



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“EVALUACIÓN PRODUCTIVA DEL USO DE SELENIO, VITAMINA B₁₂ Y LA
LEUCOTOXINA DE *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA* EN BOVINOS DE
ENGORDA.”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

ROMEO AGUILAR LÓPEZ

ASESOR:

DR. JORGE TORTORA PÉREZ

COASESOR:

M.V.Z. RUPERTO JAVIER HERNÁNDEZ BALDERAS

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES.

Por todo su apoyo para que pudiera lograr dar este importantísimo pasó en mi vida.

Los quiero.

A MI HERMANA.

Por tu compañía incondicional

A MI GRAN AMOR Y COMPAÑERA ARGELIA.

Por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas. Te Amo no lo olvides.

A MI HIJO.

Mateo por tu amor desinteresado y ser el motivo para no detenerme y seguir echándole
ganas.

AGRADECIMIENTOS

AL M. V. Z. R. JAVIER HERNANDEZ BALDERAS

Por todos sus consejos, apoyo y amistad.

AL DR. JORGE TORTORA PEREZ

Por su paciencia y tolerancia durante el desarrollo de esta tesis.

AL LABORATORIO ANIMAL CARE PRODUCTOS

Por la facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.

AL RANCHO “DOS MATAS” SOCIEDAD DE PRODUCCIÓN RURAL.

AL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES,

AGRICOLAS Y PECUARIAS.

AL DR. JOSÉ FRANCISCO MORALES ALVARES

AL M. V. Z. ERNESTO FAUSTO RIOS

Por su amistad, ayuda y préstamo de equipo. (Me lo apuntas en el hielo).

A MIS SINODALES

Por sus acertados y oportunos comentarios para la mejora de esta tesis.

A TODOS MIS AMIGOS DE LA FACULTAD

A LA F. E. S. CUAUTITLAN C. 4

A LA UNAM

Índice:	Página
1.- Resumen	5
2.- Introducción	8
3.- Justificación	65
4.- Hipótesis	65
5.-Objetivo general	65
6.- Objetivos particulares	65
7.- Material y métodos	66
8.- Resultados	73
9.- Discusión	79
10.- Conclusiones	83
11.- Bibliografía	85

Resumen

Éste trabajo se realizó en el Rancho “Dos Matas” ubicado en el Municipio de Tierra Blanca en el Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave, México. Los objetivos de esta tesis fueron evaluar ganancias de peso, determinar niveles plasmáticos de Selenio (Se) y los títulos de anticuerpos contra antígenos de la leucotoxina de *Mannheimia haemolytica* en sueros de bovinos de engorda suplementados parenteralmente con Selenio.

Se seleccionaron 120 novillos de características similares. A su llegada fueron vacunados contra virus respiratorios, bacterina de *M. haemolytica*, un producto múltiple contra clostridiasis, se desparasitaron, se implantaron e identificaron. Los animales se dividieron aleatoriamente en dos grupos de 60 animales, al grupo experimental (grupo A) se le aplicó el día 30 y 60 del ensayo, un producto comercial neozelandés, con selenato de sodio, 4 mg de Se/ml y hidroxicianocobalamina (2000mcg), a una dosis recomendada por el fabricante de 5 ml, el grupo control (grupo B) se mantuvo como no tratado con Se. A ambos grupos se les aplicaron 2 ml de una suspensión bacteriana formalinizada de *M. haemolytica* serotipos A1 y A2, *P. multocida* Tipo A y 20 unidades citotóxicas de leucotoxina a una dosis de 2 ml, el día 30 del ensayo. Ambos grupos recibieron la misma dieta “*ad libitum*”.

De cinco animales de cada grupo se obtuvieron entre 5 y 10 ml de sangre mediante venopunción coccígea, empleando el sistema de tubos al vacío con Etilen-Diamino-Tetra-Acetato (EDTA), para obtener el plasma, los días 30, 37, 45, 60 y 90 que se trabajaron como “pool” para determinar los niveles de Se. El Se se determinó por medio

de la prueba de espectrofotometría de absorción atómica con flujo de hidruros. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza utilizando el paquete de “Statistical Analysis System-SAS, 1985”. Las muestras de sangre tomadas sin EDTA se utilizaron para obtener suero y medir el título de anticuerpos contra la leucotoxina, con la prueba de ensayo visual simple de seroneutralización de muerte leucocitaria.

Los valores de Se en la dieta variaron de 0,4 a 0,6 mcg/g en adaptación y finalización respectivamente y de 0,7 a 1,0 mcg/g en la dieta de recepción, adicionada con un compuesto de selenolevaduras, rico en selenometionina.

Los valores hemáticos de Se resultaron significativamente elevados en el 2do. muestreo (350ppb, $p < 0.05$), en los animales suplementados, para reducirse en el tercero, en concordancia, con una reducción en la ganancia diaria de peso (GDP), atribuible al cambio de dieta. Las GDP fueron mayores en los novillos selenificados, 153 y 203 g/día en los pesajes de los días 45 y 60 respectivamente ($p < 0.05$). Los pesos finales fueron de 574,45 y 556,33 Kg en los animales selenificados y controles respectivamente. Las dietas presentaron niveles de Se adecuados, sin embargo los animales respondieron a la suplementación parenteral, incrementando los niveles hemáticos de Se y sus GDP. En el pesaje con dieta de finalización (día 75), ocurrió una caída de peso que afectó a controles y suplementados, atribuida a menor consumo y conversión, que afectó más a los animales selenificados, determinando un estancamiento en las GDP, sin embargo estos animales recuperaron mayor peso que el grupo control y los alcanzaron en el último pesaje (día 90). La suplementación parenteral con Se mejoró la GDP en los novillos tratados.

El grupo experimental (grupo A) mostró mayor aumento de peso, los títulos de anticuerpos salieron considerablemente más altos y la concentración de Se en sangre fue mayor que el grupo que no fue tratado con Se (grupo B).

La respuesta a leucotoxina fue significativamente superior en los animales suplementados, que presentaron un título promedio corregido de 1,15 (1:1600) contra los controles con 0.49 (1:400) ($p < 0.05$) pese a que en el primer muestreo sus títulos eran menores a los del grupo control ($p < 0.05$). Se observó una mejor respuesta a leucotoxina, la forma más adecuada de protección contra la “Pasteurelisis neumónica” en rumiantes, en los animales suplementados.

Introducción

Selenio.

El Selenio (Se), elemento no-metal, existe en varias formas alotrópicas. Está clasificado como un metaloide que se encuentra entre el azufre (S) y el telurio en el grupo VI-A, entre el arsénico y el bromo en el periodo 4 de la tabla periódica. El Se existe en varios estados de oxidación y estos permiten formar diversos compuestos orgánicos como dimetilselenuro, trimetilselenio y aminoácidos, seleniometionina, (SeMet) y selenocisteína (SeCys).¹⁵⁷ Fue descubierto en 1817 por Berzelius. Tiene un peso atómico de 78,96 y número atómico 34. El Se puede reemplazar al S en los aminoácidos, glucósidos, glutatión, tiamina y otros compuestos a los que da carácter tóxico. También está involucrado en algunos puntos del metabolismo intermediario: induce la síntesis de algunos selenoaminoácidos,¹⁶⁵ absorción de lípidos en el tracto gastrointestinal;⁴⁷ interviene en el metabolismo de compuestos sulfhidrilo.²⁵ y presenta un efecto favorecedor en la actividad global del sistema de la α -cetoglutarato oxidasa.⁵⁴

Fisiología y metabolismo del Selenio.

Absorción

La absorción del Se se realiza en el duodeno, en el yeyuno e ileon. La cantidad absorbida depende de la forma química en la cual es ingerido. La absorción del Se cuando es administrado como selenito por vía oral, es del 77 al 85 % en monogástricos, y del 29 al 35 % en rumiantes.⁸⁵ La diferencia de absorción se debe a la pérdida del elemento ocasionada por los microorganismos del rumen, que convierten una porción del Se en formas insolubles (Se elemental y selénidos) y otra porción la incorporan a sus proteínas para la formación de algunos selenoaminoácidos (SeCys y SeMet) ^{38,65} Otros

factores que influyen en la absorción son las necesidades de los tejidos, la forma disponible del elemento, la presencia de metales pesados como cadmio, plata, mercurio y cobre (Cd, Ag, Hg y Cu).⁸⁵

Selenoproteínas

La primera función descrita del Se fue la de componente integral de la enzima glutatión peroxidasa (Gsh-Px) eritrocítica, en la prevención de la peroxidación.⁷⁵ La concentración de esta enzima en los tejidos animales esta bajo el control nutricional, la suplementación determina una rápida elevación en el tejido sanguíneo y la integración del elemento a la Gsh-Px.⁴⁵ La Gsh-Px se encuentra en espermatozoides, tiroides, músculo estriado, músculo cardíaco, eritrocitos, cerebro, timo, y tejido adiposo.⁸ La Gsh-Px desempeña un papel central en los procesos de oxido-reducción celulares, al catalizar las reacciones que ayudan a destruir tanto al agua oxigenada como a los peróxidos de ácidos grasos (hidroperóxidos orgánicos) que se generan en el organismo. Si los peróxidos se encuentran en concentraciones elevadas en la célula, oxidan a las proteínas y lípidos de las membranas alterando la función de éstas moléculas.⁷

