

## INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM CRÔMIO NA RESPOSTA IMUNE HUMORAL ANTI-RÁBICA EM BOVINOS

**J. Giometti<sup>1</sup>, S.B. Chiacchio<sup>2</sup>, A. Albas<sup>3</sup>, P.E. Pardo<sup>1</sup>, H. Bremer-Neto<sup>1</sup>, A.I. Giometti<sup>1</sup>, L.S.L.S. Reis<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade do Oeste Paulista, Rod. Raposo Tavares, km 572, CEP 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil.  
E-mail: centraldepesquisaepublicacoes@yahoo.com.br

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do cromo em diferentes concentrações na forma de levedura de cromo na resposta imune humoral anti-rábica em bovinos. Utilizaram-se 60 novilhas da raça Nelore (*Bos indicus*) com idade média de 2 e 5 anos, alimentadas em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com fornecimento da água de bebida e sal mineral *ad libitum*, divididas aleatoriamente em 4 grupos de 15: grupo controle (Gc) que receberam o sal mineral sem cromo, os demais grupos receberam sal mineral contendo 8,5, 17 e 34 mg de cromo/kg de sal, grupos G<sub>8,5</sub>, G<sub>17</sub> e G<sub>34</sub>, respectivamente. Todos os bovinos receberam no dia 0 uma dose de vacina comercial anti-rábica inativada. Colheram-se amostras de sangue nos dias 0, 30, 60 e 90 e os títulos de anticorpos anti-rábicos foram determinados por meio do teste de soroneutralização em camundongos. Os resultados obtidos mostram que as novilhas do grupo G<sub>17</sub> apresentaram diferenças significativas no título de anticorpos anti-rábicos, no entanto, somente o G<sub>34</sub> mostrou persistência dos títulos de anticorpos protetores, 90 dias após a vacinação. Os resultados obtidos permitem concluir que o cromo aumentou o título de anticorpos neutralizante anti-rábico e que a melhor concentração estudada foi 34 mg de Cr/kg de sal mineral.

PALAVRAS-CHAVE: Cromo, raiva, vacina, bovino, anticorpo anti-rábico.

### ABSTRACT

SUPPLEMENTAL CHROMIUM ENHANCES ANTIRABIES HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN BOVINES. The effect of chromium yeast on antirabies humoral immune response was evaluated in Nelore heifers. Sixty heifers (*Bos indicus*) aged about 2 to 5 years were fed on *Brachiaria decumbens* pasture and allowed *ad libitum* access to mineral salt and water. They were randomly distributed into one of 4 groups (15 animals each): control animals (Gc) received chromium-free mineral salt; the other groups received 8.5, 17 and 34 mg chromium/salt kg, thus constituting groups G<sub>8.5</sub>, G<sub>17</sub> and G<sub>34</sub>, respectively. In the first day of the experiment (day 0), all the heifers were vaccinated with commercial rabies vaccines and blood was sampled on days 0, 30, 60 and 90. Antirabies antibody titers were determined by virus neutralization test in mice. Results showed that heifers of G<sub>17</sub> increased significantly the antirabies antibody; however, only in G<sub>34</sub> was the titer of protective antibodies higher on the 90th day after vaccination. These results demonstrate that chromium increases neutralizing antirabies antibody titers, and that the best concentration is 34 mg Cr/kg mineral salt.

KEY WORDS: Chromium, rabies, vaccine, heifers, antirabies antibody.

### INTRODUÇÃO

A raiva é uma enfermidade infecciosa viral do sistema nervoso central dos mamíferos e é considerada uma das mais importantes zoonoses por ser uma encefalite fatal, para a qual não há tratamento. Apresenta ampla distribuição geográfica e é causada por vírus RNA neurotrópico, da família Rhabdoviridae,

gênero *Lyssavirus* (UMEHARA *et al.*, 2002). Esta enfermidade causa prejuízos econômicos diretos consideráveis em animais destinados a produção de leite, carne e reprodução (OLIVEIRA *et al.*, 2000; PIZA *et al.*, 2002). Estima-se que no Brasil, entre 30.000 a 40.000 bovinos são perdidos anualmente acometidos com raiva com prejuízos econômicos diretos de 15 milhões de dólares e indiretos de 22,5 milhões de dólares (INSTITUTO

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Hospial Universitário, Botucatu, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Sorocabana, Presidente Prudente, SP, Brasil.

