

DOENÇA DE AUJESZKY: PROTEÇÃO CONFERIDA POR TRÊS VACINAS INATIVADAS¹

AUJESZKY'S DISEASE: PROTECTION GIVEN BY THREE INACTIVATED VACCINES

Alexandre da Rocha Gonçalves² Telmo Vidor³ Carlos Willi Van der Laan³
Jurij Sobestiansky⁴

RESUMO

Foi testada a eficiência de três diferentes formulações de vacina contra a doença de Aujeszky (DA). A vacina I foi formulada com antígeno em óleo com emulsão simples; a vacina II em óleo, acrescida de coadjuvante de imunidade celular e a vacina III constituída de antígeno e DEAE-dextran (DEAE-D) como adjuvante. Os testes de eficiência foram conduzidos em 48 leitões das raças Landrace e Large White, divididos em quatro grupos de 12 animais. Cada vacina foi aplicada em um grupo, ficando um como testemunha. Os leitões receberam duas doses de vacina no volume de 1ml, via intramuscular, com intervalo de 15 dias. Vinte e um dias após a segunda dose, foram desafiados com doses crescentes de vírus, log 10/ml (6,25; 7,25 e 8,25 para os vacinados e 4,25; 5,25 e 6,25 para os testemunhas) em 4 animais por diluição. As três vacinas conferiram proteção frente às diferentes concentrações de vírus utilizadas. A vacina I protegeu 96,1%, a vacina II,

90,9% e vacina III, protegeu 83,3%. Essas diferenças analisadas estatisticamente ($p < 0,05$) não foram significativas. Os animais do lote testemunha, adoeceram com o quadro da DA, apesar da menor dose de desafio. Foram realizados quatro testes em coelhos. Nenhuma das três vacinas conferiu proteção aos coelhos.

Palavras-chave: Doença de Aujeszky; vacinas inativadas.

SUMMARY

The efficacy of three different formulations of vaccines against Aujeszky's disease was tested. Vaccine I was formulated with antigen in oil, simple emulsion; vaccine II in oil, with a coadjuvant of cell immunity; vaccine III with the antigen plus DEAE-dextran (DEAE-d) as the adjuvant. Efficacy tests were conducted in 48 piglets, Landrace and Large White,

¹Parte do trabalho apresentado para a defesa de tese de Mestrado do autor em 1987.

²Professor, Mestre, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária (F.C.), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário. 96010-900 Pelotas, RS.

³Professor, Doutor, Departamento de Veterinária Preventiva, UFPel.

⁴Médico Veterinário, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisas em Suínos e Aves, EMBRAPA. 88700-000 Concórdia, SC.

divided in four groups of 12 animals. Each vaccine was applied in one group and another served as the control group. The piglets received two doses of 1ml of the vaccines, intramuscular, with 15 days interval. Twenty-one days after the second shot, the piglets were challenged with crescent doses of the virus, log 10/ml (6.25, 7.25, 8.25 for the vaccinated and 4.25, 5.25, 6.25 for the controls) and four animals per dilution. The three vaccines conferred protection against the different concentrations of virus utilized: vaccine I protected 96.1%; vaccine II 90.9% and vaccine III protected 83.3%. The differences were statistically analyzed and not significant ($p < 0.05$). The animals in the control group presented the clinical symptoms of Aujeszky's disease although they had the smallest dose in the challenge test. There were also four tests conducted with rabbits and none of the vaccines conferred protection to them.

Key words: Aujeszky's disease; inactivated vaccines.

