





# Investigación de parámetros bioquímicos y perfil de citocinas en ovejas con ectima contagioso

Pelin Fatoş Polat Dincer<sup>1\*</sup> ; Adem Şahan<sup>2</sup> .

<sup>1</sup>Dokuz Eylul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Izmir, Turkey

<sup>2</sup>Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Şanlıurfa, Turkey

\*Correspondence: [pelinfatos.polat@deu.edu.tr](mailto:pelinfatos.polat@deu.edu.tr)

Recibido: Diciembre 2021; Aceptado: Marzo 2022; Publicado: Julio 2022.

## RESUMEN

**Objetivo.** Este estudio investigó los parámetros bioquímicos del suero y las interleucinas (IL-2, IL-4) en ovejas naturalmente infectadas con ectima infeccioso; identificó los tipos inmunes formados y reveló la dirección de la respuesta de citocina dominante. **Materiales y métodos.** Se utilizaron 28 ovejas no vacunadas de 1 a 4 meses de edad que presentaban síntomas clínicos de ectima y 10 ovejas sanas del mismo rango de edad. Se tomaron medidas de albúmina (ALB), alanina aminotransferasa (ALT), nitrógeno ureico (BUN), colesterol (CHOL), creatinina (CRE), gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT), glucosa (GLU), bilirrubina total (TBIL) y proteína total (TP). Se utilizó un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para determinar los niveles de interleucinas en el suero de animal positivo para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). **Resultados.** El análisis bioquímico reveló que; los valores de ALT, BUN, GGT y CRE en los animales infectados fueron significativamente más altos que en el grupo de control ( $p = 0,000$  y  $p = 0,001$ ) mientras que los valores de TP y GLU fueron significativamente más bajos ( $p = 0,000$ ). No hubo ninguna diferencia significativa en los valores de ALB, CHOL y TBIL ( $p = 0,1$ ,  $p = 0,05$ ,  $p = 0,08$ ). En cuanto al perfil inmune; los animales infectados tenían niveles de IL-2 (% 28) e IL-4 (% 60) significativamente más altos que el grupo de control ( $p = 0,008$  y  $p = 0,001$ ). **Conclusiones.** Los hallazgos indican que las citocinas Th1 (IL-2) y Th2 (IL-4) coexisten mientras que la respuesta de citocina dominante en los animales infectados es Th2.

**Palabras clave:** Inmunología; interleucina; zoonosis (*Fuente: AIMS, MeSH*).

## ABSTRACT

**Objective.** This study investigated the serum biochemistry parameters and interleukins (IL-2, IL-4) in sheep naturally infected with infectious ecthyma, identified the immune types formed, and revealed the direction of the dominant cytokine response. **Materials and methods.** 28 unvaccinated sheep aged 1-4 months showing clinical symptoms of ecthyma and 10 healthy sheep in the same age range were used. Measurements were taken of albumin (ALB), alanine aminotransferase (ALT), urea nitrogen (BUN), cholesterol (CHOL), creatinine (CRE), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT),

### Como citar (Vancouver).

Polat-Dincer PF, Şahan A. Investigación de parámetros bioquímicos y perfil de citocinas en ovejas con ectima contagioso. Rev MVZ Córdoba. 2022; 27(Supl):e2581. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2581>



©El (los) autor (es) 2022. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

glucose (GLU), total bilirubin (TBIL) and total protein (TP). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine interleukins levels in the polymerase chain reaction (PCR) positive animal serum. **Results.** The biochemical analysis revealed that ALT, BUN, GGT, and CRE values in infected animals were significantly higher than in the control group ( $p=0.000$  and  $p=0.001$ ) whereas TP and GLU values were significantly lower ( $p=0.000$ ). There were no significant differences in ALB, CHOL, and TBIL values ( $p=0.1$ ,  $p=0.05$ ,  $p=0.08$ ). Regarding the immune profile, infected animals had significantly higher IL-2 (%28) and IL-4 (%60) levels than the control group ( $p=0.008$  and  $p=0.001$ ). **Conclusions.** The findings indicate that Th1 (IL-2) and Th2 (IL-4) cytokines coexist while the dominant cytokine response in infected animals is Th2.