PASTEUR, 1998; RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2000). Este prejuízo econômico ocasionado pela raiva é muitas vezes, decorrente de falhas dos proprietários em vacinar corretamente seus animais (OLIVEIRA *et al.*, 2000). No entanto a vacinação contínua dos animais é o método de controle mais efetivo, importante e de menor custo para reduzir as perdas econômicas causadas por doenças infecciosas, em especial a raiva (OLIVEIRA *et al.*, 2000; RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2000; QUEIROZ DA SILVA *et al.*, 2002; NATIONAL ASSOCIATION STATE PUBLIC HEALTH VETERINARIANS, 2005).

O crômio (Cr) é um mineral encontrado nos tecidos dos animais na forma de moléculas organometálicas, chamado de fator de intolerância à glicose (GTF). O GTF é formado por crômio, ácido nicotínico, ácido glutâmico, glicina e cisteína. Este mineral participa de várias funções orgânicas nos bovinos, entre elas: atua no metabolismo energético, no sistema endócrino (CARVALHO *et al.*, 2003), reduz a incidência de cetose (BURTON *et al.*, 1993; CARVALHO *et al.*, 2003), atua no aumento do crescimento (BURTON *et al.*, 1993), eleva o percentual de proteína e reduz a gordura na carcaça (WARD *et al.*, 1993), aumenta a ingestão de matéria seca (HAYIRLI *et al.*, 2001) e eleva a produção de leite (HAYIRLI *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003), provoca aumento no ganho de peso (KEGLEY *et al.*, 1997; CARVALHO *et al.*, 2003), aumenta a resposta imune humoral após a vacinação e as imunoglobulinas séricas (BURTON *et al.*, 1994; CARVALHO *et al.*, 2003; FALDYNA *et al.*, 2003).

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito do crômio administrado em diferentes concentrações na forma de levedura de crômio na resposta imune humoral anti-rábica em bovinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Município de Mirante do Paranapanema, SP, nos meses de agosto a dezembro, com período chuvoso de outubro a abril e período seco de maio a setembro. Há alteração na composição bromatológica da forragem, sendo de elevada e baixa qualidade, no período chuvoso e seco, respectivamente.

Utilizaram-se 60 novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com idade média de 2 e 5 anos, com peso vivo médio de 300 kg divididas aleatoriamente em 4 grupos (15 novilhas/grupo). Em 3 deles, G<sub>8,5</sub>, G<sub>17</sub> e G<sub>34</sub>, os animais receberam suplemento com 8,5, 17 ou 34 mg de crômio por kg de sal mineral, respectivamente. O quarto grupo (Gc) que não recebeu o crômio adicionado ao sal foi utilizado como controle. O consumo diário médio de sal mineral durante o período experimental foi de 70 g de sal/novilha/dia. Desta forma os animais dos grupos Gc, G<sub>8,5</sub>, G<sub>17</sub> e G<sub>34</sub> consumiram em média 0,0 mg, 0,595 mg, 1,19 mg e 2,38 mg de

crômio/novilha/dia respectivamente, durante todo experimento.

Visando verificar possíveis diferenças na resposta dos diferentes grupos em decorrência do crômio contido nas pastagens, os animais foram mantidos em pastos sem adubação de *Brachiaria decumbens* com fornecimento da água de bebida em caixas de concreto, o sal mineral foi oferecido aos animais em cochos cobertos de forma *ad libitum* e o sistema de manejo adotado foi o de cria extensivo para a produção de bezerros.

Todas as novilhas receberam uma dose da vacina anti-rábica comercial no dia 0 do experimento.

A gramínea foi analisada no período da seca e das águas, para verificação das concentrações de mineral existente, assim como a água fornecida aos animais.

## Suplemento mineral

O sal mineral utilizado foi produzido com níveis de garantia por kg de suplemento mineral, a seguir: 98,28% de matéria seca; 1,40% de nutrientes digestivos totais; 0,32% de proteína bruta, 30 g de cálcio, 60 g de fósforo, 144 g de sódio, 10,76 g de magnésio, 12 g de enxofre, 1.200 mg de cobre, 4.200 mg de zinco, 4.733,59 mg de ferro, 900 mg de manganês, 30 mg de cobalto, 130 mg de iodo, 22,5 mg de selênio e 21 mg de níquel. Foram adicionados 8,5; 17 e 34 mg de crômio/kg de sal, respectivamente, de acordo com o grupo experimental.