INTRODUÇÃO

A tecnificação da produção de suínos tem favorecido a obtenção de altos índices de produtividade. Esta intensificação favoreceu igualmente o aumento da troca de microorganismos entre os animais e a facilitação do aumento da patogenicidade de diversos agentes patogênicos para a espécie. Dentre os fatores sanitários que vêm limitando a produção de leitões, encontra-se a Doença de Aujeszky (DA). Esta enfermidade é causada por um herpesvirus que atinge os sistemas respiratório, nervoso central e reprodutor dos suínos (McNUTT & ALLICE, 1942; BRAGA, 1946; BASKERVILLE et al., 1973; GUSTAFSON, 1975; MAES et al., 1983; HALL et al., 1984). Elevados índices de mortalidade, atingindo até 100% dos leitões recém-nascidos, abortos de até 50% das leitoas e porcas, natimortos, atraso no crescimento e esterilidade temporária de reprodutores, constituem os principais prejuízos causados pela virose. Nos últimos anos a DA tem apresentado incremento progressivo de surtos nos diferentes países onde ela ocorre (BASKERVILLE et al., 1973; LEUNEN et al., 1974; SKODA & JAKUBIK, 1974; GUSTAFSON, 1975; TOMA, 1980) principalmente a partir de 1974, na Europa (LEUNEN et al., 1974; SKODA & JAKUBIK, 1974; McFERRAN et al., 1979; TOMA, 1980; VIDOR, 1988). No Brasil, durante muitos anos, desde seu diagnóstico inicial, a doença ocorria de forma esporádica em suínos e bovinos (BASKERVILLE et al., 1973; JAKUBIK, 1977).

O desenvolvimento do comércio internacional favoreceu a importação de animais portadores de vírus, e a partir desse momento surgiram focos graves da doença, principalmente em Santa Catarina, Paraná, São Paulo Rio de Janeiro e Minas Gerais (SILVA & DOBEREINER, 1960; SILVA & GIOVANI, 1961; MARQUES & ROMERO, 1986; ROMERO et al., 1986).

Diverso tem sido o comportamento das autoridades sanitárias, visando o controle da doença. O progressivo número de focos e a melhoria da qualidade das vacinas, induziram países a incluir a vacinação em seu esquema de controle da DA (McFERRAN et al., 1979; THAWLEY et al., 1982; BRUN et al., 1984; WITTMANN, 1984; VANNIER, 1986; VIDOR, 1988). Diversos trabalhos (SKODA & WHITTMANN, 1973; GUTEKUNST & PIRTLE, 1979; McFERRAN et al., 1979/1983; BRUN et al., 1984; LAI et al., 1984; OIRSHOT et al., 1984) demonstraram a eficiência das vacinas inativadas e sua capacidade de controlar as perdas econômicas dos criadores.

No presente trabalho são relatados resultados obtidos em teste de eficiência em suínos, de três vacinas inativadas contra a DA.

Na busca de alternativas de substituição dos suínos para os testes de eficiência das vacinas contra a DA e à luz dos resultados obtidos por JAKUBIK (1977/1979), que apontam o coelho como a espécie indicada para substituir o suíno, levaram a realização de testes de eficiência em coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivos celulares

Foi utilizada a linhagem de células renais de coelho (RK 13) em sua 25ª passagem, cultivadas em garrafas de Roux, garrafas cilíndricas rotativas e microplacas. As células foram repicadas sempre que necessário, na proporção de 1:3, utilizando-se na tripsinização, Salina-Tripsina-Versene (STV) e crescidas em meio Eagle-MEM adiconado de 10% de soro caprino, antibióticos e fungizone. O meio utilizado para a manutenção e produção de vírus foi o mesmo, sem o soro de cabra.

Vírus

Foi utilizada a amostra "NP", de origem bovina (BAUER, 1966), multiplicada em célula RK13, para a produção das vacinas e a amostra "HL-82", isolada de surto grave em suínos, para os testes de desafio. Esta amostra possui elevada patogenicidade para o

suíno na dose de $\log 10^{7.0}$, Dose Infectante Cultivo Celular 50%/ml (DICC 50%/ml) infectados por via intranasal. O antígeno para elaboração das vacinas foi obtido pela coleta do meio quando o efeito citopático (ECP) atingia 100% do cultivo em garrafas rotativas. Após congelamento e descongelamento as suspensões foram clarificadas por centrifugação (3000rpm por 5min) e por filtração (Seitz-US-800) e estocadas à temperaturas de -70°C , durante os testes bacteriológicos e titulação. Esta foi feita pelo método de diluição em microplacas de fundo chato e incubadas em ambiente de CO_2 a 37°C (GONÇALVES, 1987).