**Keywords:** Immunology; interleukin; zoonosis (Source: AIMS, MeSH).

## INTRODUCCIÓN

El agente causal de la enfermedad se conoce con varios nombres, como ectima contagioso, dermatitis pustulosa cutánea, orf o costra bucal y es un virus parapox de la familia Poxviridae. El virus tiene una difusión mundial y puede sobrevivir durante años en entornos infectados. La enfermedad - que generalmente se transmite por contacto - infecta a la receptora a través de la mucosa oral y los portatelles cutáneos antes de multiplicarse en las células epidérmicas. Aunque puede ocurrir en corderos y cabritos de 10 a 12 días después del nacimiento; generalmente se observa más en los animales que tienen entre 3 y 6 meses de edad en las regiones enzoóticas (1). Se caracteriza por lesiones gingivales adyacentes a lengua y paladar, múltiples pápulas y ulceración cubierta de exudado amarillento en corderos (2).

Las etapas clínicas de las lesiones ectimales son seguidas por el desarrollo de máculas eritematosas, pápulas, vesículas y pústulas finalmente costras. El virus encontrado localmente se esparce con la costra. Aunque su propagación a todos los órganos fue clara; se observaron lesiones similares en los tractos respiratorio y gastrointestinal de corderos y cabras gravemente afectados (3). La enfermedad aguda y contagiosa - que afecta a ovejas, cabras y algunos rumiantes domésticos y salvajes - reduce la productividad. Por lo tanto, esta es una enfermedad zoonótica de importancia económica que daña el comercio nacional e internacional de productos animales al reducir la ingesta de alimento, el vellón y la calidad de carne (4,5). La morbilidad puede alcanzar el 100%, mientras que la mortalidad por las infecciones bacterianas secundarias puede llegar al 15% (6). La enfermedad puede llegar a ser fatal en los corderos si las lesiones dificultan la lactancia acompañando por las lesiones fúngicas o bacterianas (7). En los

animales adultos; las lesiones formadas en las ubres hacen que la lactancia sea dolorosa, que puede provocar el abandono de la misma (8).

La razón más importante del interés en el ectima inmunológicamente infeccioso es que; la infección a veces puede ocurrir repetidamente en la misma región a pesar de una respuesta inmune normal en la primera infección (9). Varios estudios han establecido la condición de células inmunes en la piel de las ovejas re infectadas o infectadas por primera vez. Las principales células de los queratinocitos infectados son los neutrófilos, las células B, las células dendríticas y las células T (10,11).

Las lesiones de ectima contienen abundantes células dendríticas. Estas células son vitales para los antígenos, la estimulación y el mantenimiento de la inmunidad (12). A pesar del sistema de defensa de la receptora; estas infecciones son de menor escala y de menor duración cuando el virus vuelve a infectar a la receptora. Por lo tanto, las lesiones que aparecen por primera vez generalmente se resuelven en un plazo de 4 a 6 semanas; mientras que las infecciones recurrentes son menos graves y se curan en un promedio de 2 a 3 semanas. Las citocinas secretadas de las células inmunes son importantes tanto en la infección primaria como en la reinfección. En particular, las citocinas IFN- $\gamma$  e Interleucina 2 (IL-2) desempeñan un papel preventivo durante la reinfección (3,13). La producción de interleucina 4 (IL-4) es realizada por linfocitos T y mastocitos. Esto arregla el crecimiento, el desarrollo y la involución de células como los linfocitos T y B; y juega un papel en la inmunidad contra patógenos extracelulares y helmintos al aumentar la producción de anticuerpos y las respuestas inflamatorias (14).

El objetivo de este estudio fue investigar el perfil bioquímico sérico y los niveles de IL-2

e IL-4 en las ovejas naturalmente infectadas con ectima infeccioso; revelar qué respuestas se desarrollan en el sistema inmunológico; e identificar la dirección de la respuesta de citocina dominante. Aunque existen pocos estudios in vivo en esta área; nuestro estudio es el primero realizado en animales infectados con ectima nativo. Creemos que los hallazgos contribuirán a la patobiología de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Animales y diseño del estudio.** El material del estudio consiste en las ovejas de entre 1 y 4 meses de edad con síntomas de ectima clínico que habían sido llevadas a la Clínica de Medicina Interna de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Harran, Turquía. El grupo de estudio estaba compuesto por 28 ovejas con lesiones macroscópicas alrededor de la boca y la gingiva; mientras que el grupo de control tenía 10 ovejas clínicamente sanas. Ambos grupos estaban en el mismo rango de edad. En el grupo de control, no se detectó ninguna pérdida de apetito, letargo, debilitamiento, llagas en la boca u otros síntomas en ninguno de los animales del grupo de control y se encontraron valores normales en la frecuencia respiratoria, la frecuencia cardíaca y la temperatura corporal. Ningún animal de ningunos grupos había sido vacunado contra el ectima.

