravaginal contra o *alphaherpesvírus bovino* tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (rLTB)

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 25/02/2021

Banca examinadora:

Prof. Dr. Geferson Fischer (Orientador)
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. José Mário Barichello (Co-Orientador)
Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Hoshi, Tóquio, Japão

Dr. Gustavo Marçal Schmidt Garcia Moreira
Doutor pela Technische Universität Braunschweig

Prof. Dr. Mário Celso Sperotto Brum
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Marcelo de Lima
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Fernando Viçosa Bauermann
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pela vida e por iluminar sempre meus caminhos.

À Universidade Federal de Pelotas/RS, e ao programa de pós-graduação em Veterinária da UFPEL.

À CAPES pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Geferson Fischer, pela orientação constante e ensinamentos ao longo desses anos. Ao meu coorientador Prof. Dr. José Mário Barichello, pelos seus conselhos e pela confiança depositada nesse período de intensa troca de conhecimento. Obrigada Professores por contribuírem para o meu crescimento profissional, ainda mais como ser humano.

Aos meus queridos amigos do laboratório de Virologia e Imunologia (LabVir), pela ajuda prestada nesse trabalho: Nadálin, Matheus Lopes, Matheus Frühauf, Leonardo, Tamires e Amanda. Aos nossos funcionários Cloé, Zeca, meu querido amigo Paulo e a nossa querida “Dona Márcia”. Aos Professores, Sílvia, Marcelo e Gilberto, obrigada pela troca de conhecimento. Em especial nossa Iniciação Científica (IC), Lariane Barcelos, minha querida companheira de trabalho, seu auxílio foi fundamental na execução do projeto, obrigada “Planilha girl”, você merece o mundo. Obrigada a todos por criarem um ambiente de trabalho agradável, harmonioso e feliz.

Ao amigo e parceiro José Dominguez, por ter “aberto as porteiras” da fazenda literalmente, para que eu pudesse realizar os experimentos. Aos funcionários da fazenda, Ariano e Ana, obrigada pela ajuda e receptividade. Gratidão define.

Aos meus os pais, Nelson e Neiva, por todo amor e incentivo durante esses anos de estudos. Eles sempre me incentivaram a lutar pelos meus sonhos e hoje eles estão junto de Deus, e sempre serão luz que ilumina minha vida.

As minhas irmãs Juliana, Daiane, Carolina e Camila, por estarem sempre presentes, e por todo o amor e companheirismo que me é dado. Aos meus sobrinhos Arthur, Murilo e Olívia, pelo amor excepcional recíproco.

Ao meu namorado Renan, obrigada pelo apoio, carinho e por me incentivar a lutar e não desistir dos meus sonhos e objetivos. Obrigada ser meu porto seguro.

Ao meu querido amigo Marcos Ferreira, não tenho palavras para agradecer toda ajuda. Meu amigo de alma, obrigada pela amizade e toda a ajuda que sempre me foi dada. Você é minha inspiração profissional e ser humano, você é luz. E ao Professor Fabricio Conceição e sua equipe por ter disponibilizado toda estrutura do Laboratório 6 para que eu pudesse realizar o presente trabalho, muito obrigada Professor.

A toda a equipe do CDTec da UFPEL, em especial ao Laboratório 4 do querido e excelente profissional, Prof. Fábio Leite, e aos Laboratórios 3 e 7, pela troca de conhecimento diários, sucesso a todos!

Obrigada a todos!

Resumo

PETER, Cristina Mendes. **Desenvolvimento e imunogenicidade de uma vacina de aplicação intravaginal contra o *alpha*herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de *Escherichia coli* (rLTB).** 2021. 81f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

O sistema imune de mucosa representa a barreira inicial frente a diversos patógenos que utilizam estas superfícies como porta de entrada no organismo, como é o caso dos *alpha*herpesvírus bovinos (BoHV). Estes vírus utilizam as mucosas, principalmente nasal e genital, como ponto inicial de replicação, seguido de disseminação local, viremia e disseminação neuronal. Devido à grande importância das vias mucosas na transmissão dos BoHV, torna-se evidenciado o interesse no desenvolvimento de vacinas que propiciem imunidade de mucosa contra estes vírus. No presente estudo, 63 fêmeas bovinas da raça Braford foram divididas em sete grupos de nove animais e foram inoculadas por via intravaginal com BoHV-5 inativado, associado à subunidade B recombinante da enterotoxina termolábil de *E. coli* (rLTB) como segue: G1 (2-hidroxietilcelulose + BoHV-5 + rLTB), G2 (2-hidroxietilcelulose + BoHV-5), G3 (Poloxâmero 407 + BoHV-5 + rLTB), G4 (Poloxâmero 407 + BoHV-5), G5 (BoHV-5 + rLTB), G6 (Controle negativo) e G7 (Controle positivo). A resposta humoral local e sistêmica induzida nos animais inoculados foi mensurada através do teste ELISA indireto (IgA e IgG) e de soroneutralização, e a resposta celular por ELISA direto quantitativo (IL-2 e IFN-Gama). Como resultados, na mucosa vaginal, o grupo intramuscular, G5 proporcionou os maiores níveis de IgG, os grupos experimentais com polímeros (G1 e G3) demonstraram-se superiores estatisticamente ($p < 0,01$), em relação ao grupo controle positivo (G7), assim como, com relação aos níveis de IgA observados na mucosa vaginal aos 30, 60 e 90 dias após a primeira inoculação. Os grupos G1 e G3 também proporcionaram títulos superiores de anticorpos neutralizantes (\log_2) em relação aos demais tratamentos ($p < 0,01$) 90 dias pós inoculação, demonstrando a eficiência dos polímeros testados como sistema de entrega do antígeno. Já na mucosa nasal, houve incremento dos níveis de IgA e IgG com o uso das vacinas dos grupos G1 e G3, em relação ao controle positivo, G7 ($p < 0,05$) aos 60 e 90 dias após a primeira inoculação, o que enfatiza a forte relação entre os sistemas de mucosa. A inoculação das vacinas experimentais também resultou em aumento nos níveis de IgA e IgG no soro dos animais, mensurado por ELISA indireto, além de apresentarem títulos de anticorpos neutralizantes aos 60 e 90 dias, detectados através de soroneutralização. Os maiores títulos de anticorpos neutralizantes foram proporcionados pelo grupo G5 (sem polímeros e intramuscular). A vacina intravaginal demonstrou-se capaz de incrementar os níveis de IgA e IgG e