Inativação

A suspensão utilizada apresentou título de $\log 10^{8.25\text{ml}}$ e foi inativada conforme parâmetros de inativação determinados em experimento piloto com betapropiolactona (BPL) (LOGRIPPO & HARTMANN, 1955), em tampão fosfato ($\text{NaCl} = 85\text{g}$; $\text{KCl} = 0,2\text{g}$; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 1,2\text{g}$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 0,2\text{g}$; $\text{EDTA-Na}_2 = 0,2\text{g}$; H_2O q s p 1000ml, $\text{pH} = 7,3$). Os parâmetros foram: Temperatura 37°C ; $\text{pH} = 7,3$; Concentração BPL = 1:2000; Tempo = 16 horas. O controle da atividade do vírus foi feito em células, durante o qual a suspensão aguardou em refrigeração ($4-6^{\circ}\text{C}$).

Vacinas

A partir da mesma suspensão inativada foram formuladas três vacinas. Duas emulsificadas em óleo (HERBERT, 1976; RIVENSON, 1979; VANNIER, 1986) e uma com Dietilaminoetil Dextran (DEA-E-D), segundo descrição de SKODA & WITTMANN, 1973). As vacinas foram assim formuladas:

Vacina I: suspensão de vírus 40%; adjuvante oleoso 60% (90% de Marcol 52; 10% de Montanide 888).

Vacina II: suspensão de vírus 40%; adjuvante oleoso 60%; extrato seco de *Corynebacterium parvo* (CBP) - 0,65mg/ml, 10% de Montanide 888.

Vacina III: Suspensão de vírus: 75%; DEAE-D-25%.

Antes de serem utilizadas nos suínos, as vacinas foram testadas quanto à esterilidade, coesão da gota, condutibilidade elétrica e estabilidade da emulsão (7 dias a 37°C).

Suínos

Quarenta e oito leitões de raça Landrace e Large White receberam a 1ª dose de vacina, 1ml via intramuscular, aos 15 dias de vida e 15 dias após a segunda dose de igual volume. Os leitões foram divididos em quatro lotes de 12. Três lotes foram vacinados com as vacinas I, II ou III. O quarto lote permaneceu sem vacina, como testemunha. Vinte e um dias após a 2ª dose, os lotes de 12 animais vacinados com cada vacina foram subdivididos em três lotes de 4 animais para efeito de desafio com títulos crescentes de vírus, no volume de 1ml, via intranasal, conforme mostra a Tabela 1.

Durante 21 dias após o desafio, os animais permaneceram em isolamento, ao fim dos quais todos os sobreviventes foram necropsiados e cremados. O controle da temperatura retal foi realizado, todas as manhãs, uma vez por dia durante os 14 dias seguintes após o desafio.

Os animais que não apresentaram sintomas respiratórios e nervosos, foram considerados protegidos pelas vacinas, sendo que os não protegidos apresentaram o quadro respiratório e nervoso da DA.

Coelhos

Sessenta e quatro coelhos foram alojados em gaiolas com divisões individuais, divididos em quatro grupos de 16. Três grupos receberam duas doses de 1ml, via intramuscular, das vacinas I, II e III, com um intervalo de 14 dias entre elas. Vinte e um dias após a 2ª dose foi feito o desafio com $\log^{2, 3, 4 \text{ e } 5}$ DICC 50%/ml, via subcutânea, utilizando 4 coelhos por diluição, nos animais vacinados e no grupo controle. Este experimento foi repetido quatro vezes. O aparecimento dos sintomas da DA, bem como a morte dos animais foi atribuída à falta de proteção vacinal.

Tabela 1. Esquema de divisão dos lotes por vacina e por desafio.

Grupo	Títulos do vírus expresso em $\log 10/\text{ml}$					Total
	4,25	5,25	6,25	7,25	8,25	
Vacina I	0*	0	4	4	4	12
Vacina II	0	0	4	4	4	12
Vacina III	0	0	4	4	4	12
Testemunhas	4	4	4	0	0	12

* Número de animais desafiados.

RESULTADOS

A proteção conferida aos suínos pelas três vacinas utilizadas, pode ser observada pelos resultados apresentados na Tabela 2. Pode-se verificar que dos 12 animais vacinados com a vacina I, somente um

não foi protegido, mesmo na dose mais baixa de desafio. Dos 11 animais vacinados com a vacina II, 10 foram protegidos. Já a vacina III, protegeu 10 dos 12 animais vacinados. Estes dados conferem percentuais de proteção de 91,6; 90,9 e 83,3% para as vacinas I, II e III, respectivamente. Entretanto, submetendo este resultado ao teste quiquadrado, não foi possível demonstrar diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as três vacinas.