**Recolección de muestras y bioquímica.** Se recogieron cinco ml de sangre de V. jugularis de cada oveja en tubos con tapón amarillo (BD Vacutainer® SST™ II Advance). Después de centrifugar las muestras de sangre (Nuve, NF 800R, Turquía) a 3000 rpm/10 minutos; las muestras de suero se almacenaron a -20°C hasta su análisis. Se utilizó el instrumento Fuji Dri-Chem NX500i (Fujifilm Corporation®, Tokio, Japón) para el análisis bioquímico del suero. Se realizó un panel completo de mediciones de albúmina (ALB), alanina aminotransferasa (ALT), nitrógeno ureico (BUN), colesterol (CHOL), creatinina (CRE), gamma-glutamyl transpeptidasa (GGT), glucosa (GLU), bilirrubina total (TBIL) y proteína total (TP).

**Extracción de ADN y amplificación por PCR.** Las muestras se tomaron raspando las lesiones localizadas en la gingiva y los márgenes de los labios. Las costras se homogeneizaron

mecánicamente con tampón fosfato de 200 µl. Las cáscaras homogeneizadas se utilizaron para la extracción. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó utilizando los cebadores PPP-1 y PPP-4 dirigidos a la región parcial (594 pares de base) del gen B2L del virus (15). Para cada muestra, el volumen de amplificación fue de 30 µL mientras que la mezcla de PCR comprendía 3 µL de ADN, 0,25 µLTaq de ADN polimerasa (5 U/1 µL, Thermo Scientific, EE. UU.), 3 µL10xbuffer (20 mM, Thermo Scientific, EE. UU.), 2 µL MgCl<sub>2</sub> (25 mM, Thermo Scientific, EE. UU.), 1 µL de cada cebador (10 pmol), 1 µL de solución de dNTP (10 mM) (Thermo Scientific, EE. UU.) y 18,75 µL de ddH<sub>2</sub>O. Para la amplificación se utilizó un dispositivo de ciclador térmico Biometra Tone (Analytik Jena, Alemania). Los productos de PCR obtenidos fueron evaluados procesándolos en un gel de agarosa al 1% teñido con EtBr (bromuro de etidio).

**Evaluación del perfil inmunológico.** Después de descongelar a temperatura ambiente al suero de los animales positivos a ectima; se midieron los niveles de interleucina (IL-2 e IL-4) usando el kit ELISA IL-2 de oveja (E0029Sh, Laboratorio de Tecnología de Bioensayos, China) y el kit ELISA IL-4 de oveja. (E0079Sh, Laboratorio de Tecnología de Bioensayos, China).

**Análisis estadístico.** Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa SPSS 22. Primero, se realizó una prueba de normalidad para determinar si las variables tenían una distribución normal. Durante la evaluación se examinaron el coeficiente de variación, el valor de Shapiro-Wilk y el histograma. Las pruebas t de student se utilizaron para parámetros bioquímicos normalmente distribuidos. Las pruebas U de Mann-Whitney se utilizaron para comparar los niveles de IL-2 e IL-4 entre los grupos de variables no distribuidas y ordenadas normalmente. Se consideró como un resultado estadísticamente significativo cuando el valor de p fue menor a 0.05.

**Nota ética.** Antes de comenzar a recolectar muestras para el estudio; la confirmación ética - con fecha 07.05.2021 y número de decisión 2021/004/06 - fue obtenida del Comité de Ética Local de Experimentos con Animales de la Universidad de Harran.

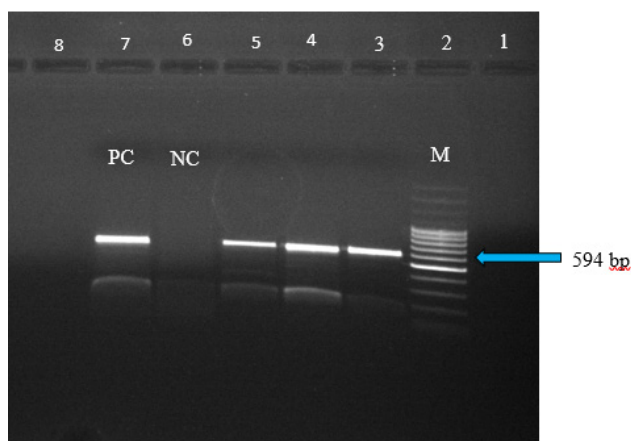
## RESULTADOS

Los animales con síntomas clínicos de ectima (especialmente gingiva y márgenes de los labios) fueron incluidos en este estudio (Figura 1).