## Levedura de crômio

A fonte de crômio utilizada foi composta por *Saccharomyces cerevisiae*, linhagem *Yea-Sacc 1026*, seco rico em crômio (Cr<sup>3+</sup>) contendo 1.000 mg de Cr<sup>3+</sup>/kg de produto.

## Vacina anti-rábica

Utilizou-se no experimento uma vacina anti-rábica comercial, composta por: suspensão de vírus rábico, cepa Vírus Pasteur, replicado em células BHK-21, clone 13, inativado pela bromoetileinamina, adsorvido em hidróxido de alumínio e valor antigênico de 10<sup>8,08</sup> aferido pelo Teste de Habel (HABEL, 1996).

## Colheita de sangue

De todos os animais foram colhidas amostras de sangue nos dias 0, 30, 60 e 90 pós-vacinal por meio da punção da veia jugular, diretamente em tubos a vácuo de 10 mL sem anti-coagulante. Após a centrifugação a 2.500 rpm por 10 min as amostras de soro foram acondicionadas em tubos plástico de 1,5 mL e armazenadas a -20° C para posterior determinação da concentração de anticorpos anti-rábicos.

### Determinação dos títulos de anticorpos anti-rábico

Os títulos de anticorpos anti-rábicos foram determinados por meio do teste de Soroneutralização em Camundongos (SN). Este teste in vivo desenvolvido por FITZGERALD (1996), utiliza camundongos suíços albinos, com peso médio entre 14 a 16 g. Neste trabalho foram utilizadas diluições múltiplas de 5 (1:5, 1:25, 1:125, 1:625 e 1:3125). Para cada diluição de soro, foi adicionada uma diluição fixa do vírus, de forma a conter, em média, 31,6 Doses Letais 50 ( $DL_{50}$ ). Os títulos dos soros e do vírus controle foram calculados através do método de REED & MUENCH (1938).

Neste experimento foram considerados reagentes, os soros que apresentaram títulos  $\geq 5$  ou  $\log_{10} = 0,69$ , significando que a diluição 1:5 protegeu 50% dos camundongos inoculados.

Tanto para os soros quanto para a suspensão viral, o diluente utilizado foi composto de água destilada acrescida de 2% de soro normal de cavalo contendo antibióticos (1.000 unidades de penicilina e 1,25 mg de estreptomicina por mL).

### Determinação do cromo

Para determinação da concentração de cromo na *B. decumbense* na água de bebida dos animais utilizou-se a técnica de espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite.

### Análise estatística

Uma vez que não houve sucesso na tentativa de normalização dos dados de títulos de anticorpos anti-rábicos (transformados por  $\log_{10}(SN+1)$ ), utilizou-se para a comparação dos tratamentos em cada momento (dias 30, 60 e 90) o teste de Kruskal-Wallis (H) complementado pelo teste de comparações múltiplas de Nemenyi e para comparar os momentos dentro de cada tratamento ( $G_c$ ,  $G_{8,5}$ ,  $G_{17}$  e  $G_{34}$ ) utilizou-se o teste de Friedman ( $c^2_p$ ) complementada pelo teste de Nemenyi correspondente (ZAR, 1999).

### RESULTADOS

Os títulos individualizados de anticorpos anti-rábicos (transformados pela equação  $\log_{10}(SN+1)$  de bovinos vacinados contra a raiva, as médias aritméticas  $\pm$  desvio padrão (DP) e as porcentagens de animais com dos títulos protetores ( $\log_{10} \geq 0,69$ ) dos grupos  $G_c$ ,  $G_{8,5}$ ,  $G_{17}$  e  $G_{34}$ , estão apresentados nas Tabelas 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Os resultados obtidos mostram que no dia 30 as novilhas do grupo  $G_{17}$  tiveram aumento significativo

nos títulos de anticorpos anti-rábicos em relação ao tratamento  $G_{8,5}$  ( $H = 10,78539$ ;  $p = 0,0130$ ). Observou-se ainda que em todos os tratamentos  $G_c$ ,  $G_{8,5}$ ,  $G_{17}$  e  $G_{34}$ , houve redução significativa nos títulos de anticorpos ao longo do experimento (Tabela 1, 2, 3 e 4).