de interleucinas no soro e nas mucosas nasal e vaginal dos bovinos imunizados. Estes dados comprovam a capacidade da vacina de aplicação intravaginal em bovinos em estimular uma resposta imune local e sistêmica, além de corroborar a atividade imunoestimulante, em mucosas, da rLTB. Deste modo, esta via de administração de vacinas torna-se uma alternativa promissora, principalmente quando se objetiva gerar proteção local contra patógenos que utilizam as superfícies mucosas como porta de entrada no organismo.

Palavras-chave: imunidade de mucosas; vacina intravaginal; BoHV-5; sistemas de entrega; rLTB.

Abstract

PETER, Cristina Mendes. **Development and immunogenicity of a vaccine for intravaginal application against bovine alphaherpesvirus type 5 (BoHV-5) associated with a recombinant B subunit of the *Escherichia coli* thermolabile enterotoxin (rLTB)**. 2021. 81f. Thesis (Doctorate in Sciences) - Veterinary Graduate Program, Faculty of Veterinary Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

The mucosal immune system represents the initial barrier against several pathogens that use these surfaces as a gateway into the body, as is the case with bovine alphaherpesviruses (BoHV). These viruses use mucous membranes, mainly nasal and genital, as the initial point of replication, followed by local dissemination, viremia and neuronal dissemination. Due to the great importance of mucous pathways in the transmission of BoHV, it is evident the interest in the development of vaccines that provide mucosal immunity against these viruses. In the present study, 63 Braford bovine females were divided into seven groups of nine animals and were inoculated intravaginally with inactivated BoHV-5, associated with the recombinant B subunit of the *E. coli* thermolabile enterotoxin (rLTB) as follows: G1 (2-hydroxyethylcellulose + BoHV-5 + rLTB), G2 (2-hydroxyethylcellulose + BoHV-5), G3 (Poloxamer 407 + BoHV-5 + rLTB), G4 (Poloxamer 407 + BoHV-5), G5 (BoHV-5 + rLTB), G6 (Negative control) and G7 (Positive control). The local and systemic humoral response induced in the inoculated animals was measured using the indirect ELISA test (IgA and IgG) and serum neutralization, and the cellular response by direct quantitative ELISA (IL-2 and IFN-Gamma). As a result, in the vaginal mucosa, the intramuscular group, G5 provided the highest levels of IgG, the experimental groups with polymers (G1 and G3) were statistically superior ($p < 0.01$), compared to the positive control group (G7), as well as, regarding the IgA levels observed in the vaginal mucosa at 30, 60 and 90 days after the first inoculation. Groups G1 and G3 also provided higher titers of neutralizing antibodies (\log_2) in relation to the other treatments ($p < 0.01$) 90 days after inoculation, demonstrating the efficiency of the tested polymers as an antigen delivery system. In the nasal mucosa, there was an increase in the levels of IgA and IgG with the use of vaccines in groups G1 and G3, in relation to the positive control, G7 ($p < 0.05$) at 60 and 90 days after the first inoculation, which emphasizes the strong relationship between mucosal systems. The inoculation of experimental vaccines also resulted in an increase in the levels of IgA and IgG in the serum of the animals, measured by indirect ELISA, in addition to presenting neutralizing antibody titers at 60 and 90 days, detected through serum neutralization. The highest titers of neutralizing antibodies were provided by the G5 group (without polymers and intramuscular). The intravaginal vaccine has been shown to increase the levels of IgA and IgG and interleukins in the serum and in the nasal and vaginal mucosa of immunized cattle. These data prove the capacity of the vaccine for intravaginal application in cattle to stimulate a local and systemic immune response, in addition to corroborating the immunostimulating activity

in mucous membranes of rLTB. Thus, this route of administration of vaccines becomes a promising alternative, especially when the objective is to generate local protection against pathogens that use mucous surfaces as a gateway to the organism.

Keywords: mucosal immunity; intravaginal vaccine; BoHV-5; delivery systems; rLTB.

Referências

ABBAS, A. K.; TROTTA, E.; SIMEONOV, D. R.; MARSON, A.; BLUESTONE, J. A. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. **Science Immunology**, v.3, p.1-8, 2018.

AGUILAR, J. C.; RODRÍGUEZ, E. G. Vaccine adjuvants revisited. **Vaccine**, v.25, p.3752–3762, 2007.

AGREN, L. C.; EKMAN, L.; LOWENADLER, B.; NEDRUD, J. G.; LYCKE, N. Y. Adjuvant activity of the cholera toxin A1-based gene protein, CTA1-DD, is critically dependent on the ADP-ribosyl transferase and Ig-binding activity. **Journal of Immunology**, v.162, p.2432-2440, 1999.

AKHIANI, A. A.; NILSSON, L. A.; OUCHTERLONY, O. Effect of cholera toxin on vaccine-induced immunity and infection in murine schistosomiasis mansoni. **Infection and Immunity**, v.61, p.4919-4924, 1993.

AMINI, Y.; TEBIANIAN, M.; MOSAVARI, N.; RAMANDI, M. F.; EBRAHIMI, S. M.; NAJMINEJAD, H.; DABAGHIAN, M.; ABDOLLAHPOUR, M. Development of an effective delivery system for intranasal immunization against Mycobacterium tuberculosis ESAT-6 antigen. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v.45, n.2, p.291-96, 2016.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000. 568p.