**Figura 1.** Lesiones macroscópicas papulares en la gingiva y el labio de oveja.

Los 25 animales de los 28 animales que mostraron síntomas fueron diagnosticados como positivos por PCR (Figura 2).



**Figura 2.** PCR amplicones del virus ORF (594 pb), línea M. Escalera de ADN de 100pb (Thermoscientific, Estados Unidos), líneas 3-5, muestras positivas. Línea 6, control negativo. Línea 7, control positivo.

Los análisis de bioquímica sérica fueron realizados en todas las muestras de ambos grupos. Para las muestras de los animales con ectima contagioso positivo, los niveles de ALT, BUN, GGT y CRE fueron más altos ( $p < 0,001$  y  $p < 0,01$ ) que el grupo de control; mientras que los valores de TP y GLU fueron significativamente más bajos ( $p < 0,001$ ). No hubo diferencias significativas entre los grupos en ALB, CHOL y los valores de TBIL ( $p > 0.05$ ) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valores de los parámetros bioquímicos en suero de oveja del grupo de control y del grupo infectado naturalmente con ectima.

Parámetros	GC (n=10)	GI (n=25)	IR	P
ALB (g/dL)	2.6 ±0.18	2.8 ±0.31	2.4-3.0	0.1
ALT (U/l)	31.1 ±1.15	36.7 ±1.41***	26-34	0.000
BUN (mg/dL)	18.7 ±2.1	22.8 ±0.7***	8-20	0.000
CHOL (mg/dL)	57.4 ±1.26	57.3 ±1.49	52-76	0.05
CRE (mg/dl)	0.90 ±0.03	1.0 ±0.08**	0.5-2.2	0.001
GGT (U/l)	13.20 ±1.3	20.52 ±2.1***	6-17	0.000
GLU (mg/dl)	75.76 ±2.25	56.80 ±1.47***	50-80	0.000
TBIL (mg/dl)	0.18 ±0.78	0.24 ±0.95	0.0-1.6	0.08
TP (g/dL)	6.15 ±0.15	5.30 ±0.11***	6.0-7.9	0.000

GC= Grupo de control  $\bar{x} \pm DE$ ; GI= Grupo infectado  $\bar{x} \pm DE$ ; IR= Intervalos de referencia; \*\*( $p < 0.01$ ), \*\*\*( $p < 0.001$ ), n = número de muestras; x- significa; DE: desviación estándar, prueba t de Student.

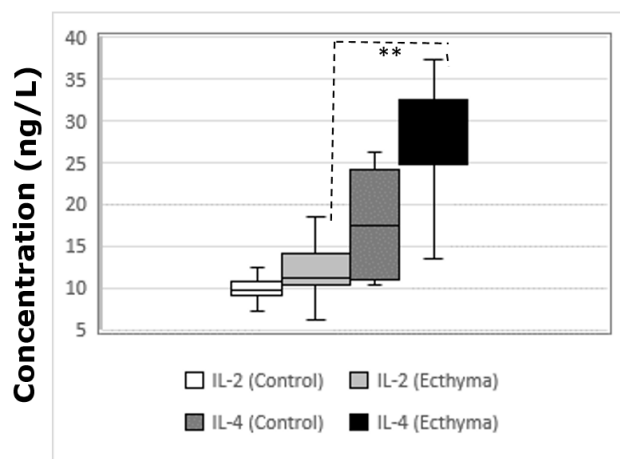
Se determinaron los niveles de suero citocina y los aumentos porcentuales de todos los animales. Ambos niveles de citocina fueron significativamente más altos en los animales infectados que en el grupo de control ( $p < 0.01$ ). La respuesta de la citocina IL-2 fue un 28% mayor en los animales infectados; mientras que la respuesta de la IL-4 fue un 60% mayor (Tabla 2).

**Tabla 2.** Niveles de citocina y aumento del porcentaje de citocina en ovejas infectadas con ectima.

Citocinas (ng/L)	Ovejas sanas de control (n=10) $\bar{x} \pm DE$	Ovejas con ectima (n=25) $\bar{x} \pm DE$	P valor	% aumento de citocina
IL-2	9.76 $\pm 1.60$	12.47 $\pm 3.46^{**}$	0.008	%28
IL-4	17.18 $\pm 6.21$	27.48 $\pm 7.35^{**}$	0.001	%60

\*\*: $p < 0.01$ , n=número de muestras;  $\bar{x}$ -significa; DE: desviación estándar, prueba U de Mann-Whitney.