La transferencia del Se de sangre a tejidos es realizada por la selenoproteína P; la cual es sintetizada en hígado. El Se sustituye al S en los aminoácidos azufrados de la porción hemo del citocromo C y en algunos ácidos aminocil nucleicos (t=RNA) en los que parece participar en procesos oxidativos.¹²¹ A la fecha, se han caracterizado más de 30 selenoproteínas en mamíferos, que están asociados con actividades bioquímicas y fisiológicas, algunas de estas selenoproteínas son: 4 Gsh-Px (citósólica, gastrointestinal, extracelular o plasmática e hidroperóxido fosfolípido), selenoproteína P, selenoproteína W, 3 iodotironina deiodinasas (Tipo I, Tipo II y Tipo III), 2 tioredoxina reductasas

(citoplasmática y mitocondrial), selenoproteína de la cápsula mitocondrial de los espermatozoides de mamíferos.⁴⁵ Otras selenoproteínas que se han identificado son la tioredoxin reductasa, proteínas selenoligadas (58, 56 y 14 kda) y una selenoproteína en células epiteliales glandulares en la próstata de ratones.³⁰

La selenoproteína W se manifiesta en músculo esquelético, su función no se ha identificado, se postula que tiene propiedades antioxidantes. La pérdida de esta selenoproteína se asocia con la enfermedad del músculo blanco en ovejas.⁹²

El Se es esencial para un metabolismo normal de la hormona tiroidea. Esta conexión fue reconocida al observar una elevada concentración plasmática de tiroxina (T4) y una concentración disminuida de triiodotironina (T3) en animales selenodeficientes.¹⁴ La actividad reducida de la hormona tiroidea explica el porque los animales deficientes de Se crecen más lentamente. Se han identificado tres selenoproteínas (iodotironina deiodinasas) que regulan la conversión de tiroxina T4 a la forma activa T3 (3,3,5-triiodotironina) o a la forma inactiva rT3 (triiodotironina inversa).¹² Los efectos de la deficiencia de Se sobre el metabolismo tiroideo se atribuyeron a la inhibición de la deiodinasa de iodotironina hepática (ID-I) la cual convierte T4 a T3 por 5' monodeiodinación. La ID-II se encuentra en cerebro y sistema nervioso central de animales y también en el tejido adiposo pardo de algunas especies, convierte T4 a T3 dentro de estos tejidos.¹²

La glándula tiroidea produce cantidades significativas de H₂O₂ para la síntesis de hormonas tiroideas, este peróxido también puede determinar daño, si es producido en exceso. Cualquier deterioro de los sistemas detoxificantes de peróxido tiroideo, por deficiencia de Se, determinará daño en el tirocito.¹²

Los animales adultos se adaptan a las bajas temperaturas gracias a la producción de calor estimulada por la tiroidea. Esto tiene especial importancia para los terneros que nacen en los climas fríos. El calor metabólico generado en el tejido adiposo café es la principal defensa contra el enfriamiento del cuerpo después del nacimiento y ayuda a los neonatos a sobrevivir durante las primeras semanas de vida. El tejido adiposo café, bajo la influencia de la T3 incrementa la producción de una proteína esencial para la termogénesis. Una disminución en la actividad de ID-I reducirá los niveles de T3, limita la producción de calor y hace a los terneros susceptibles al estrés por frío.¹⁴

Glutación peroxidasa (Gsh-Px).

La Gsh-Px presenta un peso molecular de 80.000 daltons, con 4 subunidades idénticas, y que cada una de ellas contiene un residuo de SeCys, que es un análogo de la cisteína que contiene S,²⁹ y que es esencial para su actividad enzimática, contiene 4 átomos de Se por mol.³² La Gsh-Px representa el 75% del Se sanguíneo, estando contenida en el interior de los glóbulos rojos a los que se incorpora durante la eritropoyesis.¹²² Esta enzima se sintetiza en la célula a partir de tres aminoácidos (glutamato, glicina, cisteína) y dos moléculas de ATP, cerca de una tercera parte del Se en los eritrocitos está en forma de Gsh-Px y el resto, está enlazado a la hemoglobina.^{47,149} La Gsh-Px cataliza la reducción de peróxidos a alcoholes. Actúa principalmente en las mitocondrias y cloroplastos catalizando dos tipos de reacciones: la reducción del agua oxigenada a radical hidropéroxido en presencia de glutación (Gsh) y Se y la reducción del hidropéroxido a compuestos más estables también en presencia de Gsh.⁷²

Los peróxidos son reducidos mediante la reacción catalizada por la Gsh-Px, en la cual el Gsh reducido actúa como donante de H; a continuación el Gsh oxidado se reduce de

nuevo, es decir, es regenerado por reacciones subsiguientes, mediante una reacción en la que participan la glutatión reductasa y un donante de H. Una de las funciones más importantes del Gsh es proteger a la célula contra la acción de los radicales libres, convierte el H_2O_2 y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres. La Gsh-Px comparte su sustrato con la catalasa y puede reaccionar de manera efectiva con lípidos y otros hidroperóxidos orgánicos.³²

Actividad antioxidante

Los antioxidantes son aquellas sustancias que retardan o previenen la oxidación, Al interactuar con el radical libre, se oxidan y se transforman en radicales libres débiles, no tóxicos. La Gsh-Px asegura la destrucción del H_2O_2 que se forma en las reacciones oxidativas respiratorias. Sin tal eliminación, las células musculares, pancreáticas, hepáticas y los eritrocitos de la sangre serían destruidos con rapidez.³⁸

El Se previene la formación de peróxidos grasos por secuestro de radicales libres antes de que ellos inicien la peroxidación grasa. En los lípidos de la membrana se forman poros, permitiendo que algunas sustancias, como el Ca se difundan hacia el medio intracelular. Los sistemas antioxidantes se dividen en dos grupos: Internos y Externos. Los primeros se dividen a su vez en enzimáticos y los no enzimáticos. El grupo de enzimas que catalizan las reacciones de los radicales libres esta integrado por la superóxido-dismutasa mitocondrial y plasmática, la catalasa que es una enzima que contiene hierro y se ha encontrado en los peroxisomas y la Gsh-Px que cataliza la degradación de peróxidos de hidrógeno y peróxidos lipídicos, todas ellas actúan acelerando las reacciones por las cuales los radicales libres se reducen rápidamente a agua.¹⁰⁵

Entre las defensas antioxidantes no enzimáticas, tiene un lugar predominante el glutatión (Gsh), que es un poderoso antioxidante que protege contra los efectos dañinos de metales pesados y otras moléculas que contienen tioles, tiene alto poder reductor y puede cederle un electrón a las especies reactivas de oxígeno y/o de nitrógeno (EROs y/o ERNs), disminuyendo así su reactividad. Este tipo de compuestos actúan como “atrapantes” de radicales libres. Entre ellos se pueden citar a la tiorredoxina (Trx), al ácido ascórbico y a las vitaminas E y A. Macromoléculas como la transferrina, ceruloplasmina, albúmina, el hierro, actúan como antioxidantes de elementos de transición y están presentes en los fluidos extracelulares. Compuestos como ascorbatos, urato, ubiquinona y B-caroteno actúan rompiendo las cadenas de peroxidación una vez que éstas han sido iniciadas.^{96,111} El lugar de acción depende de la enzima, algunos son más efectivos en el interior celular y otros fuera.¹³⁰

El daño oxidativo

Los radicales libres son átomos de O_2 extremadamente reactivos. Esta inestabilidad les confiere una afección física por la captura de un electrón de cualquier otra molécula de su entorno, ocasionando que la estructura afectada quede inestable. De esta forma pueden establecer reacciones en cadena. A través de la peroxidación, los ácidos grasos polinsaturados (AGPi) producen H_2O_2 con un radical libre dañino al tejido, la secuencia puede ser interrumpida primero por la Gsh-Px que reduce el peróxido y después por el alfatocoferol que remueve los radicales libres evitando en conjunto la oxidación.¹²⁰

Las células metabolizan la mayor parte del O_2 (95%) hasta agua mediante una vía de reducción tetravalente, mientras que un pequeño porcentaje (5%) lo hace mediante una reducción univalente, En este último caso, una molécula de O_2 más cuatro electrones y

cuatro protones forman dos moléculas de agua y tres intermediarios altamente tóxicos. En situaciones donde existe una importante actividad metabólica, hay una mayor demanda tisular de O₂ y parte del O₂ se metaboliza siguiendo la vía univalente, generándose radicales libres nocivos. Todas estas especies se generan intracelularmente y deben convertirse en especies menos reactivas si se pretende que el organismo sobreviva.¹³⁰

Los radicales libres se forman por fuentes exógenas o endógenas. Un ejemplo de las segundas se observa en los sistemas biológicos, los cuales necesitan el O₂ para su metabolismo energético. Aproximadamente 80% del adenosíntrifosfato (ATP) se forma en las mitocondrias, donde se consume entre 85 y 90 % del O₂. El O₂ molecular disuelto entra a la cadena respiratoria para reducirse a agua, proceso en el que son generados, el anión superóxido, el H₂O₂ y el radical hidroxilo. El proceso de la cadena respiratoria en la mitocondria genera 4 radicales libres por cada molécula de O₂ que entra al sistema. Un pequeño porcentaje de los electrones provenientes de NADH, por la incompleta reducción del O₂, se desvían hacia la formación de (EROS). Si la carga de oxidantes supera las defensas antioxidantes, estos compuestos lesionan los tejidos al fijarse a los componentes estructurales de las células.^{95,130}