AZIZI, A.; GHUNAIMA, H.; DIAZ-MITOMAA, F.; MESTECKY, J. Mucosal HIV vaccines: A holy grail or a dud? **Vaccine**, v.28, 2010.

BAHNEMANN, H. G. Binary ethylenimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. **Archives of Virology**, p. 47-56, 1975.

BASSET, C.; THIAM, F.; DI MARTINO, C.; HOLTON, J.; CLEMENTS, J. D.; KOHLI, E. Cholera-Like Enterotoxins and Regulatory T cells. **Toxins**, v.2, p.1774-1795, 2010.

BERGQUIST, C.; JOHANSSON, E. L.; LAGERGARD, T.; HOLMGREN, J.; RUDIN, A. 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**, v.65, p.2676-2684, 1997.

BERNASCONI, V.; NORLING, K.; BALLY, M.; HÖÖK, F.; LYCKE, N.Y. Mucosal Vaccine Development Based on Liposome Technology. **Journal of Immunology Research**, p.1-16, 2016.

BOBBALA, S.; GIBSON, B.; GAMBLE, A. B.; MCDOWELL, A.; HOOK, S. Poloxamer 407-chitosan grafted thermoresponsive hydrogels achieve synchronous and sustained release of antigen and adjuvant from single-shot vaccines. **Immunology and Cell Biology**, v.96, n.6, p.656–665, 2018.

BOYAKA, P. N. Inducing Mucosal IgA: A Challenge for Vaccine Adjuvants and Delivery Systems. **Journal of Immunology**, v.199, p.9-16, 2017.

BRANDTZAEG, P. Induction of secretory immunity and memory at mucosal surfaces. **Vaccine**, v.25, p.5467-5484, 2007.

BRANDTZAEG, P.; JOHANSEN, F. E. Mucosal B cells: phenotypic characteristics, transcriptional regulation, and homing properties. **Immunological Reviews**, v.206, p.32-63, 2005.

CAMPBELL, D. J.; DEBES, G. F.; JOHNSTON, B.; WILSON, E.; BUTCHER, E. C. Targeting T cell responses by selective chemokine receptor expression. **Seminars in Immunology**, v.15, p.277-286, 2003.

CAMPOS, F. S.; DEZEN, D.; ANTUNES, D. A.; SANTOS, H. F.; ARANTES, T. S.; CENCI, A.; GOMES, F.; LIMA, F. E. S.; BRITO, W. M. E. D.; FILHO, H. C. K.; BATISTA, H. B. C. R.; SPILKI, F. R.; FRANCO, A. C.; RIJSEWIJK, F. A. M.; ROEHE, P. M. Efficacy of an inactivated, recombinant bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) vaccine. **Veterinary Microbiology**, v.148, n.1, p.18-26, 2011.

CAMPOS, F. S.; FRANCO, A. C.; HÜBNER, S. O.; OLIVEIRA, M. T.; SILVA, A. D.; ESTEVES, P. A.; ROEHE, P. M.; RIJSEWIJK, F. A. M. High prevalence of co-infections with bovine herpesvirus 1 and 5 found in cattle in southern Brazil. **Veterinary Microbiology**, v.139, p.67–73, 2009.

CASCIO, K. E.; BELKNAP, E. B.; SCHULTHEISS, P. C.; AMES, A. D.; COLLINS, J. K. Encephalitis induced by bovine herpesvirus 5 and protection by prior vaccination or infection with bovine herpesvirus 1. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.11, p.134–149, 1999.

CAZOTE, A. S. **Caracterização de linfócitos inatos humanos na associação HIV/TB: implicações na imunopatogênese da tuberculose extrapulmonar em sua forma ganglionar**. 2018. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

CHASE, C. C.; FULTON, R. W.; O'TOOLE, D.; GILLETTE, B.; DALY, R. F.; PERRY, G.; CLEMENT, T. Bovine herpesvirus 1 modified live virus vaccines for cattle reproduction: Balancing protection with undesired effects. **Veterinary microbiology**, v.206, p.69-77, 2017.

CONCEIÇÃO, F. R.; MOREIRA, A. N.; DELLAGOSTIN, O. A. A recombinant chimera composed of R1 repeat region of *Mycoplasma hyopneumoniae* P97 adhesin with *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin B subunit elicits immune response in mice. **Vaccine**, v.24, p.5734-43, 2006.

CRUVINEL, W. D. M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. D.; SILVA, N. P. D.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.4, 434-447, 2010.

CRUZ, R. H. **Interação entre anticorpos específicos e células dendríticas de pacientes alérgicos**. 2018. 90f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

DAGALP, S. B.; FARZANI, T. A.; DOGAN, F.; ALKAN, F.; OZKUL, A. Molecular and antigenic characterization of bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) strains from cattle with diverse clinical cases in Turkey. **Tropical Animal Health and Production**, v.52, p.555-564, 2020.

DE HAAN, L.; VERWEIJ, W. R.; FEIL, I. K.; HOLTROP, M.; HOL, W. G. J.; AGSTERIBBE, E.; WILSCHUT, J. Role of GM1 binding in the mucosal immunogenicity and adjuvant activity of the *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin and its B subunit. **Immunology** v.94, p.424-30, 1998.

DE HAAN, L.; VERWEIJ, W. R.; HOLTROP, M.; BRANDS, R.; VAN SCHARRENBURG, G. J. M.; PALACHE, A. M.; AGSTERIBBE, E.; WILSCHUT, J. Nasal or intramuscular immunization of mice with influenza subunit antigen and the B subunit of *Escherichia coli* heat-labile toxin induces IgA- or IgG-mediated protective mucosal immunity. **Vaccine**, v.19, p.2898-2907, 2001.

DELHON, G.; MORAES, M. P.; LU, Z.; AFONSO, C. L.; FLORES E. F.; WEIBLEN, R.; KUTISH, G. F.; ROCK, D. L. Genome of bovine herpesvirus 5. **Journal of Virology**, v.77, p.10339-10347, 2003.