A concentração de cromo encontrada na forrageira, *Brachiaria decumbens*, de ambos os pastos e nas duas épocas de colheita, nas águas e seca, foram semelhantes: 0,05  $\mu$ g de Cr/g de forrageira. Na água de bebida de ambos os grupos das novilhas a concentração de cromo foi de 80 mg/kg.

### DISCUSSÃO

A titulação de anticorpos neutralizantes anti-rábicos é freqüentemente utilizada para avaliar a resposta imune humoral após a vacinação anti-rábica em bovinos (ALBAS *et al.* 1998, OLIVEIRA *et al.*, 2000; RODRIGUES DA SILVA *et al.*, 2000; QUEIROZ DA SILVA *et al.*, 2003), além de ser recomendada pelo NATIONAL ASSOCIATION STATE PUBLIC HEALTH VETERINARIANS (2005).

Os soros de todos os animais utilizados no experimento, colhidos no dia 0, antes da imunização não foram reativos para raiva, indicando que estes animais não haviam tido contato com o vírus rábico ou vacina anti-rábica. As concentrações de cromo encontradas nas forrageiras foram semelhantes em ambos os pastos nos dois períodos, das águas e seca (0,05  $\mu$ g de Cr/g de forrageira). Assim, as variações encontradas nos títulos de anticorpos neutralizantes anti-rábicos nos soros dos animais durante o experimento, foram induzidas pela vacinação anti-rábica realizada no dia zero e juntamente com os efeitos das diferentes concentrações de cromo no suplemento mineral.

A resposta imune humoral das novilhas estudadas mostrou-se heterogênea, ou seja, os animais tratados com cromo ou não, apresentaram títulos variáveis de anticorpos anti-rábicos, desde baixos títulos (0,78) até títulos elevados (2,35) conforme as Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5, resultado também observado por CIUCHINI *et al.* (1981); ALBAS *et al.* (1998); OLIVEIRA *et al.*, (2000); QUEIROZ DA SILVA *et al.* (2003); ALBAS *et al.* (2005) estudando resposta imune humoral anti-rábica em bovinos.

Os resultados obtidos mostraram que a suplementação com cromo estimulou o sistema imunológico das novilhas, corroborando com BURTON *et al.* (1994); WRIGHT *et al.* (1994); WRIGHT *et al.* (1995); CHANG *et al.* (1996); FALDYNA *et al.* (2003) que obtiveram estímulo significativo na produção de anticorpos em animais suplementados com cromo estudando outras enfermidades como Rinotraqueíte Infeciosa Bovina, Parainfluenza-3, Diarréia bovina a vírus, Pasteurelose e Tétano.

Tabela 1 - Valores individuais dos títulos de anticorpos anti-rábicos (transformados pela equação  $\log_{10}(\text{SN}+1)$ ) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com uma dose de vacina e suplementados com sal mineral sem crômio, grupo controle (tratamento Gc).

Bovino	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 90
1	0	1,01	0	0
2	0	1,75	0	0
3	0	1,19	1,08	1,01
4	0	1,3	0,88	0
5	0	1,52	0	0
6	0	1,52	2,21	0,88
7	0	1,84	0	0
8	0	2,35	1,84	1,3
9	0	1,84	1,08	0
10	0	0	0	0
11	0	1,75	1,08	0,88
12	0	2,1	0	0
13	0	1,88	1,68	1,41
14	0	1,75	1,08	0
15	0	0,78	0,88	0
Média ± DP	0 <sup>c</sup>	1,51 <sup>a</sup> ± 0,58	0,79 <sup>b</sup> ± 0,76	0,37 <sup>b</sup> ± 0,55
% $\log_{10} \geq 0,69$	0	93,33	60,00	33,33

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa ( $\chi^2_r = 14,88000$ ;  $p < 0,01$ ) entre os dias de observação.

Tabela 2 - Valores individuais dos títulos de anticorpos anti-rábicos (transformados pela equação  $\log_{10}(\text{SN}+1)$ ) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com uma dose de vacina e suplementados com sal mineral contendo 8,5 mg de crômio/kg de sal (tratamento G<sub>8,5</sub>).