Tabela 2. Proteção conferida a suínos, por três vacinas inativadas (desafio com doses crescentes de vírus).

Grupos	Dose de desafio (log 10 DICC 50%/ml)					Total	%
	4,25	5,25	6,25	7,25	8,25		
Vacina I	-	-	3/4*	4/4	4/4	11/12	91,6
Vacina II	-	-	3/3	4/4	3/4	10/11	90,9
Vacina III	-	-	4/4	3/4	3/4	10/12	83,3
Testemunha	0/4	0/4	0/4	-	-	0/12	0,0

* Protegidos / Desafiados
- não testado

Embora tenham recebido dose de desafio mais baixa, todos os suínos do grupo testemunha apresentaram sintomatologia respiratória da DA. Destes, somente nove apresentaram sintomas nervosos, três vieram a morrer e seis recuperaram-se a partir do 12º dia após o desafio.

A curva térmica obtida pela média da temperatura diária dos animais testemunhas, já no primeiro dia após o desafio, mostrou manifestação febril, com valores mais elevados entre o 4º e 5º dia, atingindo a temperatura máxima (média) de 41°C, declinando, no 7º dia como mostra a Figura 1. Observando-se as curvas térmicas dos animais vacinados, constata-se que o grupo vacinal I, comportou-se de forma similar ao testemunha, iniciando o pique febril 24h após o desafio, entretanto, o pique (média) foi de 40,8°C para o grupo vacinado. Tanto o grupo da vacina I, II e testemunha atingiram o pique térmico entre o 3º e 5º dia, enquanto o grupo da vacina III, entre o 2º e 4º dia. As médias de temperatura mais elevadas foram de 40,8°C; 40,7°C e 41°C para os grupos das vacinas I, II, III e grupo testemunha, respectivamente. A duração do período febril foi de 7 dias para a vacina I, seis dias para a vacina II e testemunha e de cinco dias para a vacina III. Comparando os quatro grupos, percebe-se que, dos três grupos vacinados, o que apresentou

menor pique térmico e menor período febril, foi o grupo da vacina III.

Os quatro experimentos realizados em coelhos mostraram que não houve desenvolvimento de imunidade suficiente para resistir as doses de desafio utilizadas ($\log 10^{2,3,4,5}$ DICC 50%/ml). Dos 256 coelhos vacinados, somente um foi capaz de resistir ao desafio com 1000 DICC 50%/ml.