El rol antioxidativo resulta importante durante la respuesta inmune e inflamatoria, en la que los neutrófilos producen gran cantidad de especies activas de O₂, en el conocido como “estallido respiratorio”, siendo estos compuestos necesarios para su función antimicrobiana.¹³⁴ Determinados leucocitos contribuyen a la defensa frente a los agentes infecciosos mediante la fagocitosis y pueden ingerir una célula bacteriana, este fenómeno va seguido de un rápido aumento de la captación de O₂. Gran parte de este O₂

se reduce a ion superóxido y a H_2O_2 , que contribuyen a destruir la bacteria engullida. Los polimorfonucleares, los monocitos sensibilizados, los macrófagos, los eosinófilos y los fibroblastos, están dotados de diversas enzimas líticas (proteasas, lipasas, nucleasas), así como de vías metabólicas que generan varias especies químicamente agresivas, básicamente H_2O_2 , radicales superóxido e hidroxilo, y probablemente solo O_2 , cuyo fin es lesionar y destruir elementos extraños. En condiciones normales estas especies reactivas son producidas y utilizadas en compartimientos como los lisosomas que en el interior de los fagocitos, no tienen por qué dañar a la célula, siempre y cuando los mecanismos antioxidantes funcionen.⁴²

Los radicales libres cumplen también una función fisiológica, al participar en el metabolismo normal (respiración mitocondrial), en la detoxificación microsomal, en la fagocitosis e inflamación, en la formación de prostaglandinas y leucotrienos, en la neurotransmisión, e incluso sirven como mensajeros en la comunicación entre la mitocondria y el núcleo celular.¹³⁰

Altas dosis o una eliminación inadecuada de las especies reactivas de oxígeno (EROS) dan lugar a estrés oxidativo, que causa graves disfunciones metabólicas y daño a macromoléculas biológicas. El radical libre, tiene una vida media de microsegundos, corto lapso de tiempo en el que es capaz de interactuar con la biomoléculas cercanas. Los lípidos representan el grupo más susceptible debido a la presencia de dobles enlaces en sus ácidos grasos, y constituyen el organelo celular más expuesto, que es la membrana celular.⁴⁵

El sistema nervioso central es particularmente susceptible al daño por radicales libres debido a sus altos requerimientos energéticos, su gran consumo de O_2 , la elevada

concentración de ion ferroso (Fe^{2+}), la alta composición de lípidos poliinsaturados y los niveles relativamente bajos de algunos sistemas de antioxidantes.¹³⁰

Los lugares de máxima producción de sustancias oxidantes, es donde el O_2 tiene una mayor actividad, y estos son:

1-Retículo endoplásmico: Los citocromos sufren reacciones de autooxidación con formación de radicales libres O_2 y H_2O_2 .

2-Mitocondrias: la ubiquinona y la NADH-deshidrogenasa pueden autooxidarse dando aumento a radicales libres O_2 , H_2O_2 y OH .

3-Peroxisomas citoplasmáticos.

4-Membrana plasmática.

5- Lisosomas.

6-Membrana nuclear.¹³⁰

Los linfocitos parecen ser especialmente susceptibles al daño peroxidativo, debido a que sus membranas tienen un contenido relativamente alto de ácidos grasos libres.¹⁰⁵ Estas membranas están involucradas en el transporte de sustancias solubles y al ser dañadas, el flujo normal de señales inductivas en la célula no ocurre, y se altera la inmunidad mediada por estas células.¹⁰⁵

Efectos de los radicales libres sobre la célula.

1.-Peroxidación de Lípidos insaturados de las membranas celulares: Una molécula reactiva ataca un ácido graso. La interacción del radical libre va dirigida al carbono adyacente, a un doble enlace, ocasionando un rompimiento, al sustraer un H que forma

agua al unirse al radical, mientras que el ácido graso presenta un radical libre (electrón) en el carbono afectado. Una vez que al fosfolípido se le arrebató el electrón, éste busca estabilizar su estructura química y toma el electrón de la molécula próxima, generándose así una reacción en cadena. Los productos de la lipoperoxidación son aldehídos, cetonas, ésteres, alcoholes. Este proceso repetitivo conduce a la membrana a perder sus propiedades fisicoquímicas y culmina con la muerte de la célula, dando lugar a productos tóxicos de degradación que a la larga, producen destrucción de la membrana celular al perder su impermeabilidad y fluidez, por alteración de los gradientes iónicos, con lo que se pierde su capacidad de barrera selectora y la célula muere.⁵²

2.-Oxidación de ácidos nucleicos y nucleótidos: La interacción de radicales libres con el ADN causa cambios conformacionales, alteraciones de bases y ruptura de una o de la doble cadena y pérdida de nucleótidos, eludiendo el sistema de reparación al presentar una mutación antes de la replicación. La rotura de una sola cadena puede repararse, pero las de doble cadena no y la célula muere como resultado de la interrupción de la replicación cromosómica. Esto conduce a genes mutados y por ende, a proteínas disfuncionales. La dimerización del ADN se mantiene en sucesivas duplicaciones de la célula repitiéndose los errores de lectura del código genético, dando lugar a mutaciones. Los epóxidos formados pueden reaccionar espontáneamente con centros nucleofílicos en la célula o unirse a los ácidos nucleicos (ADN y ARN). Esta reacción puede dar lugar a citotoxicidad, alergia, mutagénesis o carcinogénesis.⁵²

3.-Inactivación de enzimas portadores de grupos sulfidrilos: Esto genera graves problemas sobre el estado genético y la propia reserva funcional de las células.⁵²

4.-Oxidación de proteínas: Todas las cadenas laterales de los aminoácidos que forman parte de las proteínas son susceptibles de ser atacadas por el radical hidroxilo. La exposición de proteínas a sistemas generadores de radicales libres conduce a modificaciones en la estructura terciaria, que puede acompañarse de una fragmentación química, un incremento en la susceptibilidad al ataque proteolítico y a la pérdida de la función biológica.⁵²

5.-Oxidación de Carbohidratos: puede dar lugar a la formación de moléculas capaces de reaccionar con los grupos carbonilo de las proteínas. Los monosacáridos de la glucosa, una vez oxidados por los radicales libres producidos por metales de transición, pueden combinarse con los grupos carbonilo de las proteínas.⁵²

El posible destino celular, dependerá de varios factores: el contenido endógeno de defensas antioxidantes, el grado de estimulación de las mismas bajo la condición de estrés, la reversibilidad de las modificaciones a macromoléculas producidas, la magnitud del estrés oxidativo y sus consecuencias funcionales.^{95,130}

Distribución y retención en tejidos.

El Se es un elemento que se encuentra en pequeñas cantidades en los tejidos animales, es indispensable para el funcionamiento normal de músculos, corazón, hígado, riñones, páncreas y quizás otros órganos. Se incorpora a las células rojas sanguíneas, leucocitos, mioglobina, nucleoproteínas, miosina y varias enzimas, también penetra a todos los tejidos donde se almacena principalmente como SeMet y SeCys.³⁸

La transferencia placentaria se demostró al prevenir la distrofia muscular en los terneros al suministrarle Se a la madre preñada y a través de estudios de rastreo radioactivo. La SeMet se transfiere mucho más fácilmente al feto que el Se inorgánico. Los riñones

contienen la más alta concentración de Se, seguidos por el hígado y otros tejidos glandulares tales como el bazo y el páncreas. Los tejidos intestinales y pulmonares tienen concentraciones relativamente elevadas. El músculo cardíaco contiene apreciablemente más Se que el músculo esquelético. La lana y el pelo tienen concentraciones relativamente elevadas, y el tejido nervioso tiene bajas concentraciones.^{47,149}

Excreción del Selenio

Las pérdidas se efectúan a través de los pulmones, heces y orina. La velocidad de excreción y las cantidades que pueden excretarse dependen de la vía de administración, dosis, niveles tisulares y especie animal. El Se se elimina por orina en animales monogástricos, cuando se suplementa por vía oral o inyectado. En rumiantes si el Se es administrado oralmente, la mayor parte se excreta en heces y una pequeña cantidad en orina.⁷¹ El trimetilselenuro es el mayor metabolito urinario de Se y por expiración se excreta como dimetil y trimetil selenito, y en forma patológica como metilselenito. La eliminación del Se por los pulmones solo ocurre en los casos de toxicidad.⁷⁵ El Se excretado en heces por los rumiantes es insoluble, como Se elemental o Se reciclado en tracto gastrointestinal que no fue absorbido, resultando pequeñas cantidades disponibles para el consumo de las plantas.⁶⁴

La carencia de Selenio.