Bovino	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 90
1	0	1,08	1,41	0
2	0	1,74	1,01	0
3	0	1,74	1,2	0
4	0	1,66	1,3	1,49
5	0	1,2	1,08	0,78
6	0	0	0	0
7	0	1,75	1,25	0,88
8	0	0	0	0
9	0	1,3	0	0
10	0	0,88	0	0
11	0	1,55	1,17	0
12	0	1,58	0	0
13	0	1,97	1,66	1,30
14	0	1,25	0	0
15	0	1,66	1,75	0,88
Média ± DP	0 <sup>c</sup>	1,29 <sup>a</sup> ± 0,60	0,79 <sup>b</sup> ± 0,69	0,36 <sup>b</sup> ± 0,55
% $\log_{10} \geq 0,69$	0	86,67	60,00	33,33

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa ( $\chi^2_r = 8,836364$ ;  $p < 0,01$ ) entre os dias de observação.

Considerando-se que o logaritmo do título mínimo de anticorpos neutralizante anti-rábico para bovinos estarem protegidos dos riscos da infecção com vírus rábico é de  $\geq 0,69$ , observamos que 93,33%, 86,67%, 100% e 80% dos animais pertencentes ao

grupo Gc, G<sub>8,5</sub>, G<sub>17</sub> e G<sub>34</sub>, respectivamente, apresentaram títulos de anticorpos anti-rábicos protetores 30 dias após a vacinação (Tabela 1, 2, 3, 4 e 5) devido ao elevado valor antigênico ( $10^{8,08}$ ) da vacina (ALBAS *et al.*, 2005).

Tabela 3 - Valores individuais dos títulos de anticorpos anti-rábicos (transformados pela equação  $\log_{10}(SN+1)$ ) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com uma dose de vacina e suplementados com sal mineral contendo 17 mg de cromo/kg de sal (tratamento G<sub>17</sub>).

Bovino	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 90
1	0	1,95	1,2	1,16
2	0	1,76	1,08	0
3	0	1,75	0,88	0
4	0	1,88	1,84	1,84
5	0	1,84	0	0
6	0	1,06	0	0
7	0	1,75	0	0
8	0	1,75	0,98	0,98
9	0	1,75	0,89	0
10	0	1,3	0,93	0
11	0	2,21	1,84	1,66
12	0	1,97	1,2	1,04
13	0	1,78	1,75	1,08
14	0	1,66	1,08	0,97
15	0	2,21	1,88	1,08
Média ± DP	0 <sup>c</sup>	1,77 <sup>a</sup> ± 0,29	1,04 <sup>b</sup> ± 0,65	0,65 <sup>b</sup> ± 0,68
% $\log_{10} \geq 0,69$	0	100,00	80,00	53,33

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa ( $\chi^2_r = 16,87719$ ;  $p < 0,01$ ) entre os dias de observação.

Tabela 4 - Valores individuais dos títulos de anticorpos anti-rábicos (transformados pela equação  $\log_{10}(SN+1)$ ) em soros de bovinos vacinados contra a raiva com uma dose de vacina e suplementados com sal mineral contendo 34 mg de cromo/kg de sal (tratamento G<sub>34</sub>).

Bovino	Dia 0	Dia 30	Dia 60	Dia 90
1	0	1,01	0	0
2	0	1,08	1,74	1,66
3	0	2,21	1,97	1,25
4	0	2,35	1,84	1,52
5	0	1,66	1,2	1,52
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	0	1,75	1,41	1,08
9	0	2,21	1,49	1,08
10	0	0	0	0
11	0	1,94	1,41	0,88
12	0	1,63	1,01	1,08
13	0	2,44	1,41	1,08
14	0	1,01	0	0
15	0	1,68	1,01	0,78
Média ± DP	0 <sup>c</sup>	1,33 <sup>a</sup> ± 0,84	0,97 <sup>b</sup> ± 0,75	0,79 <sup>b</sup> ± 0,63
% $\log_{10} \geq 0,69$	0	80,00	66,70	66,67

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa ( $\chi^2_r = 17,72881$ ;  $p < 0,01$ ) entre os dias de observação.

No grupo de novilhas G<sub>17</sub>, apesar do aumento significativo no título de anticorpos 30 dias após a vacinação, não houve persistência dos mesmos 90 dias após a vacinação, com 46,67%, dos animais apresentando log do título de anticorpos inferiores a 0,69 (Tabela 3).