DEL MÉDICO ZAJAC, M. P.; LADELFA, M. F.; KOTSIAS, F.; MUYLKENS, B.; THIRY, J.; THIRY, E.; ROMERA, S. A. Biology of bovine herpesvirus 5. **The Veterinary Journal**, v.184, p.138–145, 2010.

DEL MÉDICO ZAJAC, M. P.; PUNTEL, M.; ZAMORANO, P. I.; SADIR, A. M.; ROMERA, S. A. BHV-1 vaccine induces cross-protection against BHV-5 disease in cattle. **Research in Veterinary Science**, v.81, p.327-334, 2006.

DEL MEDICO ZAJAC, M. P.; ZANETTI, F. A.; ESUSY, M. S.; FEDERICO, C. R.; ZABAL, O.; VALERA, A. R.; CALAMANTE, G. Induction of both local immune response in mice and protection in a rabbit model by intranasal immunization with modified vaccinia Ankara virus expressing a secreted form of bovine herpesvirus 1 glycoprotein D. **Viral immunology**, v.30, n.1, p.70-76, 2017.

DI TOMMASO, A.; PIZZA, M.; RAPPUOLI, R.; ABRIGNANI, S.; DOUCE, G.; DE MAGISTRIS, M. T. Induction of antigen-specific antibodies in vaginal secretions by using a nontoxic mutant of heat-labile enterotoxin as a mucosal adjuvant. **Infection and Immunity**, v.64, p.974-979, 1996.

DIAZ-DINAMARCA, D. A.; MANZO, R. A.; SOTO, D. A.; AVENDAÑO-VALENZUELA, M. R.; BASTIAS, D. N.; SOTO, P. I.; ESCOBAR, D. F.; VASQUEZ-SAEZ, V.; CARRIÓN, F.; PIZARRO-ORTEGA, M. S.; WILSON, C. A. M.; BERRIOS, J.; KALERGIS, A. M.; VASQUEZ, A. E. Surface Immunogenic Protein of Streptococcus Group B is an Agonist of Toll-Like Receptors 2 and 4 and a Potential Immune Adjuvant. **Vaccines**, v.8, p.1-13, 2020.

DHAKAL, S.; RENU, S.; GHIMIRE, S.; LAKSHMANAPPA, Y. S.; HOGSHEAD, B. T.; FELICIANO-RUIZ, N.; LU, F.; HOGENESCH, H.; KRAKOWKA, S.; WON LEE, C.; RENUKARADHYA, G. J. Mucosal immunity and Protective efficacy of intranasal inactivated influenza Vaccine is improved by chitosan nanoparticle Delivery in Pigs. **Frontiers in Immunology**, v.9, p.1-18, 2018.

D'OFFAY, J. M.; EBERLE, R.; FULTON, R. W.; KIRKLAND, P. D. Complete genomic sequence and comparative analysis of four genital and respiratory isolates of bovine herpesvirus subtype 1.2b (BoHV-1.2b), including the prototype virus strain K22. **Archives of Virology**, v.161, ed.11, p.3269–3274, 2016.

D'OFFAY, J. M.; FULTON, R. W.; EBERLE, R.; DUBOVI, E. J.; CHASE, C. C. L. Complete genome sequence of bovine herpesvirus type 1.1 (BoHV-1.1) Los Angeles (LA) strain and its genotypic relationship to BoHV-1.1 Cooper and more recently isolated wild-type field strains. **Archives of Virology**, v.164, ed.11, p.2843-2848, 2019.

DUMORTIER, G.; GROSSIORD, J. L.; AGNELY, F.; CHAUMEIL, J. C. A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics. **Pharmaceutical Research**, v.23, n.12, p.2709-2728, 2006.

ENGELS, M.; ACKERMAN, M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. **Veterinary Microbiology**, v.53, p.3-15, 1996.

ERUME, J.; PARTIDOS, C. D. Evaluation of the LTK63 adjuvant effect on cellular immune responses to measles virus nucleoprotein. **African Health Sciences**, v.11, p.151-57, 2011.

FARIAS, T. V.; PALA, G.; DE MORAES, A. C.; PRADO, E. J. D. R.; KOTZENT, S.; DA COSTA, J. C.; PILARSKI, F. Resposta imune da mucosa cutânea de Pacus (*Piaractus mesopotamicus*) vacinados intraperitonealmente e por imersão contra aeromoniose. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v.3, p.286-288, 2016.

FAVIER, P. A.; MARIN, M. S.; MORÁN, P. E.; ODEÓN, A. C.; VERNA, A. E., PÉREZ, S. E. Latency of bovine herpesvirus type 5 (BoHV-5) in tonsils and peripheral blood leukocytes. **The Veterinary Journal**, v.202, p.134–140, 2014.

FISCHER, G.; CONCEIÇÃO, F. R.; LEITE, F. P. L.; MORAES, C. M.; FERREIRA, L. N.; VILELA, C. O.; CAETANO, C. F.; VARGAS, G. D.; HÜBNER, S. O.; VIDOR, T.; ROEHE, P. M. Recombinant *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin B subunit humoral adjuvant effect depends on dose and administration route. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.26, p.489–495, 2010.

FUJIHASHI, K.; SATO, S.; KIYONO, H. Mucosal Adjuvants For Vaccines To Control Upper Respiratory Infections In The Elderly. **Experimental Gerontology**, p. 21–26, 2014.

GALLICHAN, W. S.; ROSENTHAL, K. L. Specific secretory immune responses in the female genital tract following intranasal immunization with a recombinant Adenovirus expressing glycoprotein B of Herpes simplex virus. **Vaccine**, v.13, p.1589–1595, 1995.

GARY, E. N.; KUTZLER, M. A. Defensive Driving: Directing HIV-1 Vaccine-Induced Humoral Immunity to the Mucosa with Chemokine Adjuvants. **Journal of Immunology Research**, v.13, p.373- 388, 2018.