Originalmente la deficiencia fue asociada con la enfermedad del músculo blanco (EMB) observable en los animales con carencias severas en el elemento. Pero aún en niveles mucho menores que los requeridos para el diagnóstico de esta patología muscular, es capaz de reducir la eficiencia de ganancia diaria de peso, producción de lana,

producción de leche, reducir la fertilidad y la prolificidad del rebaño, determina anemia, anasarca, afecta la fagocitosis y en consecuencia la capacidad de respuesta inmune de los animales, incrementando y agravando los cuadros producidos por agentes infecciosos.¹⁴⁰

La deficiencia de Se provoca una disminución en la actividad sanguínea de la Gsh-Px, la cual está relacionada con el normal funcionamiento del sistema inmunológico, y el tracto reproductivo tanto en machos como en hembras. La deficiencia de Se se presenta en bovinos cuando el contenido del mineral en la ración es inferior a 0.1 ppm. Esta deficiencia empeora varios aspectos del orden inmunitario de la función del neutrófilo para la resistencia a la infección y podría llevar a que los peróxidos maten al neutrófilo tan pronto como la célula esté fagocitando.⁹²

La carencia del Se determina una reducción en la actividad hormonal tiroidea y los peróxidos no canalizados al Gsh, oxidan las grasas estructurales de las membranas celulares, incluidas las de las mitocondrias, con lo que la patología celular se agrava por el desbalance energético celular, al mismo tiempo que los cambios en la actividad tiroidea modifican el metabolismo intermedio del animal. Las células con mayor actividad metabólica son las que resultan con más graves daños, como consecuencia de la incapacidad para mantener su homeostasis con el ambiente extracelular, debido a las alteraciones estructurales y funcionales, secundarias al déficit energético, de su sistema membranal. La carencia de Se es particularmente grave en los animales en desarrollo, especialmente cuando este es acelerado y los requerimientos por Kg. de peso vivo se incrementan rápidamente en relación al aporte.¹⁴⁰

En vacas gestantes las concentraciones de Se están en relación directa con las concentraciones de Se en los diversos tejidos de sus fetos; el bajo nivel de Se en la madre es uno de los factores predisponentes a la miodegeneración nutricional congénita. Las concentraciones de Se en la sangre del ganado lanar y vacuno normal oscilan comúnmente de 0.1 a 0.2 mg/ml. Las concentraciones en trastornos que responden claramente a la suplementación con Se; oscilan en niveles de 0.01 a 0.02 mg/ml e incluso menos.²⁸

El complejo de disturbios consecuentes a la deficiencia de Se, incluyen un número de enfermedades específicas según la especie animal: distrofia muscular que afecta músculo esquelético, cardíaco y diafragma en ovinos y bovinos; necrosis hepática, enfermedad de corazón de mora, enfermedad de la grasa amarilla y úlceras gástricas en cerdos; encefalomalacia, diatésis exudativa, degeneración del páncreas en aves.¹⁴⁰

El Se mantiene la integridad linfocitaria y su carencia puede deprimir al sistema inmune, causa el daño membranal y la alteración en la integridad del ácido araquidónico puede generar la falta de mediadores en la respuesta inflamatoria.¹¹⁷

La actividad Gsh-Px se incrementa en animales con valores adecuados de Se, en respuesta a procesos infecciosos.¹⁴⁶ En vacas deficitarias en este oligoelemento se ha descrito una reducción de la actividad Gsh-Px en las células fagocitarias y una disminución de la capacidad bactericida de los neutrófilos. Se ha demostrado que tanto la respuesta inmune celular como la humoral están incrementadas en animales que reciben suplementos de Se.¹¹⁷ Estudios histopatológicos revelan que en el tejido linfoide de animales deficientes en Se tiene lugar un aumento de vacuolización de las

membranas celulares,¹⁰⁵ siendo esta pérdida de integridad de la membrana la responsable de su alteración funcional.⁸⁴

En edades tempranas los niveles de leche cubren los requerimientos básicos del cordero, sin embargo la disminución del aporte de Se a través de la leche al cordero se agrava con el incremento de las necesidades debido a factores tales como: la época de nacimiento, velocidad de crecimiento, incremento de la actividad muscular, baja o escasa suplementación con Se y/o vitamina E, condiciones climáticas adversas y alto microbismo ambiental, entre otros.^{6,170}

La carencia de Se afecta a los animales durante las primeras semanas de vida, debido a la gran demanda de Se en la etapa de desarrollo muscular tras el nacimiento, momento en el que los procesos de replicación y crecimiento celular son muy intensos y se necesita una elevada actividad antioxidativa. Hasta las 6 semanas de edad los corderos dependen directamente del aporte de Se que reciben a través de la leche de sus madres, y ésta suele ser deficiente en Se, encontrando el animal una imposibilidad de combatir los efectos de los radicales libres.⁸⁰ En el ganado bovino este proceso afecta sobre todo a los individuos de aptitud carnica, ya que, presentan un crecimiento más rápido y un mayor desarrollo de las fibras musculares.³⁴

Cuadro 1.- Contenido de Selenio en sangre (ppm) y glutatión peroxidasa (mv/g hb) de ovinos y bovinos.

(SELENIO Y GLUTATIÓN PEROXIDASA EN SANGRE)			
Se EN SANGRE COMPLETA (PPM)	ESTADO DE Se	GSH-PX (mv/g hb)	INTERPRETACIÓN
0.01 – 0.04	- Deficiente	(-) de 15	Suplementación necesaria
0.05 – 0.075	- Bajo	15 - 20	Suplementación benéfica
0.076- 0.10	- Deficiencia moderada	20 - 30	Suplementación recomendada
0.10 a +	- Adecuado	(+) de 30	Suplementación no necesaria

Stowe y Herdt (1992)

El cuadro anterior muestra los niveles de Se y Gsh- Px en sangre completa, mostrando el rango entre la deficiencia y el nivel adecuado de Se y establece en que momento es necesario realizar la suplementación.

Cambios anatomopatológicos por la deficiencia de Selenio.

Los trastornos provocados por la deficiencia de Se son descubiertos en la necropsia. Se presentan estrías blancas en diafragma, músculos intercostales y en vértebras cervicales. En músculo cardíaco hay degeneración del miocardio y apariencia de corazón atigrado, hay hidrotórax, hidropericardio, ascitis, edema generalizado, corazón flácido, posibles diarreas, neumonía, cuadros de anemia (aplásica), mioglobinuria y palidez en la glándula tiroides.¹⁵⁸ En la histopatología se observan células musculares con pérdida de las estriaciones y reemplazo por material hialino, con inflamación periférica, apariencia granular y núcleos picnóticos e incluso hemorragias. En las primeras lesiones se puede depositar Ca, al final del proceso necrótico en casos crónicos, sigue la calcificación distrófica con depósitos en forma granular y cristalizada,¹⁹ que microscópicamente se

caracterizan por un material granular amorfo basofílico. En casos avanzados se puede encontrar proliferación de tejido conectivo e infiltración mononuclear. En miopatía degenerativa se presenta proliferación de núcleos como un intento (fallido) de regeneración muscular.⁹⁷ A nivel de la tiroides presentan diferencias en el tamaño de los folículos, con dilatación de aspecto bociógeno y folículos de aspecto embrionario.¹⁵⁸

La condición de estrés.

La condición de estrés implica una respuesta sostenida de adaptación al ambiente desfavorable, esto genera un incremento en la actividad oxidativa. Los cambios al que son sometidos los animales como la movilización al corral de engorda, transporte, calor, frío, cambios bruscos de alimentación, hacinamiento, destete, cambio de corral, de dieta y la competencia entre los animales para establecer el orden jerárquico entre ellos, todo esto determina en el animal una condición de estrés de diferente magnitud en cada caso. La condición de estrés implica una serie de cambios endocrino-metabólicos, caracterizados por el incremento de cortisol y esteroides, relacionados con el incremento en la movilización y consumo de glucosa, que resultan en hipoglucemia y en procesos de neoglucogénesis a partir de grasa y proteína, lo que determina un déficit energético en el animal con consumo de sus reservas corporales, pérdida de condición y un efecto depresor sobre la respuesta inmune.¹²³

Desde el punto de vista económico, el Se juega un papel muy importante en los procesos que afectan a animales en crecimiento, estos procesos se caracterizan por crecimiento retrasado, enfermedades del desarrollo, bajo rendimiento y enfermedad periodontal.^{20,137} Estos procesos resultan, difíciles de diagnosticar debido a la inespecificidad de los signos clínicos.¹³⁸ Cuando ocurren una serie de factores predisponentes y ocasionales, la signología se agrava, pudiendo transformarse en una

miodegeneración nutricional aguda. En este momento los animales presentan gran susceptibilidad a padecer procesos infecciosos, víricos o bacterianos, especialmente de tipo respiratorio ya que presentan una menor capacidad de respuesta inmune.⁷⁴

Selenio y la reproducción.

Los animales en etapas reproductivas presentan mayores necesidades de Se, ya que las rutas metabólicas de los organismos en desarrollo con un alto número de mitosis originan una gran cantidad de radicales libres. Cuando estos peróxidos no son destruidos por medio de la Gsh-Px se producen alteraciones en las membranas celulares que hacen que dichas rutas metabólicas no se regulen y ocurra gran cantidad de disturbios metabólicos, cuya consecuencia final será la incapacidad del animal en el mantenimiento de la función reproductiva.¹⁷²

Los procesos patológicos en los que esta involucrada la deficiencia de Se, incluyen alteraciones del tipo de la retención placentaria; infertilidad; abortos, nacimientos prematuros, debilidad o muerte al nacimiento, quistes ováricos, metritis, bajas tasas de concepción, celos silenciosos o erráticos y pobre fertilización. Corah and Ives. 1991 y Miller, *et al.* 1995. indican que la suplementación con Se ayuda a prevenir alteraciones de la reproducción, fundamentalmente en la época del parto y mastitis.

Los efectos positivos de la suplementación de Se se han asociado con una mayor actividad de la enzima Gsh-Px, tanto en sangre como en tejidos.^{96,108} El Se también muestra una gran influencia en la fertilidad del macho afectando la calidad del semen. Capaul *et al* 1988 y Udala, *et al.* 1995. encontraron que el plasma seminal contiene elevadas cantidades de Gsh-Px, cuya función es proteger a la membrana del espermatozoide del ataque peroxidativo; además, en la cola del gameto masculino hay

un selenopéptido que en deficiencia de Se determina una fractura en la mitad de la cola del espermatozoide y esto ocasiona que sea menos efectivo en la fertilización del Ovocito ovulado.