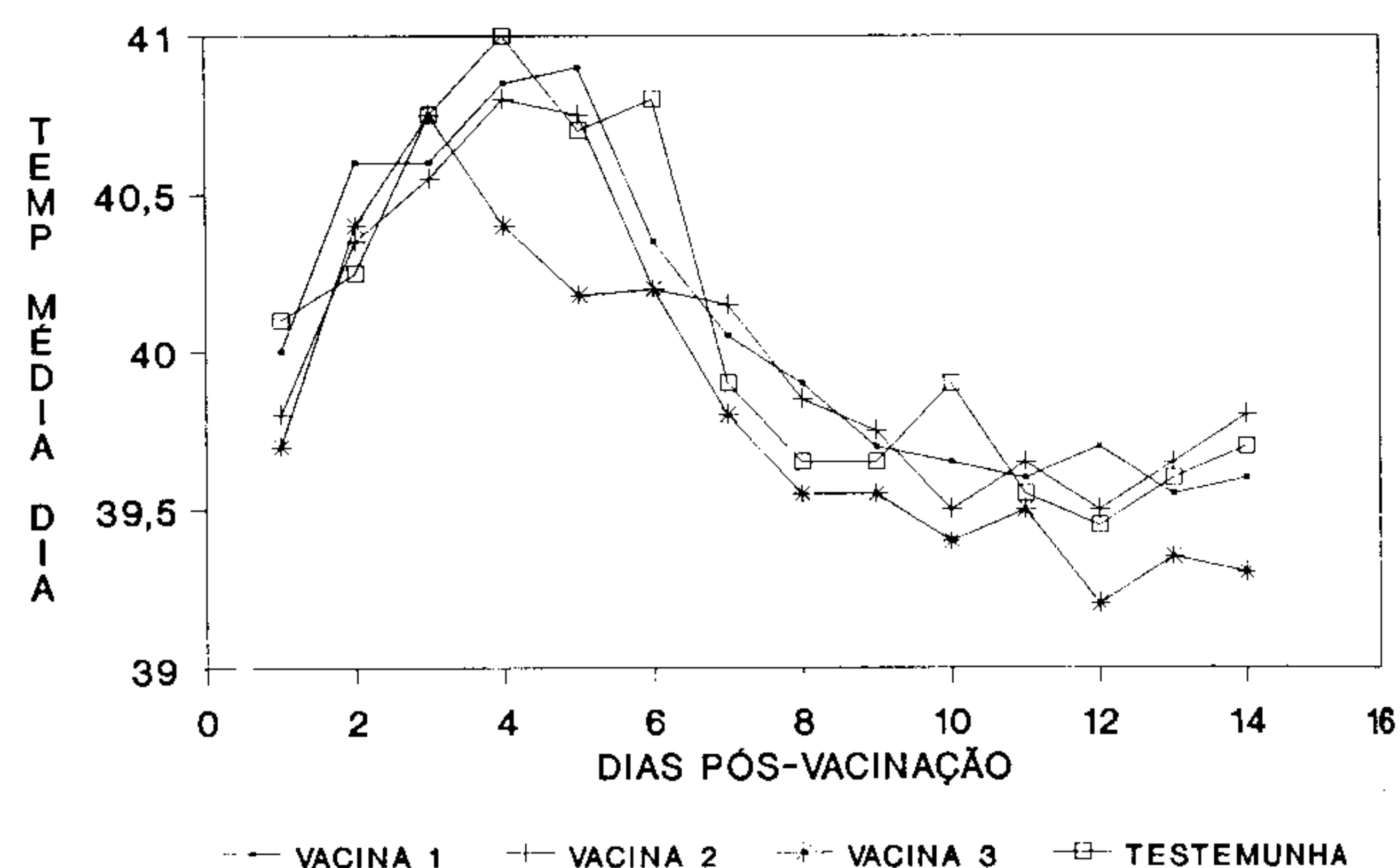


Figura 1. Médias diárias de temperatura de grupos de suínos inoculados com três vacinas e testemunha após o desafio.

DISCUSSÃO

No desenvolvimento do teste de eficiência foram utilizadas doses crescentes de vírus que variaram de $\log 10^{6,25}$ a $\log 10^{8,25}$ DICC 50%/ml.

Títulos similares foram empregados por SKODA & WITTMANN (1973) e LAI et al. (1984), entretanto os títulos virais eliminados por suínos quando acometidos pela DA, segundo os relatos de GUSTAFSON (1975), DONALDSON et al. (1983), LAI et al. (1984), OHLINGER & WITTMANN (1984) são inferiores aos empregados neste teste.

Outros autores (McFERRAN et al., 1979; MAES et al., 1983; WRIGHT et al., 1984) realizaram inoculações experimentais com doses infectantes bem inferiores as do teste.

Com base na bibliografia e preocupados em valorizar a proteção conferida pelas vacinas empregamos títulos de desafio mais altos que no grupo testemunha ($\log 10^{4,25}$ a $\log 10^{6,25}$). Mesmo com dose de desafio mais baixa, todos os suínos adoeceram.

Os resultados obtidos com as vacinas oleosas e DEAE-D, protegendo contra altas doses de desafio, confirmam os resultados obtidos por SKODA & WITTMANN (1973) e RIVENSON (1979), de que esses tipos de vacinas são altamente eficientes. De maneira

geral, as vacinas oleosas têm apresentado um bom desempenho na proteção de suínos nos diferentes países onde são utilizadas (McFERRAN et al., 1979/1983; WITTMANN, 1984). Alguns trabalhos (McFERRAN et al., 1979; WITTMANN, 1984) demonstraram que as vacinas oleosas são tão eficientes quanto as vacinas produzidas com vírus vivo modificado.

O aparecimento de período febril em animais vacinados, comprova relatos de outros pesquisadores (LÜTTICKEN et al., 1983; HALL et al, 1984; LAI et al., 1984; OIRSCHOT & LEEUW, 1984; OHLINGER & WITTMANN, 1984) e indica que o estado imunitário instalado evita que a DA desenvolva, entretanto, não impede viremia.