Nas novilhas do grupo G<sub>34</sub> observaram-se 80% dos animais com título de anticorpo anti-rábico protetor 30 dias após a vacinação. A Tabela 4 mostra que houve maior persistência nos títulos de anticorpos neutralizantes anti-rábico 90 dias após a vacinação,

ficando 66,67% dos animais protegidos (log do título de anticorpo anti-rábico superior a 0,69), sugerindo que a melhor concentração de crômio estudada para suplementar bovinos foi a de 34 mg de Cr/kg de sal mineral.

Os animais pertencentes ao grupo G<sub>8,5</sub> não apresentaram diferença significativa entre os títulos de anticorpos anti-rábicos, comparados ao G<sub>c</sub>, mostrando que a suplementação com a concentração de 8,5 mg de Cr/kg de sal mineral, não tem efeito imunoestimulante para bovino.

Nos animais pertencentes ao grupo G<sub>c</sub>, que não foram suplementados com crômio, observou-se que não houve persistência nos títulos de anticorpos anti-rábicos. Após 90 dias da vacinação, 33,33% das novilhas apresentaram título de anticorpos anti-rábico  $\geq$  0,69 (Tabela 1). Estes animais podem ficar expostos aos riscos da contaminação com o vírus rábico, apontando assim, a necessidade da aplicação da dose de reforço da vacina anti-rábica em bovinos primovacinação, 30 dias a 1ª dose, conforme recomendado pelos laboratórios, para obterem título protetor e persistente contra o vírus. Estes resultados corroboram com ALBAS *et al.*, (1998); OLIVEIRA *et al.*, (2000); RODRIGUES DA SILVA *et al.*, (2000); QUEIROZ DA SILVA *et al.*, (2003); ALBAS *et al.*, (2005) que recomendam a aplicação de dose de reforço de vacina anti-rábica para os animais primovacinação atingirem títulos protetores e persistentes de anticorpos neutralizantes.

Os resultados obtidos permitiu concluir que, suplementar os bovinos com crômio aumenta o título de anticorpos neutralizante anti-rábico e a melhor concentração estudada foi a de 34 mg de Cr/kg de sal mineral.