Finalmente, las concentraciones del suero de citocina variaron de 5 a 40 ng/L, las citocinas Th1 y Th2 se encontraron juntas, y la respuesta de citocina predominante en los animales infectados fue en la dirección de Th2 (Figura 3).



**Figura 3.** Concentraciones de interleucina y respuesta de citocina predominante.

## DISCUSIÓN

Aunque el ectima contagioso progresa con baja mortalidad; su alta tasa de morbilidad provoca graves pérdidas económicas, especialmente en los países en desarrollo. La falta de erradicación

de esta enfermedad probablemente se debe a la falta de una observación adecuada, un conocimiento epidemiológico adecuado además de la falta de estrategias de control. El reconocimiento de la enfermedad, las medidas de control, la atención adecuada y las condiciones de alimentación y transporte son fundamentales para prevenir epidemias además de prevenir los rendimientos reducidos. En comparación con otros poxvirus; este patógeno se debe investigar exhaustivamente debido a su amplia gama de receptoras, el potencial de zoonosis y la capacidad de crear una reinfección que evite el sistema inmunitario (1). Aunque varios estudios inmunológicos (1,3,7,13,16) fueron realizados; el nuestro es el primer estudio que investiga los parámetros bioquímicos junto con la respuesta de citocina dominante en el ectima contagioso.

Este estudio comparó los parámetros bioquímicos del suero en los animales de control sin enfermedad y los animales con ectima positivo. En los animales infectados, ALT, BUN, CRE y GGT fueron más altos mientras que GLU y TP fueron más bajos. Los valores de ALB, CHOL y TBIL no difirieron entre los grupos. Asl y col. reportaron hallazgos similares para los parámetros bioquímicos del suero en cabras con ectima infeccioso. En los animales domésticos, la actividad del suero GGT se deriva únicamente del hígado. Los niveles elevados pueden indicar daño a las células epiteliales biliares. A diferencia de los hallazgos de nuestro estudio; Asl y col. reportaron valores de GLU más altos en los animales infectados que en los animales de control, pero no hay diferencia significativa en TP. El valor elevado de GLU puede estar relacionado con el estrés (17). El nivel más bajo de GLU en animales infectados en nuestro estudio puede estar relacionado con una ingesta insuficiente de alimentos una vez que aparecieron los síntomas en estos animales. Además, los niveles altos de creatina sérica y BUN causaron pérdida de proteínas en animales infectados, lo que es consistente con niveles más bajos de TP en los animales infectados en nuestro estudio.

Kataria et al (18). reportaron hallazgos similares - a los hallazgos del presente estudio - del análisis bioquímico sanguíneo de los animales sanos y los animales infectados con Peste de pequeños rumiantes, que progresa con llagas en la boca y causa una tasa de mortalidad más alta que el ectima (18). Del mismo modo, Narnaware et al (19). evaluaron

los parámetros bioquímicos séricos en camellos infectados con ectima contagioso y encontraron un aumento de ALT pero una disminución de TP y GLU (19); mientras que Gameel et al (20), detectaron hipoproteinemia y aumento de ALT en corderos infectados con ectima infeccioso. Ellos concluyeron que; la ALT elevada en la sangre puede estar directamente relacionada con el alcance del daño tisular, los niveles de mediadores inflamatorios en la sangre y las lesiones cutáneas graves (20). Del mismo modo, Asl et al (17) sugirieron que los cambios en los parámetros bioquímicos pueden estar asociados con desnutrición, pérdida de peso, estrés oxidativo, inflamación e infección bacteriana secundaria (17).