GOMES, R. C. **Influência etária na resposta imunológica de bezerros à vacinação intranasal**. 2018. 146f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

HAGIWARA, Y.; IWASAKI, T.; ASANUMA, H.; SATO, Y.; SATA, T.; AIZAWA, C.; KURATA, T.; TAMURA, S. Effects of intranasal administration of cholera toxin (or *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin) B subunits supplemented with a trace amount of the holotoxin on the brain. **Vaccine**, v.19, p.1652,1660, 2001.

HALFEN, D. C.; VIDOR, T.; BRAGA, F. M.; VAN DER LAAN, C. W. Imunogenicidade do herpesvírus bovino tipo 5 (bvh-5) em vacinas inativadas de diferentes formulações. **Ciência Rural**, v.30, n.5, p.851-856, 2000.

HE, B.; XU, W.; SANTINI, P. A.; POLYDORIDES, A. D.; CHIU, A.; ESTRELLA, J.; SHAN, M.; CHADBURN, A.; VILLANACCI, V.; PLEBANI, A.; KNOWLES, D. M.; RESCIGNO, M.; CERUTTI, A. Intestinal bacteria trigger T cell independent immunoglobulin A2 class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. **Immunity**, v.26, p.812-826, 2007.

HOLMGREN, J.; CZERKINSKY, C. Mucosal immunity and vaccines. **Nature Reviews Immunology**, v.11, n.4, p.545-53, 2005.

ICTV - International Committee on Taxonomy of Viruses. 2019. Disponível em <<https://talk.ictvonline.org/>> Acessado em 05 de janeiro de 2021.

JOHN, D. C.; ELIZABETH, B. N. The Mucosal Vaccine Adjuvant LT(R192G/L211A) or dmLT. **mSphere**, v.25, p.215-18, 2018.

JONES, C.; CHOWDHURY, S. 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. **Animal Health Research Reviews**, v.8, ed.2, p.187-205, 2008.

JONES, D. I.; POLLARA, J. J.; JOHNSON-WEAVER, B. T.; LABRANCHE, C. C.; MONTEFIORI, D. C.; PICKUP, D. J.; PERMAR, S. R.; ABRAHAM, S. N.; MADDALONI, M.; PASCUAL, D. W.; STAATS, H. F. Optimized Mucosal Modified Vaccinia Virus Ankara Prime/Soluble gp120 Boost HIV Vaccination Regimen Induces Antibody Responses Similar to Those of an Intramuscular Regimen. **Journal of Virology**, v.93, n.4, p.1-26, 2019.

JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. R.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; CRUVINEL, W. M. & ANDRADE L.E.C. Immune System - Part II Fundamentals of T and B lymphocyte-mediated immune response. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, p.552-80, 2010.

KELSALL, B. L.; VINEY, J.; GARSIDE, P. Welcome to the fourth year of Mucosal Immunology! **Nature**, v.4, 2011.

KIM, Y. M.; JIN-A, L.; JUNG, B. G.; KIM, T. H.; LEE, B. J.; SUH, G. H. Reference ranges of hematology and lymphocyte subsets in healthy Korean native cattle (*Hanwoo*) and Holstein dairy cattle. **Animal Science Journal**, v.87, p.796-801, 2016.

KIM, M.; YI, E.; KIM, Y.; KIM, S. H.; JUNG, Y. S.; KIM, S. R.; IWAWAKI, T.; KO, H.; CHANG, S. ERdj5 in innate immune cells is a crucial factor for the mucosal adjuvant activity of cholera toxin. **Frontiers in immunology**, v.10, p.1249, 2019.

KIRKLAND, P. D.; POYNTING, A. I.; GU, X.; DAVIS, R. J. Infertility and venereal disease in cattle inseminated with semen containing bovine herpesvirus type 5. **Veterinary Record**, v.165, p.111–113, 2009.

KRAAN, H.; PETER, S.; AMORIJ, J. P.; KERSTEN, G. Intranasal and sublingual delivery of inactivated polio vaccine. **Vaccine**, v.35, p.2647-2653, 2017.

KUNKEL, E. J.; BUTCHER, E. C. Plasma-cell homing. **Nature Reviews Immunology**, v.3, p.822-829, 2003.

KURASHIMA, Y.; KIYONO H. Mucosal Ecological Network of Epithelium and Immune Cells for Gut Homeostasis and Tissue Healing. **Annual Review of Immunology**, v.35, p.119-147, 2017.

LAIRD, D. T.; SUN, Y.; REINEKE, K. F.; SHIEH, Y. C. Effective hepatitis A virus inactivation during low-heat dehydration of contaminated green onions. **Food Microbiology**, v.28, n.5, p.998-1002, 2011.

LEITE, F.; ATAPATTU, D.; KUCKLEBURG, C.; SCHULTZ, R.; CZUPRYNSKI, C. J. Incubation of bovine PMNs with conditioned medium from BoHV-1 infected peripheral blood mononuclear cells increases their susceptibility to *Mannheimia haemolytica* leukotoxin. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.130, p.187-93, 2005.

LEUNG, S.T.; DERECKA, K.; MANN, G.E.; FLINT, A. P. F.; WATHES, D.C. Uterine lymphocyte distribution and interleukin expression during early pregnancy in cows. **Journal of reproduction and fertility**, v.119, p.25-33, 2000.

LYCKE, N. Recent progress in mucosal vaccine development: potential and limitations. **Nature Reviews Immunology**, v.12, p.592-605, 2012.

LOPES, F. A. **Resposta Imune ao parvovírus canino tipo 2 (CPV 2) em hidrogel de quitosana administrado via sublingual**. 2012. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MA, Y. Recent Advances in Nontoxic Escherichia coli Heatlabile Toxin and Its Derivative Adjuvants. **Expert Review of Vaccines**, v.15, p.1361-1371, 2016.