Cuadro 2.- Síndromes observados por deficiencia de Selenio

Síndrome	Características Clínicas
<ul style="list-style-type: none"> -Enfermedad del músculo blanco (miodegeneración nutricional) -Placenta retenida -Debilidad neonatal -Diarrea -Síndrome de crecimiento deficiente -Efectos sobre el sistema inmune -Miodegeneración en ganado adulto -Infertilidad 	<ul style="list-style-type: none"> Inicio agudo: -Dificultad respiratoria. -Parálisis muscular. -Músculos esqueléticos y/o cardíacos afectados. -Signos: ascitis, áreas de músculos pálidos,(necrosis de Zenker, por histopatología). -Retención de placenta. -Los recién nacidos nacen débiles con o sin lesiones macroscópicas de enfermedad de músculo blanco. -Diarrea normalmente profusa. -Pérdida de peso. -Reducción de la eficiencia en conversión de alimentos, menores ganancias de peso. -Aspecto enfermizo. -Depresión de la respuesta inmune mediada por células. -Mastitis -Debilidad. -Miodegeneración. -Fibrosis miocárdica. -Mioglobinuria. -Reducción de la tasa de concepción. -Ciclos de estro irregulares. -Muerte embrionaria temprana. -Ovarios quísticos.

(Maas, 1982)

La información anterior muestra diferentes afecciones clínicas, resultantes de la deficiencia de Se como factor central, pero la patógenia de éstas es compleja. Sin embargo, el cuadro clínico de la enfermedad de músculo blanco, distrofia muscular nutricional, miopatía asociada a Se, son términos que identifican la misma condición nutricional y que a continuación se explican:

Distrofia miocárdica aguda: Son afectados animales de 2 a 4 meses de edad, mueren repentinamente sin ningún signo clínico. Los factores que influyen son el estrés y el ejercicio desacostumbrado. Se observa severa dificultad para respirar, descarga nasal sanguinolenta o espumosa, la muerte ocurre posteriormente. ⁹⁶

Enfermedad del músculo blanco subaguda: Su frecuencia es más común en animales en desarrollo. Los animales afectados presentan rigidez y si intentan levantarse lo hacen con dificultad. Es evidente el trastorno muscular mostrando incoordinación y temblores. La respuesta al tratamiento es positiva. ⁹⁷

Enfermedad congénita del músculo blanco: Las lesiones pueden ser encontradas en las primeras horas al nacimiento. Los partos prematuros, la muerte o animales débiles al nacer, son observaciones comunes cuando la madre ha sido alimentada con raciones de bajo contenido de Se. ^{96,97}

Distrofia muscular subclínica: Es la responsable de las mayores pérdidas económicas, esta condición se presenta con mayor frecuencia en el ganado joven y se caracteriza por un cuadro clínico complejo, donde se observa escaso crecimiento, diarreas persistentes,

neumonía y esporádicamente debilidad muscular en ciertos animales en los que se marca la severidad de la deficiencia.^{96,97}

Pruebas de diagnóstico.

La detección de la deficiencia o del exceso del mineral en los animales es complicada, por la similitud con otros problemas y enfermedades. La presencia del cuadro clínico y los hallazgos a la necropsia proporcionan un diagnóstico presuntivo, que es necesario complementar con análisis del suelo, plantas y de la condición propia del animal mediante la determinación del elemento en tejidos y fluidos.¹⁰⁹

En suelo y forraje.

El análisis en suelo debe comprender pH, otros minerales, composición física y aún así puede no tenerse la relación con el nivel absorbido por la planta.¹²⁰ Se consideran suelos selenodeficientes niveles menores de 0.05 ppm; normales .2 a 5 ppm., y seleníferos más de 5 ppm. En plantas una concentración deficiente es considerada menor a 0.01 ppm; ideal de 0.2 a 0.4 ppm y en plantas seleníferas niveles mayores de 5 ppm.¹²⁰

En tejidos

En el laboratorio se emplean métodos directos tales como la medición en sangre, la cual indica la concentración real de Se, y el suero y plasma indican el estado actual.¹⁷⁰ Los métodos indirectos incluyen mediciones de actividad enzimática. La Gsh-Px es usada como una alternativa para medir la concentración de Se.¹⁰⁹ Como consecuencia del daño muscular producido por los radicales libres se liberan al torrente sanguíneo sustancias como mioglobina, creatín quinasa (CK), aspartato-amino transferasa (ASAT), lactato deshidrogenasa (LDH).²⁰ Histológicamente se observa degeneración hialina y

calcificación de las fibras musculares. Todas estas sustancias y condiciones sirven para establecer un diagnóstico presuntivo.⁸⁰

Se sugiere que las concentraciones de Se en suero y plasma resultan adecuadas para reflejar los niveles de suplementación inmediata, mientras que la de sangre es más adecuada para representar la suplementación a largo plazo.¹⁴⁷ Las concentraciones de Se en los diferentes tejidos corporales son indicadores del nivel de este mineral en el animal; y los niveles fluctúan de acuerdo a los niveles de Se en la dieta.⁵⁷ Valores menores de 50 ppb son deficientes, de 50 a 75 ppb bajos, 76 a 100 ppb marginales y mayores a 100 ppb adecuados.¹⁶⁹ Las concentraciones tisulares indican que se realiza un depósito orgánico en el animal; siendo los valores normales de Se en los tejidos de 1.0 ppm en riñón, 0.1 ppm en músculo estriado, 0.2 ppm en hígado y 0.09 ppm en corazón.¹⁶²

Métodos de suplementación

La Food and Drug Administration (FDA) permite la suplementación hasta un límite superior de 0.3 ppm en las dietas del ganado. La suplementación mineral a libre acceso no debe exceder 3 mg/cabeza/día para el ganado vacuno y 0.70 mg/cabeza/día para ovejas.¹⁰⁷

Las fuentes de suplementación de Se actualmente en uso en los Estados Unidos son el selenito de sodio (Na_2SeO_3), y selenato de sodio (Na_2SeO_4) y con levadura orgánica aprobada para algunas especies. La forma de selenato, ha sido considerada preferible debido a que el selenito es reducido con mayor facilidad a Se elemental, menos disponible y puede formar compuestos insolubles con otros metales.¹⁰⁷

La suplementación del elemento se puede realizar a través de compuestos orgánicos como SeMet y SeCys, pero son costosas e inadecuadas. Las fuentes de suplementación inorgánica resultan la mejor alternativa, se realiza por administración parenteral (subcutánea), oral directa (sales, pellets y cápsulas) y oral indirecta (fertilización de forrajes con Se).⁵⁶

1-Parenteral

La administración parenteral resulta el mejor método para restaurar las concentraciones del elemento traza cuando es necesario corregir deficiencias severas o agudas.³⁶

El aporte parenteral permite una dosificación precisa con mínimos riesgos, la suplementación con SeMet a hembras gestantes mejora los niveles fetales y en leche de Se.¹⁶² El mal uso del elemento cuando no se conoce su dosis, provoca intoxicaciones agudas por exceso de administración y necrosis en el sitio de aplicación intramuscular.⁶

En rumiantes se recomiendan dosis de 0.1 a 1 mg de Se/kg¹⁵⁵ En corderos destetados la dosis recomendada es de 0.63 a 5 mg de Se como selenito de sodio. La suplementación en bovinos se realiza con 25 o 30 mg de Se como selenito de sodio.¹⁴⁴ En animales productores de carne, la administración de 0.15 mg de Se/kg protegió contra la deficiencia solo por 4 meses.⁵⁶ En la forma de selenato de sodio, se han utilizado dosis de 0.05, 0.1, 0.15 mg de Se/kg., en vacas lecheras con deficiencia (20 y 40 ng de Se/ml de sangre) presentaron un incremento en las concentraciones de Se más de 182 días con la dosis mayor. En el caso de selenato de bario 1 mg Se/kg provoca un estatus satisfactorio aproximadamente por 12 meses en bovinos y ovinos, por su absorción lenta, da un efecto prolongado de 6, 12 o hasta 22 meses.¹⁵⁵

Existen reportes de que dosis superiores a 0.35 mg Se/kg., como selenito de sodio o selenato, resultan letales. *Ullrey, D. E.* 1992, observa que 0.45 mg de Se como selenito de sodio/kg. p.v., era una dosis letal para ovinos. Actualmente los preparados comerciales de Se son recomendados para ser usados a dosis de 0.05 mg Se/kg p.v., y esta algunas veces resulta baja en el tratamiento parenteral y requiere repetir nuevamente la dosis a intervalos de semanas, si se aplica de forma rutinaria, se pueden presentar problemas de intoxicación crónica.

2-Bolos

Los bolos intraruminales pueden estar compuestos por Se elemental (5%), se dan por vía oral y se retienen en retículo y rumen. Su contenido es de 245 a 300 mg de Se; si se administran 2 bolos en pequeños rumiantes secretan aproximadamente 2 mg de Se/día durante un período de 8 meses. Los bolos para bovinos contienen de 360 mg a 500 mg de Se como selenito de sodio, liberando 3 mg de Se/día.¹⁵⁵

3-Sales

Una de sus ventajas es su bajo costo y fácil administración en el alimento, pero su inestabilidad para mantener el estatus del elemento en el animal por su compleja absorción es mayor en comparación con la vía parenteral y se corren riesgos por la diferente apetencia que demuestran los animales por los bloques y por defectos en la homogenización de las mezclas.¹⁵⁵

Las 6ª y 7ª ediciones revisadas del National Research Council (NRC) correspondientes a los años de 1989 y 2001, respectivamente, definen los requerimientos de Se en la dieta en 0.3 mg/kg de m.s., para ganado lechero. La suplementación con 30 y 65 ppm como

selenito de sodio ofrecidas *ad libitum*, a ovejas y sus corderos, previenen la deficiencia subclínica. El selenito y el selenato de sodio son igualmente efectivos, pero el selenato es preferido por ser de toxicidad más baja y menos irritante. Las soluciones de selenato de sodio 1 mg Se/ml son más disponibles para uso inmediato.¹⁶⁰

4-Aplicación del Selenio en fertilizantes.