Los linfocitos T - que son una parte importante de la inmunidad - incluyen moléculas auxiliares de CD4+ (Th) y CD8+ (Tc). Lo importante aquí es que; las células que presentan antígenos deben disponer el antígeno a las células CD4+ Th para formar respuestas inmunitarias tanto celulares como humorales. Las células inmunocompetentes Th - que se activan por el antígeno presentado- comienzan a diferenciarse y proliferar. Las células Th se diferencian en células Th1, Th2 o Th17. En este proceso se activan muchos genes de citocina. Estos subgrupos de Th realizan diferentes funciones con las citocinas que secretan. Las células Th1 luchan contra los virus y la bacteria intracelular al producir IL-2, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (efecto inflamatorio) (21,22,23). La IL-2 secretada por las células Th1 se requiere para activar las células Tc, que desempeñan un papel clave en la destrucción de las células infectadas por bacterias y virus. Este efecto indirecto aumenta aún más la importancia de la activación de Th1 en la lucha contra las infecciones. Las células Th2 generan las citocinas IL-4, IL-5, IL-10, IL-13. Así, estimula la proliferación de células B y la secreción de inmunoglobulinas de las células plasmáticas (24). Las células Th2 no tienen ningún efecto sobre las reacciones mediadas por células (efecto antiinflamatorio) (25). Haig et al (26), investigaron la reacción de citocina de la linfa aferente después de la inyección de virus inactivado en ovejas preinfectadas con ectima infeccioso. Las células T CD4+ aumentaron en ambos grupos en comparación con otros tipos de células en la linfa, mientras que también hubo diferencias en los aumentos de citocinas individuales en la linfa después de la reinfección, aunque las lesiones del ectima tenían tamaños y tiempos de curación similares (26). Anziliero et al (27) investigaron los efectos del

parapoxvirus ovis inactivado (iPPOV) en ratones con vacunación intraperitoneal en la expresión de citocina. Se produjo una respuesta compleja de citocina en la que la respuesta de citocina Th1 fue seguida por la respuesta Th2 (27). Avci et al (28) administraron iPPOV a ratas por vía intraperitoneal para investigar sus efectos sobre los niveles de citocina antiinflamatoria y proinflamatoria. Se tomaron muestras de suero a intervalos horarios para TNF- $\alpha$  (16 y 24 horas) e IL-6 (12, 16 y 24 horas). Las síntesis se estimularon provocando ondulaciones en los niveles de IL-10 e IL-12. Los niveles aumentados de citocina fueron asociados con la actividad inmunomoduladora del iPPOV (28). Wang et al (29) estudiaron la respuesta a las células objetivo después de la infección por el virus orf en las células de fibroblasto de la piel de cabra, que es el objetivo principal de la receptora. La infección viral aumentó los niveles de decorina, IL-8 y TNF- $\alpha$  en la etapa temprana, lo que proporcionó los datos importantes sobre la patogenia de la enfermedad y su interacción con la receptora (29). Pacheco et al (30) investigaron el equilibrio de Th1/Th2 en tres grupos de ovejas de 7 meses de edad: estos grupos son el grupo infectado con *Fasciola hepatica*, el grupo vacunado y el grupo de control. Encontraron una mayor regulación de Th2 y una menor respuesta de Th1 en 9-18 días después de la infección en ovejas vacunadas y no vacunadas con *Fasciola hepatica* (30).

El equilibrio de Th1/Th2 es importante; porque puede cambiar la aparición y el curso de infecciones agudas y crónicas, enfermedades autoinmunes o inflamatorias, alérgicas y neoplásicas (24,31,32). Los glucocorticoides - que son los productos finales de la actividad del eje HPA - aumentan la producción de IL-4, IL-10, IL-13 por las células Th2 mientras inhiben la proliferación de linfocitos, la citotoxicidad y la secreción de IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  (33). El uso de glucocorticoides en medicina veterinaria es bastante común, particularmente en el campo de tratamiento para la inflamación crónica, el dolor y la curación acelerada. Sin embargo, es muy importante a medir el equilibrio de la respuesta inmune cuando se usan glucocorticoides para apoyar el tratamiento.

Nuestro estudio tomó muestras de ovejas llevadas al hospital para un examen clínico de rutina, mientras que las ovejas infectadas naturalmente del mismo grupo de edad y con lesiones en la misma región fueron utilizados para la uniformidad y la determinación de la

respuesta de citocina. Sin embargo, la respuesta inmune puede verse afectada por muchos factores diferentes. Por lo tanto, un estudio futuro con mayores recursos financieros puede comparar las respuestas de citocina mientras que se controlan las condiciones de atención y alimentación, la edad y el tiempo desde el inicio de la infección. Se pueden realizar diferentes estudios para comprender las similitudes y diferencias en la respuesta de citocina mediante la realización de estudios in vivo en ectima o en diferentes enfermedades.