Nas condições deste trabalho, não foi possível repetir os resultados obtidos por JAKUBIK (1977/1979), quanto ao uso de coelhos no teste de eficiência, no entanto confirmam os resultados de LÜTTICKEN et al. (1983). ROEHE & VIDOR (1986), tentando hiperimunizar coelhos, somente após a 4ª e 5ª dose de vírus inativo e adiconado de adjuvante incompleto de Freund, conseguiram níveis significativos de anticorpos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASKERVILLE, G., McFERRAN, J.B., DOW, C. Aujeszky's disease in pigs. *The Vet Bull*, v. 43, n. 9, p. 466-479, 1973.
- BRAGA, A. **Conceitos experimentais e imunológicos sobre a doença de Aujeszky**. Rio de Janeiro, 1946, 104 p. Tese (Concurso de Professor Catedrático da Disciplina de Microbiologia e Imunologia) Escola Nacional de Veterinária da Universidade Rural do Rio de Janeiro, 1946.
- BRUN, A., TOMA, B., DURET, C., et al. Vaccination of meat pigs against Aujeszky's disease. In: IPVS CONGRESS, 1984. **Proceedings...** Ghent. Belgium. International Veterinary Society, 1984. p. 36.
- DONALDSON, A.J., WADERLEY, R.C., MARTINS, S., et al. Experimental Aujeszky's disease in pigs: excretion, survival and transmission of the virus. *The Vet Rec*, v. 113, p. 490-494, 1983.
- GONÇALVES, A.R. **Avaliação da proteção de três vacinas inativadas contra a doença de Aujeszky**. Pelotas, RS, 1987. 66 p. Tese (Mestrado em sanidade animal), Curso de Pós-graduação em Sanidade Animal, Universidade Federal de Pelotas, 1987.
- GUSTAFSON, D.P. Pseudorabies. In: DUNNE, H.W., LEMANN, A.D. **Diseases of swine**. 4. ed. Iowa: The Iowa University Press, 1975. p. 391-410.
- GUTEKUNST, D.E., PIRTLE, E.C. Humoral and celular immune responses in swine after vaccination with inactivated pseudorabies virus. *Am J Vet Res*, v. 4, n. 1, p. 1343-1346, 1979.
- HALL, L.B., KLUGEE, J.P., EVANS, L.E., et al. The effect of pseudorabies (Aujeszky's) virus infection on young mature boars and boar fertility. *Can J Comp Med*, n. 48, p. 12-17, 1984.
- HERBERT, W.J. Mineral oil adjuvants and the immunization of laboratory animal. In: **Handbook of experimental immunology**. 3. ed. D.M. Weir: Blackwell Scientific Publication, 1976. (Appendix, 3).
- JAKUBIK, H. Comparative suscetibility of rabbits, rats, mice and pigs to infection with Aujeszky virus (ADV) in the development of efficacy test for ADV vaccine. Short Communication of **Fed Res Inst An V Dis**, Tubigen, 1977. p. 547-549.
- JAKUBIK, H. Zur wirksamkeitsprüfung von inaktivierten Aujszkyvirus (AV) - akzinen an kaninchen. *Zbl Vet Med B*, v. 26, p. 73-75, 1979.
- LAI, S.S., HUANG, T.S., HO, W.C. et al. Super and persistent infection of pseudorabies virus in inactivated and attenuated vaccinated and non-vaccinated pigs. In: I.PVS CONGRESS, 1984. **Proceedings...** Ghent. Belgium: International Veterinary Society, 1984. p. 45.
- LEUNEN, J., MEURICHY, W., PENSAERT, M. La maladie d'Aujeszky en Beligique. *Les Cah Med Vet*, v. 43, p. 205-208, 1974.
- LOGRIPPO, G.A., HARTMANN, F.W. Antigenicity of propiolactone inactivated virus vaccines. *J Imm*, v. 75, p. 123-188, 1955.
- LUTTICKEN, D., DE KORT, M.F., ORTHEL, F.W. Vergleichende wirksamkeitsuntersuchungen eines inaktivierten Aujeszky - imfstoffes in musen und scheinen. **Aus der intervet international**, B.V., Boxmeer, Niederlande, 1983.
- MAES, R.K., KANITZ, C.L., GUSTAFSON, D.P. Shedding patterns in swine of virulent and attenuated pseudorabies virus. *Am J Vet Res*, v. 144, n. 11, p. 2083-2086, 1983.
- MARQUES, J.L., ROMERO, H.R. Vigilância sorológica para o vírus da doença de Aujeszky em suínos no Estado de Santa Catarina em 1985. *Pesq Vet Bras*, v. 6, n. 4, p. 117-119, 1986.
- McFERRAN, J.B., QOW, C., McCRACKEN, G. Experimental studies in vaccinated pigs with three vaccines against Aujeszky's disease. *Comp Imm Micr Inf Dis*, v. 2, n. 32, p. 327-334, 1979.
- McFERRAN, J.B. Aujeszky's disease: situation in the european community and results of control programs in the european economic community. SIMPÓSIO C. NACIONAL DE SUÍNOS E AVES E S. CATARINENSE SAN. SIN., 1983. p. 302-312.
- McNUTT, H.S., ALICE, F.J. Doença de Aujeszky (pseudoraiva) em suínos. *Bol Soc Bras Med Vet*, v. 3, p. 61-69, 1942.
- OHLINGER, V., WITTMANN, G. Schutzipfung von ebern gegen die Aujeszky'sche krankheit, mitteilung: virusausscheidung im nasensekret un ejakulat. *Dtsch Tierrztl Wschr*, v. 91, p. 100-102, 1984.
- OIRSCHOT, J.T.V., LEEUW, P.W. Evaluation of efficacy of Aujeszky's disease virus vaccines in pigs under standartized conditions. In: IPVS CONGRESS, 1984. **Proceedings...** Ghent. Belgium. International Veterinary Society, 1984.