El selenato de sodio es el más utilizado, debido a su facilidad de consumo por parte de la planta. El proceso de incorporación de selenato de sodio (42 % de Se) en gránulos, proporciona máxima seguridad en su operación y distribución en el suelo. La mínima cantidad que previene la deficiencia es de 8.5 g/ha de Se y su máxima cantidad es de 10 g/ha de Se con aplicación anual.¹⁶⁶

Concentraciones de Selenio en el suelo.

El contenido de Se en los suelos varía entre 0.1 y 2 ppm.⁹³ El suelo superficial en todo el mundo contiene un promedio de 0.4 ppm y la mayoría de los suelos seleníferos contienen en promedio no más de 2 ppm;¹²⁰ con características de ser neutros o alcalinos.⁵⁹ El aprovechamiento del Se del suelo por parte de las plantas está relacionada con la forma química. En suelos alcalinos predominan los selenatos y selenitos solubles y en suelos ácidos hay escasos selenitos solubles. Cuando el Se pasa del suelo a las plantas en crecimiento, se incorpora en componentes orgánicos, principalmente selenoproteínas con abundante SeMet.¹³⁹

Las tierras ricas en Se total, no determinan necesariamente niveles elevados de Se en los forrajes, ya que este elemento puede existir, formando compuestos poco útiles para los vegetales. Existen tierras ácidas muy ricas en Se que no producen vegetación tóxica,

debido a que este elemento se presenta principalmente en forma de seleniuro ácido de hierro que no se absorbe con facilidad por las plantas.¹³⁹

En suelos ácidos, la presencia de niveles elevados de S en el suelo y alta precipitación pluvial reducen la disponibilidad de Se a las plantas.⁵ Concentraciones de 500 a 100 partes por billón (ppb) de Se en suelos y en forrajes y granos mayores a 100 ppb son adecuados.^{98,113}

La deficiencia de Se se ha reportado en forrajes de Veracruz¹³, Hidalgo^{145,148}, Estado de México⁵¹ y Tlaxcala.¹²⁹ Estos problemas están asociados a deficiencias de Se en el suelo.¹²⁹

Suelos seleníferos tóxicos

Los suelos seleníferos son alcalinos. La presencia de Se como selenato, es la forma soluble en agua de estos suelos, que presentan vegetación tóxica.¹³³ El rango de niveles de Se en estos suelos es de 0.1 a 6 ppm.¹⁴³

Suelos seleníferos no tóxicos.

Si el contenido de Se es alto, es factible que las plantas tiendan a tener un contenido alto y por lo tanto ser tóxicas. Pero también existen suelos seleníferos no tóxicos, donde el contenido de Se es alto, pero poco disponible para las plantas.¹²⁰ Muchos suelos del mundo son altos en el contenido de Se pero tienen niveles bajos de Se soluble en agua y consecuentemente la vegetación no acumula niveles tóxicos que puedan causar problemas en los animales. Los suelos seleníferos no tóxicos tienen un pH entre 4.5 a

6.5 que con la presencia de hidróxido férrico provocan que el Se no sea disponible para las plantas.¹³⁵

Formas del Selenio y efecto del pH en los suelos.

El Se en los suelos esta presente como, Se elemental, selenito, selenato y compuestos de Se orgánico.¹⁷¹ Estas formas químicas están estrechamente relacionadas con el potencial de oxido-reducción, pH y solubilidad del elemento.¹³³ El Se elemental en suelos ácidos y neutros es oxidado a selenitos que reaccionan con óxidos de hidrógeno para formar complejos de baja solubilidad no disponibles a las plantas. El incremento del pH a 8 ocasiona la descomposición del complejo mencionado, iniciando la transformación de selenito a selenato facilitando el consumo de Se por las plantas.⁸²

Metabolismo del Selenio en las plantas.

El Se es tomado del suelo por las plantas como selenato (SeO_4^{2-}) o selenito (SeO_3^{2-}). Después de su absorción, el selenato es transportado a los cloroplastos, en donde es procesado en la ruta de asimilación del S. El selenato es activado por la ATP sulfurilasa, formando adenosina 5-fosfoselenato (APSe) y después reducido a selenito por la adenosina-fosfosulfato reductasa (APS). Una vez que el selenato es reducido a selenito este se reduce de forma no enzimática a selenuro por la Gsh. La existencia de esta ruta no enzimática para la reducción de selenito a selenuro explica porqué el selenito es asimilado con mayor facilidad por las plantas que el selenato.⁴⁸ La reducción de selenito resulta en la producción de selenoaminoácidos, como la (SeCys) y (SeMet). La incorporación no específica de selenoaminoácidos en las proteínas contribuye a su toxicidad.²⁷

El contenido promedio del Se en plantas varía entre 0.01 y 1.0 mg/kg. de m.s., sin embargo, la concentración es ampliamente variable y puede alcanzar niveles de hasta 14,999 mg/kg de m.s.¹⁰⁴ El contenido de Se en plantas depende de condiciones climáticas, régimen de agua, potencial oxido-reducción, pH, el contenido de sesquióxidos del suelo y la temperatura.⁸² La planta absorbe mucho más Se, cuando la temperatura es menor de 15°C. En lluvias puede ser más alta la concentración de Se en hierbas.⁸²

Las plantas se pueden clasificar en tres grupos, de acuerdo a la utilización del Se: Las plantas indicadoras, que necesariamente emplean el Se para sobrevivir, entre estas se conocen 24 especies y variedades de *Astragalus*, especies de *Estanleya*, *Oonopris* y *Xilorrhiza*. Las plantas facultativas son aquellas que pueden vivir en suelos con Se o sin él, cuando se encuentran en suelos ricos en Se lo acumulan; los géneros conocidos son: *Aster spp*, *Comadra pallida*, *Penstemo spp*, *Sieranthus spp*, *Macaerantha*.⁸² Las plantas convertidoras, son aquellas que absorben Se inorgánico pero mueren y generan Se orgánico, que toman otras plantas volviéndose de esta forma tóxicas, con concentraciones de hasta 2 ppm consideradas altas.¹²⁷

Para los rumiantes, los niveles tóxicos de Se están por arriba de 5 mg/kg de m.s. y si el contenido de Se en forrajes y granos es menor a 0.05 mg/kg de m.s. se presenta la enfermedad carencial del músculo blanco. Los niveles recomendables para evitar este trastorno deben de ser entre 0.05 y 0.1 mg/kg de m.s.¹⁰⁴

Selenio Inorgánico: Selenito vs Selenato.

Los mamíferos pueden utilizar Se orgánico e inorgánico como fuentes nutricionales.¹⁵⁶

El selenito es utilizado para la síntesis de selenoproteínas en el cuerpo después de haber sido reducido al intermediario selenuro o a un equivalente. El cual es incorporado en el grupo selenol del selenocisteinil tRNA e incorporado en las selenoproteínas en correspondencia al codón UGA. El Se es excretado después de que el intermediario común ha sido metilado.¹⁵⁸

El selenito y el selenato son metabolizados de forma diferente en sangre; el selenito es rápida y selectivamente capturado y reducido por los eritrocitos, se transfiere al plasma en forma de selenuro y se une selectivamente a la albúmina y es tomado por el hígado.^{152,153} El selenato es tomado directamente por el hígado sin haber sido procesado en sangre. Aunque selenato y selenito son metabolizados de forma diferente en sangre, una vez que son tomados por el hígado, son metabolizados de la misma manera y con similar eficiencia.^{136,153}

Las principales diferencias en el metabolismo entre selenato y selenito son:

- a) El selenato es transferido directamente al hígado, mientras que el selenito es metabolizado (reducido) en sangre a selenuro y entonces es transferido hacia el hígado unido a la albúmina.¹⁵³
- b) La forma reducida de Se unida a albúmina es susceptible de oxidación, el selenito parece circular entre el plasma y los eritrocitos, produciendo continuamente un agente activo ($H_2Se-SeO_3$, es decir, $Se^{2-}-Se^4$), el cual parece producir especies reactivas de O_2 . Esto parece explicar la acción más tóxica del selenito que la del selenato, especialmente en sangre.¹⁵⁶

- c) Ambos compuestos de Se parecen ser utilizados con similar eficiencia en forma de selenoproteínas o excretados en forma de metabolitos metilados por el hígado.¹⁵²
- d) El selenato es tomado por el hígado o filtrado por el glomérulo. El primero es utilizado para la síntesis de selenoproteínas o es excretado después de ser metilado, el segundo puede ser excretado directamente en la orina en forma de selenato.¹⁵²
- e) El selenito es captado en forma selectiva y rápida por los eritrocitos, reducido a selenuro y transferido al plasma y a la albúmina, para ser finalmente captado selectivamente por el hígado.¹⁵²