Nuestro estudio analizó los perfiles bioquímicos del suero y los niveles de citocina de las ovejas no vacunadas, infectadas por primera vez de forma

natural. Especialmente los hallazgos de citocina fueron notables. Los hallazgos muestran que; tanto la respuesta celular como la respuesta humoral se desarrollan en la respuesta inmune (efecto antiinflamatorio) donde la respuesta Th2 es dominante. Los resultados obtenidos pueden proporcionarnos más información sobre la patogenia, el pronóstico y las opciones de tratamiento de la enfermedad.

### Conflicto de intereses

No hay ningún conflicto de intereses entre los autores.

## REFERENCIAS

1. Karki M, Venkatesan G, Kumar A, Kumar S, Bora DP. Contagious ecthyma of sheep and goats: A comprehensive review on epidemiology, immunity, diagnostics and control measures. *Veterinarski Arhiv*. 2019; 89(3):393-423. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0208>
2. Bala JA, Balakrishnan KN, Jesse FFA, Abdullah AA, bin Noorzahari, MS, Ghazali MT, et al. Identification of strain diversity and phylogenetic analysis based on two major essential proteins of Orf viruses isolated from several clinical cases reported in Malaysia. *Infect Genet Evol*. 2020; 77:104076. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104076>
3. Rintoul JL, Lemay CG, Tai LH, Stanford MM, Falls TJ, De Souza CT, et al. ORFV: a novel oncolytic and immune stimulating parapoxvirus therapeutic. *Mol Ther*. 2012; 20(6):1148-1157. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.301>
4. Yang Y, Qin X, Wang G, Jin J, Shang Y, Zhang Z. Development of an isothermal amplification-based assay for rapid visual detection of an Orf virus. *Viol J*. 2016; 13(1):1-6. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0502-x>
5. Nandi S, De UK, Chowdhury S. Current status of contagious ecthyma or orf disease in goat and sheep—a global perspective. *Small Rumin Res*. 2011; 96(2-3):73-82. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.11.018>
6. Khalafalla AI, Elhag AE, Ishag HZA. Field investigation and phylogenetic characterization of orf virus (ORFV) circulating in small ruminants and Pseudocowpoxvirus (PCPV) in dromedary camels of eastern Sudan. *Heliyon*. 2020; 6(3):e03595. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03595>
7. Bergqvist C, Kurban M, Abbas O. Orf virus infection. *Rev Med Virol*. 2017; 27(4):e1932. <https://doi.org/10.1002/rmv.1932>
8. Lawan Z, Bala JA, Bukar AM, Balakrishnan KN, Mangga HK, Abdullah FFJ, et al. Contagious ecthyma: how serious is the disease worldwide? *Anim Health Res Rev*. 2021; 22(1):1-16. <https://doi.org/10.1017/S1466252320000018>
9. Khatiwada S, Delhon G, Nagendraprabhu P, Chaulagain S, Luo S, Diel DG, et al. A parapoxviral virion protein inhibits NF-κB signaling early in infection. *PLoS Pathog*. 2017; 13(8):e1006561. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006561>