MCGILL, J. L.; KELLY, S. M.; KUMAR, P.; SPECKHART, S.; HAUGHNEY, S. L.; HENNINGSON, J.; NARASIMHAN, B.; SACCO, R. E. Efficacy of mucosal polyanhydride nanovaccine against respiratory syncytial virus infection in the neonatal calf. **Scientific Reports**, v.3021, p.1-15, 2018.

MACPHERSON, A. J.; MCKOY, K. D.; JOHANSEN, F. E.; BRANDTZAEG, P. The immune geography of IgA induction and function. **Mucosal Immunology**, v.1, p.11-22, 2008.

MACPHERSON, J. A.; YILMAZ, B.; LIMENITAKIS, J. P.; GANAL-VONARBURG, S. G. IgA Function in Relation to the Intestinal Microbiota. **Annual Review of Immunology**, v.36, p.359–81, 2018.

MAYR, A.; BACHMANN, P. A.; BIBRACK, B. M.; WITHMANN, G. Virologische Arbeitsmethoden - Band IV - Sicherheit bei virologischen arbeiten - **Biometrische Methoden**. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. 1982.

MESEDA, C. A.; ATUKORALE, V.; KUHN, J.; SCHMEISSER, F.; WEIR, J. P. Percutaneous Vaccination as an Effective Method of Delivery of MVA and MVAVectored Vaccines. **Plos One**, v.19, p.1-21, 2016.

MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. D.; CRUVINEL, W. D. M.; ANDRADE, L. E. C.; SILVA, N. P. D. Sistema imunitário- parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.5, p.552-580, 2010.

MILLS, K. H.; WILK, M. M. CD4 TRM cells following infection and immunization: implications for more effective vaccine design. **Frontiers in Immunology**, p.1-20, 2018.

MORRISON, L. A.; DA COSTA, X. J.; KNIFE, D. M. Influence of mucosal and parenteral immunization with a replication-defective mutant of HSV-2 on immune responses and protection from genital challenge. **Virology**, v.243, p.178-187, 1998.

MULIRA, G. S.; SAUNDERS, J. R. Immune Response of Heifers to Vaginal Submucosal or Subcutaneous Vaccination and Intravaginal Challenge with *Ureaplasma diversum*. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.58, p.109-113, 1994.

MURPHY, K. **Imunobiologia de Janeway**. 8. ed. São Paulo: Artmed, 2014. 888p.

MUYLKENS, B.; THIRY, J.; KIRTEN, P.; FRÉDÉRIC, S.; THIRY, E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. **Veterinary Research**, v.38, p.181-209, 2007.

NEUTRA, M. R.; KOZLOWSKI, P. A. Mucosal vaccines: the promise and the challenge. **Nature Publishing Group**, v.65, p.148-158, 2006.

NEWCOMER, B. W.; COFIELD, L. G.; WALZ, P. H.; GIVENS, M. D. Prevention of abortion in cattle following vaccination against bovine herpesvirus 1: A meta-analysis. **Preventive Veterinary Medicine**, v.138, p.1-8, 2017.

NOCHI, T.; YUKI, Y.; MATSUMURA, A.; MEJIMA, M.; TERAHARA, K.; KIM, D. Y.; FUKUYAMA, S.; IWATSUKI-HORIMOTO, K.; KAWAOKA, Y.; KOHDA, T.; KOZAKI, S.; IGARASHI, O.; KIYONO, H. A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. **The Journal of experimental medicine**, v.204, n.12, p.2789-2796, 2007.

NOREEN, A.; ZIA, K. M.; TABASUM, S.; KHALID, S.; SHAREE, R. A review on grafting of hydroxyethylcellulose for versatile applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.150, p.289–303, 2020.

OLIVEIRA, M. T.; CAMPOS, F. S.; DIAS, M. M.; VELHO, F. A.; FRENEAU, G. E.; BRITO, W. M.; RIJSEWIJK, F. A.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Detection of bovine herpesvirus 1 and 5 in semen from Brazilian bulls. **Theriogenology**, v.75, p.1139-1145, 2011.

OLIVEIRA, R. A. M.; LORENZETTI, E.; ALFIERI, A. A.; LISBÔA, J. A. N. 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**, v.67, n.5, p.1217-1225, 2015.

PALMA, C.; IONA, E.; GIANNONI, F.; PARDINI, M.; BRUNORI, L.; FATTORINI, L.; DEL GIUDICE, G.; CASSONE, A. The LTK63 adjuvant improves protection conferred by Ag85B DNA-protein prime-boosting vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection by dampening IFN- γ response. **Vaccine**, v.26, p.4237-4243, 2008.

PAKKANEN, S. H.; KANTELE, J. M.; MOLDOVEANU, Z.; HEDGES, S.; HÄKKINEN, M.; MESTECKY, J.; KANTELE, A. Expression of homing receptors on IgA1 and IgA2 plasmablasts in blood reflects differential distribution of IgA1 and IgA2 in various body fluids. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.17, n.3, p.393-401, 2010.

PARK, A.; HONG, P.; WON, S. T.; THIBAUT, P. A.; VIGANT, F.; OGUNTUYO, K. Y.; TAFT, J. D.; LEE, B. Sendai virus, an RNA virus with no risk of genomic integration, delivers CRISPR/Cas9 for efficient gene editing. **Molecular Therapy-Methods & Clinical Development**, v.3, p.16057, 2016.

PARR, E. L.; PARR, M. B. Immune responses and protection against vaginal infection after nasal or vaginal immunization with attenuated Herpes simplex virus type-2. **Immunology**, v.98, p.639-645, 1999.

PASTENKOS, G.; LEE, B.; PRITCHARD, S. M.; NICOLA, A. V. Bovine Herpesvirus 1 Entry by a Low-pH Endosomal Pathway. **Journal of Virology**, v.92, ed. 20, 2018.

PAVOT, V.; ROCHEREAU, N.; GENIN, C.; VERRIER, B.; PAUL, S. New insights in mucosal vaccine development. **Vaccine**, v.30, p.142– 154, 2012.