- RIVENSON, S. Las vacunas oleosas em Medicina Veterinaria. **Rev Med Vet**, v. 60, n. 1, p. 22-38, 1979.
- ROEHE, P.M., VIDOR, T. Comunicação pessoal. Porto Alegre, 1986.
- ROMERO, C.H., MARQUES, J.L., ROWE, C.A. et al. Situação da doença de Aujeszky no estado de Santa Catarina em 1984. **Pesq Agropec Bras**, v. 21, n. 21, p. 1321-1326, 1986.
- SILVA, R.A., DOBEREINER, J. Nota sobre a doença de Aujeszky no município de Sapucaia, estado do Rio de Janeiro. **Arq Inst Biol An**, v. 3, p. 883-890, 1960.
- SILVA, R.A., GIOVANE, N. Novos focos da doença de Aujeszky no estado de Minas Gerais. **Arq Inst Biol An**, v. 4, p. 99-104, 1961.
- SKODA, R., JAKUBIK, J. La maladie d'Aujeszky em republique federal d'Allemagne. **Cah Med Vet**, v. 43, p. 192-202, 1974.
- SKODA, R., WITTMANN, G. Die immunisierung von schweinen mit vakzinen aus inaktiviertem Aujeszky-virus. **Zbl Vet Med B**, n. 30, p. 127-138, 1973.
- THAWLEY, D.G., GUSTAFSON, D.P., BERAN, G.W. Procedures for elimination of pseudorabies virus from herds of swine. **J Amer Vet Med Assoc**, v. 181, n. 12, p. 1513-1517, 1982.
- TOMA, B. La maladie d'Aujeszky en 1979. **Rec Med Vet**, v. 156, n. 6, p. 491-494, 1980.
- VANNIER, P. Immunisation des porcs charcutiers contre la maladie d'Aujeszky avec deux vacins a adjuvants huileux. **Rec Med Vet**, v. 162, n. 1, p. 37-44, 1986.
- VIDOR, T. Doença de Aujeszky: etiopatogenia e controle. **A Hora Veterinária**, v. 43, p. 47-52, 1988.
- WITTMANN, G. La enfermedad de Aujeszky: factores epidemiologicos importantes y puntos esenciales de la lucha contra la enfermedad. **Rev Sci Tech**, p. 33-34, 1985.
- WRIGHT, J.C., THAWLEY, D.G., SOLORZANO, R.F. Imune responses of and their offspring to pseudo rabies virus: serum neutralization response to vaccination and field virus challenge. **Can J Comp Med**, v. 48, p. 184-191, 1984.