Cuando el Se es suplementado en una forma inorgánica como el Selenito de sodio, este tiene efecto peroxidativo el cual puede ser una desventaja, por consiguiente el Se inorgánico puede actuar como oxidante de lípidos.¹²⁶

El Se elemental resulta poco tóxico a causa de su insolubilidad y baja absorción. Los selenuros son menos tóxicos que los selenitos y selenatos solubles, siendo la toxicidad de estos últimos casi similar a la del Se existente en los alimentos naturales que son seleníferos. El Se existente en los vegetales y semillas seleníferas aparece parcialmente en forma de compuestos inorgánicos, como selenitos y selenatos, y en parte en forma de compuestos orgánicos, reemplazando el S en una parte de los aminoácidos.¹²⁶

Selenio Orgánico

El Se ingerido en la dieta en una forma orgánica, por ejemplo, SeCys, SeMet o un equivalente, es utilizado para la síntesis de selenoproteínas después de que estos

selenoaminoácidos han sido metabolizados para producir el intermediario común selenuro, seguido por la formación de SeCys-tRNA e incorporado en selenoproteínas.¹⁴⁹

La SeMet también puede ser utilizada sin ser distinguida de la metionina (Met) e incorporada en proteínas en lugar de Met pero sin efecto biológico.^{149,168} La SeCys es metabolizada con mayor rapidez que el selenito y la SeMet. El Se de la SeCys no es incorporado en los tejidos a concentraciones mayores que el Se de la SeMet. La SeMet puede sustituir a la Met en la síntesis de proteína, pero la SeCys no puede sustituir a la cisteína.¹²⁰

Interacciones de Selenio y vitamina E

La vitamina E es el más importante antioxidante hallado en los fosfolípidos de la membrana celular y actúa como un destructor de cadenas oxidantes, capaz de remover, la cadena de propagación de radicales peróxidos. La Gsh Px puede remover peróxidos de la membrana y así tiene un efecto complementario a la acción de la vitamina E.⁸

El metabolismo de los ácidos grasos polinsaturados (AGPi) produce H₂O₂ que oxidan la membrana celular causando un desbalance hídrico y alteración del intercambio electrolítico de sodio y potasio, terminando en la lisis celular.⁴⁵ La destrucción produce en músculo zonas de necrosis celular y coagulación tisular con degeneración de tejido (distrofia muscular). El mecanismo de este proceso involucra la acción del Se y la vitamina E; estos como protagonistas y los lípidos como antagonistas (linoléico, linoleíco y araquidónico). En el proceso intervienen otros químicos desencadenantes como el O₂, H₂O₂, superóxidos y radicales hidroxilo, que por si solos pueden iniciar el daño celular en lípidos y proteínas con pérdida de funciones y baja actividad catalítica.^{69,75} La vitamina E previene la formación de peróxidos grasos por secuestro de

radicales libres antes de que ellos inicien la peroxidación grasa. La Gsh-Px reduce peróxidos ya formados a alcoholes menos reactivos.¹²⁶

La vitamina E puede reducir los requerimientos de Se y previene la cadena reactiva de autoxidación de las membranas (lípidos), de éste modo inhibe la producción de hidroperóxidos, reduciendo así la cantidad de Se necesario en la síntesis de la Gsh-Px.⁸

La vitamina E y Se no pueden compensar completamente las deficiencias del uno o del otro.¹⁶²

La vitamina E se incorpora a la matriz lipoproteíca de la pared celular protegiendo así contra el daño oxidativo. La Gsh-Px, actúa desde el citoplasma, protegiendo el medio ambiente celular de daños oxidativos. La vitamina E y el Se proveen una respuesta inmune vía integridad celular y una estimulación del sistema humoral y celular.¹²⁶

Sistema Inmune.

Las relaciones conocidas entre el Se y la función inmune incluyen la efectividad de las células fagocíticas para matar a los microorganismos patógenos (inmunidad no específica), niveles de IgG en el calostro (inmunidad humoral) y la función de las células T (inmunidad tisular). Varios estudios indican que la deficiencia de Se puede ser responsable de alterar la respuesta inmune, reduciendo la capacidad de los animales para responder ante desafíos antigénicos, por el efecto depresivo en la síntesis de anticuerpos neutralizantes. Cuando existe deficiencia de Se, los niveles plasmáticos de los peróxidos se incrementan, causando daño en los endotelios capilares, eritrocitos y células plasmáticas modificando el estado homeostático celular al dañar la actividad

metabólica de la membrana, lo que se relaciona con la reducción de títulos de anticuerpos, reflejando una inmunosupresión.^{12,154}

Los antioxidantes son importantes cuando los neutrófilos producen grandes cantidades de superóxido y H₂O₂ a partir del O₂ molecular para la destrucción de los microorganismos.²¹ El Se mantiene la integridad linfocitaria.¹¹⁷

Combs, *et al* 1986 evaluaron la respuesta de cerdos alimentados con Se 0,2 mg o 200 U.I. de vitamina E por día, desafiados con *Serpulina hyodisenteria* (Disentería porcina). Tanto la vitamina E como el Se disminuyeron la mortalidad porcina y los niveles de *S. Hyodisenteria* recuperados de las heces. Los signos clínicos de disentería fueron menos severos con suplementación de Se.

En trabajos realizados en bovinos inoculados con *Mannheimia haemolytica*, se incrementan los niveles de IgM cuando han sido suplementados con Se,¹⁴⁶ pero sí se administra también vitamina E, se incrementan los niveles de IgG.⁵³

Una de las consecuencias más importantes de la reducción de actividad inmune, la constituye el aumento en la incidencia de patologías mamarias. Maas, J. indica que la menor actividad de la Gsh-Px representa posiblemente el factor etiológico más importante en este tipo de procesos, fruto de la influencia de esta enzima sobre la actividad de los leucocitos polimorfonucleares, considerados de primera importancia en la fagocitosis y muerte intracelular de los patógenos mamarios.⁹⁶ La suplementación con Se/vitamina E parece optimizar la resistencia que presenta el animal provocando un aumento de la función de los macrófagos.¹¹⁶

Ante un estado de deficiencia de Se y vitamina E, la concentración de hidroperóxidos aumenta y origina una activación de la ciclooxigenasa y lipooxigenasa, enzimas de la cascada del ácido araquidónico. Estas enzimas tienen una necesidad obligada de hidroperóxidos de ácidos grasos para el mantenimiento de su máxima actividad, y por ello la reacción inflamatoria en la ubre en animales con deficiencia de Se se hace mucho más importante.⁹⁹ Estudios en rebaños con diferentes concentraciones de Se permiten sugerir a Erskine *et al* 1989, al igual que a Ndiweni, *et al.* 1991 que cuando los niveles de este oligoelemento son adecuados la inflamación de los cuartos afectados es menor o de más corta duración.¹⁰² La gran importancia del Se-Gsh-Px, tanto en el mantenimiento de la integridad de las membranas, como al suponer la primera barrera defensiva de la ubre, lleva a Pastor Meseguer, J. 1994 a destacar el papel de la vitamina E y Se como futuros tratamientos intramamarios.

Intoxicación por Selenio.

El Se es uno de los elementos más tóxicos para los animales, tiene un margen de tolerancia muy reducido entre su requerimiento (0.2 a 0.3 ppm) y su toxicidad (3 a 5 ppm).¹⁹ En la dieta el requerimiento mínimo y nivel máximo tolerable fluctúa entre 0.05 y 2 ppm. La dosis letal mínima de Se en forma de selenito sodico es de 3.3 ppm para el caballo, 10 ppm para la vaca y 17 ppm para el cerdo. Los compuestos orgánicos de Se que se encuentran en las plantas seleníferas son unas dos veces más tóxicos que los seleniuros y selenitos y las dosis críticas son de 3-5 ppm en bovinos. El arsénico aminora la toxicidad del Se.¹²⁰

Es probable que el Se ejerza su efecto tóxico mediante inhibición enzimática de los sistemas de oxido-reducción del organismo. Cuando el Se se administra en forma de selenato, entra al organismo y se reduce a selenito; así es llevado por la corriente

sanguínea al hígado y al bazo en donde es reducido a Se elemental, por la glucosa. El Se elemental no es tóxico. Cuando el organismo no puede reducir el selenito por deficiencia de glucosa o exceso de él, se produce el ataque a las células destruyéndolas.¹¹⁹

En nuestro país las zonas norte-centro de los estados de Coahuila y Chihuahua se presentan problemas de intoxicación,¹⁰⁷ el cual ocurre al consumir plantas con alto contenido del mineral. La intoxicación por las plantas seleníferas puede ocurrir en estado vegetativo, floración o fructificación, en algunos casos las plantas son tóxicas en todos los estadios. El manejo de los animales es un factor importante para que se manifieste una intoxicación, principalmente en casos de sobrepastoreo y de escasez forrajera, los animales son obligados a ingerir plantas que habitualmente no consumen.¹²⁷

Los efectos tóxicos de la ingestión elevada de Se pueden prevenirse o mitigarse en los animales mediante dietas ricas en proteína, ingestión elevada de sulfatos inorgánicos, o suplementos de arsénico. Se ha demostrado que una dieta que contenga 10 ppm de Se y un 10% de proteína es muy tóxica para las ratas, mientras que una dieta con el mismo nivel de Se y un 20% de proteína, en forma de caseína, produce pocos efectos perjudiciales.¹⁴⁸

Intoxicación aguda por Selenio. (Blind staggers).