PEREZ, S.; BRETSCHNEIDER, G.; LEUNDA, M.; OSORIO, F.; FLORES, E.; ODEON, A. Primary infection, latency, and reactivation of bovine herpesvirus type 5 in the bovine nervous system. **Veterinary Pathology**, v.39, p.437–444, 2002.

PITCOVSKI, J.; BAZAK, Z.; WASSERMAN, E.; ELIAS, O.; LEVY, A.; PERETZ, T.; FINGERUT, E.; FRANKENBURG, S. Heat labile enterotoxin of E. coli: a potential adjuvant for transcutaneous cancer immunotherapy. **Vaccine**, v.24, p.636-43, 2006.

PIZZA, M.; GIULIANI, M. M.; FONTANA, M. R.; MONACI, E.; DOUCE, G.; DOUGAN, G.; MILLS, K. H.; RAPPUOLI, R.; DEL GIUDICE, G. Mucosal vaccines: non-toxic derivatives of LT and CT as mucosal adjuvants. **Vaccine**, v.19, p.2534-3541, 2001.

POSAVAD, C. M.; ZHAO, L.; DONG, L.; JIN, L.; STEVENS, C. E.; MAGARET, A. S.; JOHNSTON, C.; WALD, A.; ZHU, J.; COREY, L.; KOELLE, D. M. Enrichment of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) reactive mucosal Tcells in the human female genital tract. **Mucosal Immunology**, p.1-11, 2017.

RAAPERI, K.; NURMOJA, I.; ORRO, T.; VILTROP, A. Seroepidemiology of bovine herpesvirus 1 (BHV1) infection among Estonian dairy herds and risk factors for the spread within herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.96, p.74–81, 2010.

REICHEN, C.; DEZEN, D.; MENEGUZZI, M.; KICH, J. D. Use of flow cytometry for the evaluation of phagocytosis produced by a mucosal vaccine against *Salmonella* sp. in swine. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v.17, p.244-245, 2019.

RISSI, D. R.; PIEREZAN, F.; SILVA, M. S.; FLORES, E. F.; DE BARROS, C. S. Neurological disease in cattle in southern Brazil associated with bovine herpesvirus infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.20, 346–349, 2008.

ROCK, D. L. Latent infection with bovine herpesvirus type 1. **Seminars in Virology**, v.5, p.233-240, 1994.

RODENBUSCH, C. R.; FERREIRA, J. C.; CUNHA, D. L. B. W.; ROEHE, P. M.; SOARDI, M. A.; COSTA, E. F.; ALMEIDA, L. L. Molecular evidence of bovine

herpesvirus 1 and 5 in cattle with suspected rabies in Rio Grande do Sul state, Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2020.

ROMERO, E. L.; MORILLA, M. J. Topical and mucosal liposomes for vaccine delivery. **Wiley interdisciplinary reviews - Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v.3, p.356-375, 2011.

ROWE, R.; SHESKEY, P.; OWEN, S. **Pharmaceutical handbook of pharmaceutical excipients**. 5.ed. Washington: London UK and American Pharmaceutical Association, 2005. 850p.

SANCHEZ, M. V.; EBENSEN, T.; SCHULZE, K.; CARGNELUTTI, D.; BLAZEJEWSKA, P.; SCODELLER, E. A.; GUZMÁN, C. A. Intranasal delivery of influenza rNP adjuvanted with c-di-AMP induces strong humoral and cellular immune responses and provides protection against virus challenge. **PloS one**, v.9, n.8, 2014.

SCHMOLKA, I. K. Artificial Skin I. Preparation and Properties of Pluronic F-127 Gels for Treatment of Burn. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.6, p.571-582, 1972.

SILVESTRO, C.; BRATANICH, A.; The latency related gene of bovine herpesvirus types 1 and 5 and its modulation of cellular processes. **Archives of Virology**, v.161, p.3299-3308, 2016.

SJÖKVIST OTTSJÖ, L.; FLACH, C. F.; CLEMENTS, J.; HOLMGREN, J.; RAGHAVANA, S. A. Double Mutant Heat-Labile Toxin from *Escherichia coli*, LT(R192G/L211A), Is an Effective Mucosal Adjuvant for Vaccination against *Helicobacter pylori* Infection. **Infection and Immunity**, v.81, p.1532-1540, 2013.

SIJUN, H.; YONG, X. *Helicobacter pylori* vaccine: mucosal adjuvant & delivery systems. **Indian Journal of Medical Research**, v.130, p.115-124, 2009.

SILVA, M. S.; BRUMA, M. C. S.; LORETO, E. L. S.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Molecular and antigenic characterization of Brazilian bovine herpesvirus type 1 isolates recovered from the brain of cattle with neurological disease. **Virus Research**, v.129, n.2, p.191-199, 2007.

SILVA, A. D.; SPILKI, F. R.; FRANCO, A. C.; ESTEVES, P. A.; HÜBNER, S. O.; DRIEMEIER, D.; OLIVEIRA, A. P.; RIJSEWIJK, F. A. M.; ROEHE, P. M. Vaccination with a gE-negative bovine herpesvirus type 1 vaccine confers insufficient protection to a bovine herpesvirus type 5 challenge. **Vaccine**, v.24, n.16, p.3313-3320, 2006.

SIMMONS, C. P.; GHAEM-MAGAMI, M.; PETROVSKA, L.; LOPES, L.; CHAIN, B. M.; WILLIAMS, N. A. Immunomodulation using bacterial enterotoxins. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.53, p.218-226, 2001.

SEDGMEN, B. J.; MEEUSEN, E. N. T.; LOFTHOUSE, S. A. Alternative routes of mucosal immunization in large animals. **Immunology and Cell Biology**, v.82, p.10-16, 2004.