10. Quresma JAS. Organization of the skin immune system and compartmentalized immune responses in infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2019; 32(4):e00034-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00034-18>
11. Muhsen M, Protschka M, Schneider LE, Müller U, Köhler G, Magin TM, et al. Orf virus (ORFV) infection in a three-dimensional human skin model: Characteristic cellular alterations and interference with keratinocyte differentiation. *Plos One.* 2019; 14(1):e0210504. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210504>
12. Dalal A, Kumar V, Chaudhary D, Bansal N, Kumar A, Kakker N, et al. Past and Present Overview of "Orf". *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2017; 6(12):2159-2173. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.248>
13. Haig DM, McInnes C, Deane D, Reid H, Mercer AA. The immune and inflammatory response to orf virus. *Comp Immunol Microbiol.* 1997; 20(3):197-204. [https://doi.org/10.1016/S0147-9571\(96\)00045-8](https://doi.org/10.1016/S0147-9571(96)00045-8)
14. Fatehi F, Kyrychko YN, Molchanov R, Blyuss KB. Bifurcations and multistability in a model of cytokine-mediated autoimmunity. *Int. J. Bifurc Chaos Appl Sci Eng.* 2019; 29(03):1950034. <https://doi.org/10.1142/S0218127419500342>
15. Strugaru OR, Velescu E, Perianu T, Bocăneți F, Scagliarini A. Detection of orf virus and papillomavirus out of samples from goats and cattle which were gathered by multiplex PCR Romania. *Cercet agron Mold.* 2012; 45(2):85-88. [http://www.uaiasi.ro/CERCET\\_AGROMOLD/CA2-12-10.pdf](http://www.uaiasi.ro/CERCET_AGROMOLD/CA2-12-10.pdf)
16. Zhao K, He W, Gao W, Lu H, Han T, Li J, et al. Orf virus DNA vaccines expressing ORFV 011 and ORFV 059 chimeric protein enhances immunogenicity. *Virology.* 2011; 8(1):1-12. <https://virologyj.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1743-422X-8-562.pdf>
17. Asl SAK, Aslani MR, Mohebbi A, Mokhtari A. Hematological and biochemical evaluation of goats naturally infected with contagious ecthyma. *Hematol.* 2019; 10(2):43-47. <https://doi.org/10.22067/veterinary.v2i10.69865>
18. Kataria AK, Kataria N, Gahlot AK. Large scale outbreaks of peste des petits ruminants in sheep and goats in Thar desert of India. *Slov Vet Res.* 2007; 44(4):123-132. [http://www2.vf.uni-lj.si/ZB/SlovVetRes\\_44\\_\(4\)\\_pp123-132.pdf](http://www2.vf.uni-lj.si/ZB/SlovVetRes_44_(4)_pp123-132.pdf)
19. Narnaware SD, Nagarajan G, Dahiya SS. Hemato-biochemical studies in Indian camel (*Camelus dromedarius*) affected with contagious ecthyma. *Indian J Appl Res.* 2015; 39(2):168-170. <https://doi.org/10.5958/0973-970X.2015.00038.3>
20. Gameel AA, Abu Elzein EME, Housawi FMT, Agib A, Ibrahim AO. Naturally occurring contagious ecthyma in lambs in Saudi Arabia. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 1995; 48(3):233-235. <https://europepmc.org/article/med/8745744>
21. Cantorna MT, Snyder L, Lin YD, Yang L. Vitamin D and 1, 25 (OH) 2D regulation of T cells. *Nutrients.* 2015; 7(4):3011-3021. <https://doi.org/10.3390/nu7043011>
22. Wu Y, Tian Z, Wei H. Developmental and functional control of natural killer cells by cytokines. *Front Immunol.* 2017; 8:930. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00930>
23. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4+ T cells in immunity to viruses. *Nat Rev Immunol.* 2012; 12(2):136-148. <https://doi:10.1038/nri3152>
24. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today.* 1996; 17(3):138-146. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(96\)80606-2](https://doi.org/10.1016/0167-5699(96)80606-2)
25. Tizard IR. *Veterinary Immunology.* 10th Edn. Elsevier Health Sciences; 2016.
26. Haig D, Deane D, Percival A, Myatt N, Thomson J, Inglis L, et al. The cytokine response of afferent lymph following orf virus reinfection of sheep. *Vet Dermatol.* 1996; (7)1:11-20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.1996.tb00221.x>



27. Anziliano D, Weiblen R, Kreutz LC, Spilki F and Flores, EF. Inactivated Parapoxvirus ovis induces a transient increase in the expression of proinflammatory, Th1-related, and autoregulatory cytokines in mice. *Braz J Med Biol Res.* 2014; 47(2):110-118. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20133358>
28. Avci O, Bulut O, Dik I. Effects of inactive parapoxvirus ovis on cytokine levels in rats. *J Vet Med Sci.* 2015; 78(1):129-131. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0231>
29. Wang L, Lu B, Zheng H, Zhang K, Liu X. Parapoxvirus orf virus infection induces an increase in interleukin-8, tumour necrosis factor- $\alpha$ , and decorin in goat skin fibroblast cells. *J Vet Sci.* 2016; 60(3):239-243. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2016-0036>
30. Pacheco IL, Abril N, Morales-Prieto N, Bautista MJ, Zafra R, Escamilla A, et al. Th1/Th2 balance in the liver and hepatic lymph nodes of vaccinated and unvaccinated sheep during acute stages of infection with *Fasciola hepatica*. *Vet Parasitol.* 2017; 238:61-65. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.03.022>
31. Alhussien MN, Dang AK. Interaction between stress hormones and phagocytic cells and its effect on the health status of dairy cows: A review. *Vet World.* 2020; 13(9):1837. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1837-1848>
32. Elenkov IJ. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Ann N Y Acad Sci.* 2014; 1024(1):138-146. <https://doi.org/10.1196/annals.1321.010>
33. Takahashi A, Flanigan ME, McEwen BS, Russo SJ. Aggression, social stress, and the immune system in humans and animal models. *Front Behav Neurosci.* 2018; 12:56. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00056>