#### REFERÊNCIAS

- ALBAS, A.; PARDO, P.E.; GOMES, A.A.B.; BERNARDI, F.; ITO, F.H. Effect of a booster-dose of rabies vaccine on the duration of virus neutralizing antibody titers in bovines. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.31, n.4, p.367-371, 1998.
- ALBAS, A.; PARDO, P.E.; BREMER NETO, H.; GALLINA, N.M.F.; MOURAO FUCHES, R.M.; SARTORI, A. Vacinação anti-rábica em bovinos: comparação de cinco esquemas vacinais. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.72, n.2, p.153-159, 2005. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v70\\_2/albas.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/arquivos/v70_2/albas.pdf)>. Acesso em: 4 fev. 2005.
- BURTON, J.L.; MALLARD, B.A.; MWAT, D.N. Effects of supplemental chromium on immune responses of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.71, p.1532-1539, 1993.
- BURTON, J.L.; MALLARD, B.A.; MWAT, D.N. Effects of supplemental chromium on antibody responses of newly weaned feedlot calves to immunization with infectious bovine IBR/PI3 virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v.58, p.148, 1994.
- CARVALHO, F.A.N.; BARBOSA, F.A.; McDOWELL, L.R. Minerais. In: \_\_\_\_\_. *Nutrição de Bovinos a Pasto*. Belo Horizonte: Papel Form, 2003. Cap.7., 425p.
- CIUCHINI; IRSARA, A.; PESTALOZZA, S.; TRANI, L.; ANTONUCCI, G. Risposta immunitaria in bovini vaccinati contro la rabia com virus attenuato ceppo ERA. *Revista di Zootecnia Veterinaria*, v.9, p.176-184, 1981.
- CHANG, G.X.; MALLARD, B.A.; MWAT, D.N.; GALLO, G.F. Effects of supplemental chromium on antibody responses of newly arrived feeder calves to vaccines and ovalbumin. *Journal of Veterinary Research*, v.60, n.2, p.140-144, 1996.
- FALDYNA, M.; PECHOVA, A.; KREJCI, J. Chromium supplementation enhances antibody response to vaccination with tetanus toxoid in cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, v.50, p.326-331, 2003.
- FITZGERALD, E.A. Potency test for antirabies serum and immunoglobulin. In: MESLIN, F.X.; KAPLAN, M.M.; KOPROWSKI, H. (Eds.)s *Laboratory technique in rabies*. 4.ed. Geneva: WHO, 1996, p.417-422.
- HABEL, K. Habel test for potency. In: MESLIN, F.X.; KAPLAN, M.M.; KOPROWSKI, H. (Eds.)s *Laboratory technique in rabies*. 4.ed. Geneva: WHO, 1996, p.369-377.
- HAYIRLI, A.; BREMMER, D.R.; BERTICS, S.J.; SOCHA, M.T.; GRUMMER, R.R. Effects of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.5, n.84, p.1218-1230, 2001.
- INSTITUTO PASTEUR (São Paulo). *Controle da raiva dos herbívoros*. São Paulo: Instituto Pasteur, 1998. (Manual Técnico, n.1).
- KEGLEY, E.B.; SPEARS, J.W.; BROWN, T.T. Effect of shipping chromium supplementation on performance immune response and disease resistance of stress. *Journal of Animal Science*, v.7, n.75, p.1956-1964, 1997.
- NATIONAL ASSOCIATION STATE PUBLIC HEALTH VETERINARIANS. NASPHV. Compendium of Animal, Rabies Prevention and Control, 2005. MMWR Recommendations and Reports, 54 (RR03), p.1-8, 2005. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5403a1.htm>. Acesso em: 4 fev. 2005.
- OLIVEIRA, A.N.; ANDRADE, M.C.R.; SILVA, M.V.; MOURA, W.C.; CONTREIRAS, E.C. Immune response in cattle vaccinated against rabies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.95, n.1, p.83-88, 2000.
- PIZA, A.T.; PERI, K.M.S.; LUSA, G.M.; CAPORALE, G.M.M.; TERRERAN, M.T.; MACHADO, L.A.; ZANETTI, C.R. Effect of the contents and form of rabies glycoprotein of the potency of rabies vaccination in cattle. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, n.2, p.265-268, 2002.
- QUEIROZ DA SILVA, L.H.Q.; BISSOTO, C.E.; CARVALHO, C.; CARDOSO, T.C.; PINHEIRO, D.M.; PERI, S.H.V. Comparison between the counter immunoelectrophoresis test and mouse neutralization test for the detection of antibodies against rabies virus in dog. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, n.2, p.259-261, 2002.
- QUEIROZ DA SILVA, L.H.; CARDOSO, T.C.; PERI, S.H.V.; PINHEIRO, D.M.; CARVALHO, C. Pesquisa de anticorpos anti-rábicos em bovinos vacinados da região de Araçatuba, SP. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.70, n.4, 407-413, 2003.

- REED, L.J.; MÜNCH, H.A. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Hygiene*, n.27, v.3, p.493-497, 1938.
- RODRIGUES DA SILVA, A.C.; CAPORALE, G.M.M.; GONÇALVES, C.A.; TARGUETA, M.C.; COMIN, F.; ZANETTI, C.R.; KOTAIT, I. Antibody response in cattle after vaccination with inactivated and attenuated rabies vaccines. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.42, n.2, p.95-98, 2000.
- UMEHARA, O.; DE LUCCA NETO, D.; MORO, E.; BERNARDI, F.; ITO, F.H.; RODRIGUES, C.A. Rabies vírus neutralizing antibody profile in cattle vaccinated with inactivated vaccine adjuvanted with either aluminum hydroxide alone or combined with avridine. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.69, n.1, p.23-28, 2002.
- WARD, T.L.; SOUTHERN, L.L.; BOLEMAN, S.L. Effect of dietary chromium picolinate on growth, nitrogen balance and body composition of growing broiler chicks. *Poultry Science*, v.72, p.37, 1993. Supplementum.
- WRIGHT, A.J.; MOWAT, D.N.; MALLARD, B.A. Supplemental chromium and bovine respiratory disease vaccines for stressed feeder calves. *Canadian Journal of Animal Science*, v.74, n.2, p.287-295, 1994.
- WRIGHT, A.J.; MOWAT, D.N.; MALLARD, B.A. The influence of supplemental chromium and vaccines on the acute phase response of newly arrived feeder calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v.59, n.4, p.311-315, 1995.

Recebido em 7/3/06

Aceito em 13/9/06