SHEKAR, A.; RAMLAL, S.; JEYABALAJI, J. K.; SRIPATHY, M. H. Intranasal immunization of cocktail/fusion protein containing Tir along with ΔG active fragment of Zot as mucosal adjuvant confers enhanced immunogenicity and reduces *E. coli* O157:H7 shedding in mice. **International Immunopharmacology**, v.63, p.211-219, 2018.

STEVENS, J. G. Overview of herpesvirus latency. **Seminars in Virology**, v.5, p.191-196, 1994.

TECHAWIWATTANABOON, T.; BARNIER-QUER, C.; PALAGA, T.; JACQUET, A.; COLLIN, N.; SANGJUN, N.; KOMANEE, P.; PATARAKULA, K. Comparison of Intramuscular and Subcutaneous Administration of LigA Subunit Vaccine Adjuvanted with Neutral Liposomal Formulation Containing Monophosphoryl Lipid A and QS21. **Vaccines**, v.8, p.494, 2020.

TEMPESTA, M.; CAMERO, M.; BELLACICCO, A. L.; TARSITANO, E.; LORUSSO, A.; MARTELLA, V.; DECARO, N.; DEL GIUDICE, G.; CASSONE, A.; QUARANTA, A.; BUONAVOGLIA, C. Caprine herpesvirus 1 vaccine with the LTK63 mutant as a mucosal adjuvant induces strong protection against genital infection in goats. **Vaccine**, v.25, p.7927-7930, 2007.

TERAUCHI, Y.; SANO, K.; AINAI, A.; SAITO, S.; TAGA, Y.; OGAWA-GOTO, K.; TAMURA, S.; ODAGIRI, T.; TASHIRO, M.; FUJIEDA, M.; SUZUKI, T.; HASEGAWA, H. IgA polymerization contributes to efficient virus neutralization on human upper respiratory mucosa after intranasal inactivated influenza vaccine administration. **Human Vaccines & Immunotherapeutic**, v.14, p.1351-1361, 2018.

THIAM, F.; CHARPILLENNE, A.; PONCET, D.; KOHLI, E.; BASSET, C. B subunits of cholera toxin and thermolabile enterotoxin of *Escherichia coli* have similar adjuvant effect as whole molecules on rotavirus 2/6- VLP specific antibody responses and induce a Th17-like response after intrarectal immunization. **Microbial Pathogenesis**, v.89, p.27-34, 2015.

THIRY, J.; TEMPESTA, M.; CAMERO, M.; TARSITANO, E.; MUYLKENS, B.; MEURENS, F.; THIRY, E.; BUONAVOGLIA, C. Clinical protection against caprine herpesvirus 1 genital infection by intranasal administration of a live attenuated glycoprotein E negative bovine herpesvirus 1 vaccine. **BMC Veterinary Research**, v.3, 2007.

TIZARD, I. **Imunologia Veterinaria**. 10.ed. Elsevier, 2019. 552p.

TOCHIKUBO, K.; ISAKA, M.; YASUDA, Y.; KOZUKA, S.; MATANO, K.; MIURA, Y.; TANIGUCHI, T. Recombinant cholera toxin B subunit acts as an adjuvant for the mucosal and systemic responses of mice to mucosally co-administered bovine serum albumin. **Vaccine**, v.16, n.2-3, p.150-155, 1998.

TSURUHARA, A.; ASO, K.; TOKUHARA, D.; OHORI, D. J.; KAWABATA, M.; KURONO, Y.; MCGHEE, J. R.; FUJIHASHI, K. Rejuvenation of mucosal immunosenescence by adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. **International Immunology**, v.29, p.5-10, 2017.

VAN EGMOND, M.; DAMEN, C. A.; VAN SPRIEL, A. B.; VIDARSSON, G.; VAN GARDEREN, E.; VAN DE WINKEL, J. G. IgA and the IgA Fc receptor. **Trends in Immunology**, v.22, p.205-211, 2001.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L. Pharmaceutical Applications of Polymers. **Polymers: Science and Technology**, v.20, p.51-64, 2010.

VOGEL, F. S.; CARON, L.; FLORES, E. F.; WEIBLEN, R.; WINKELMANN, E. R.; MAYER, S. V.; BASTOS, R. G. Distribution of bovine herpesvirus type 5 DNA in the central nervous systems of latently, experimentally infected calves. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, ed.16, p.4512-4520, 2003.

WELTZIN, R.; GUY, B.; THOMAS, W. D.; GIANNASCA, P. J.; MONATH, T. P. Parenteral Adjuvant Activities of *Escherichia coli* Heat-Labile Toxin and Its B Subunit for Immunization of Mice against Gastric *Helicobacter pylori* Infection. **Infection and Immunity**, v.68, n.5, p.2775-2782, 2000.

WOOF, J. M.; KERR, M. A. The function of immunoglobulin A in immunity. **Journal of Pathology**, v.208, p.270-282, 2006.

WOOF, J. M.; MESTECKY, J. Mucosal immunoglobulins. **Immunological Reviews**, v.206, p.64-82, 2005.

XING, Y.; LIU, W.; LI, X.; GUO, L.; LY, X.; XI, T. Immunogenicity characterization of the multi-epitope vaccine CTB-UE with chitosan-CpG as combination adjuvants against *Helicobacter pylori*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.462, p.1-6, 2015.

YAMANAKA, H.; ISHIBASHI, D.; YAMAGUCHI, N.; YOSHIKAWA, D.; NAKAMURA, R.; OKIMURA, N.; ARAKAWA, T.; TSUJI, T.; KATAMINE, S.; SAKAGUCHI, S. Enhanced mucosal immunogenicity of prion protein following fusion with B subunit of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. **Vaccine**, v.24, p.2815-2823, 2006.

ZHAO, X.; COULMAN, S. A.; HANNA, S. J.; WONG, F. S.; DAYAN, C. M.; BIRCHALL, J. C. Formulation of hydrophobic peptides for skin delivery via coated microneedle. **Journal of Controlled Release**, v.10, p.2-13, 2017.