El envenenamiento agudo, por Se ocurre en los bovinos como resultado del consumo, una sola vez, de suficientes plantas altamente seleníferas (de 50 a 100 ppm) o por errores en la dosificación del elemento en la dieta o por vía parenteral. La muerte ocurre en pocas horas. Los signos típicos del envenenamiento son poliuria, deshidratación,

trastornos nerviosos, dificultad respiratoria con presencia de espuma en ollares y hocico, asfixia, olor a ajo, también llegan a presentar ceguera, dolor abdominal, salivación excesiva, rechinar de dientes y cierto grado de parálisis. Se altera la respiración y la muerte suele ser debida a un fallo respiratorio con un cuadro hemorrágico.¹²⁷

Lesiones Microscópicas: La principal lesión se observa en pulmones a nivel capilar, se da con septos alveolares congestionados, se presenta abundante fluido proteínaceo en lumen alveolar, edema alrededor de grandes vasos, distensión de conexiones perivasculares y dilatación de vasos linfáticos. Otros tejidos también presentan congestión.¹⁶³

Intoxicación crónica por Selenio. (Enfermedad del álcali).

Este tipo de intoxicación se produce cuando los animales consumen forraje y granos seleníferos que contienen de 5 a 40 ppm. de Se, por semanas o meses hasta la saturación, superando los niveles de excreción. Los signos clínicos varían con la cuantía, naturaleza y duración de la ingestión de Se, naturaleza del resto de la dieta, con la edad y especie animal. Cuando los animales ingieren cantidades moderadas de Se, aparecen tristes e indiferentes, disminuye su apetito y el organismo está emaciado, el pelo se pone áspero y luego se pierde, hay exfoliación de los cascos, cojera debida a procesos artríticos en superficies articulares de huesos largos, depresión, languidez, anemia. La piel se pone áspera; aparecen llagas en los pies, pudiendo llegar a desprenderse las pezuñas. Los animales aparecen cojos y envarados como consecuencia de las erosiones que muestran las articulaciones de los huesos largos. La muerte suele ser el resultado del hambre y de la sed que experimenta el animal ya que, sufren tal dolor en las pezuñas y articulaciones que son incapaces de moverse.⁷

Las lesiones microscópicas visibles son: erosiones de las articulaciones de los huesos largos, atrofia y cirrosis hepática, atrofia cardíaca, anemia microcítica e hipocrómica de gravedad progresiva y ascitis. En las etapas iniciales disminuyen las concentraciones de hemoglobina, fibrina y aumenta el tiempo de protrombina por una deficiencia hepática.¹⁹

El Se puede pasar la barrera placentaria e interferir con los procesos oxidativos celulares durante el desarrollo embrionario y causar malformaciones congénitas.¹⁴⁰ En cerdos, ovinos, equinos y aves provoca deformación embrionaria. Hay lesiones al feto a través de placenta o bien se afecta el recién nacido por la leche poco después de nacer.¹⁷⁰

La toxicidad puede ser controlada con la administración de metales como cobre, mercurio y cadmio (Cu, Hg, Cd). Algunos reportes indican que el Te podría inducir la deficiencia de Se y vitamina E, otros elementos como talio, plata, plomo y cobalto (Tl, Ag, Pb, Co) afectan el metabolismo del Se. Pero si el cuadro clínico es severo, la respuesta resulta negativa.¹⁶⁴

En la intoxicación crónica el Se sustituye al S en los aminoácidos azufrados esto determina alteraciones graves en las proteínas resultantes, particularmente en la queratina, con lesiones proliferativas y ulcerativas en la piel y malformaciones severas en las pezuñas. La ingestión de Se origina un aumento continuo en las concentraciones tisulares durante un periodo de semanas o meses, hasta que alcanzan los valores máximos o de saturación. En este momento comienza la excreción en orina y heces para intentar mantener el equilibrio con la absorción. El Se no se acumula en los tejidos de

un modo continuo. Los niveles de saturación pueden llegar a ser de 20 a 30 ppm de la masa seca del hígado, riñones, pelo y pezuñas de los animales afectados. El Se retenido se incorpora parcialmente a las proteínas tisulares en forma de SeCys y SeMet, reemplazando una porción de S que poseen normalmente.¹⁷⁰

Los músculos e hígados de los animales que consumen dietas normales presentan contenidos de Se que oscilan de 0.4 a 0.8 y de 0.8 a 1.6 ppm, respectivamente. Los animales con signos clínicos de intoxicación por Se pueden contener en sus tejidos hasta 10 veces las cifras indicadas e incluso valores más elevados.¹⁹

Mannheimia haemolytica

El efecto de las neumonías en animales domésticos afecta directamente al proceso productivo de las explotaciones comerciales. La causa de ésta enfermedad, es multifactorial e involucra una combinación de factores predisponentes de tipo estresante, como las condiciones medio ambientales adversas y la mala alimentación. La severidad de la enfermedad, depende de que el animal esté comprometido con otras infecciones de diferente naturaleza. Se ha demostrado la participación de agentes primarios de tipo viral son capaces de iniciar el complejo neumónico (adenovirus, virus respiratorio sincitial, parainfluenza 3, DVB, IBR).^{87,94} Los agentes vírales causan un efecto citopático en el aparato respiratorio, reducen la remoción bacteriana por el epitelio respiratorio (aparato mucociliar) y la capacidad fagocítica del macrófago alveolar, así facilitan la colonización pulmonar por *M. haemolytica*.¹⁰⁰ Por esta razón se le ha denominado complejo respiratorio de rumiantes. *Mannheimia haemolytica* es el principal patógeno bacteriano en las enfermedades respiratorias de rumiantes.¹⁰⁶

Diversos factores favorecen la presentación de la neumonía en bovinos, dentro de los cuales se encuentran la predisposición anatómica y fisiológica del aparato respiratorio del bovino. El metabolismo de los bovinos jóvenes en crecimiento requiere más O₂ debido a la reducida capacidad pulmonar en comparación con la masa corporal relativamente grande. La estrechez de las vías respiratorias hace que la velocidad de flujo del aire en las mismas sea más elevada por lo que la fricción del aire en el epitelio es mucho mayor lo que predispone a lesiones intraluminales. El aire frío afecta el movimiento los cilios del epitelio de las vías respiratorias y con ello se afecta el transporte expulsivo de los gérmenes con el moco, favoreciendo la colonización y

multiplicación por virus. Alto contenido de polvo en el ambiente, favorece la contaminación del aire con gérmenes y la irritación de las vías respiratorias y puede acarrear alérgenos.⁶¹

Las infecciones de *Mannheimia* se producen por la inhalación de gotas de aerosol, o por la ingestión de alimento y agua contaminados a partir de descargas orales del ganado infectado. Las bacterias se propagan fácilmente, sobretodo cuando los animales están hacinados. La morbilidad que ocasiona la pasteurelosis neumónica bovina es un problema desafiante y persistente. Aunque se puede presentar en cualquier época del año, la incidencia aumenta durante el principio del verano o del invierno cuando hay cambios bruscos de temperatura.⁶⁶

La primera información del problema apareció en 1921, cuando se aisló el germen de rumiantes, y en 1932 se propuso el nombre de *Pasteurella haemolytica*.³⁹ De *P. haemolytica* se reconocieron, por hemoaglutinación indirecta 17 serotipos de acuerdo a sus antígenos capsulares solubles que son polisacáridos con capacidad antigénica alta. Se identificaron también 2 biotipos de acuerdo a diferencias en la fermentación de azúcares.⁴⁶ Los serotipos 1, 2, 5-9, 11-14, 16 y 17 correspondían al biotipo A que fermentaban la arabinosa y estaban asociados con neumonía. Los serotipos 3, 4, 10 y 15, pertenecían al biotipo T, que fermentaban trehalosa y causaban cuadros de septicemia.¹⁵⁰ En 1999, las cepas de *P. haemolytica* del biotipo A fueron reclasificadas en un nuevo género denominado *Mannheimia*. Este género contiene ahora cinco especies, *Mannheimia haemolytica*, donde se encuentran la mayoría de las cepas de referencia del biotipo A, todas arabinosa positivas; *M. glucosida* que incluye al serotipo A11; *M. granulomatis*, aislada de ganado bovino y lepóridos; *M. ruminalis*, que

contiene cepas no hemolíticas aisladas del rumen de ganado bovino y ovino, así como *M. varigena*, aislada de bovinos y porcinos.^{9,70}

El serotipo A1 es el más comúnmente aislado de casos clínicos de pasteurelisis neumónica bovina. En ovinos el serotipo más importante a nivel de mucosa respiratoria es el A2; sin embargo, se han reconocido 17 serotipos como patógenos y representan el 90% de los aislamientos. El otro 10% permanece como no tipificable y se duda de su patogenicidad. Los estudios realizados en México han demostrado la mayor importancia de los serotipos A1, A2, A5 y A9 en corderos y los serotipos A1 y A2 en bovinos.⁷⁶

Algunos serotipos de *M. haemolytica* forman parte de la microbiota normal de las vías respiratorias altas de los rumiantes, por lo tanto puede aislarse de individuos clínicamente sanos, pero bajo situaciones que alteran los mecanismos de defensa pulmonar del hospedador logran establecerse en el aparato respiratorio bajo y causar daño al tejido pulmonar. El aparato mucociliar es sumamente eficiente en proteger contra los ataques de *M. haemolytica*, sin embargo el estrés y algunos virus lo lesionan, facilitando el establecimiento y el crecimiento bacteriano y la subsecuente producción de toxinas que provocan la inflamación e irritación del aparato respiratorio.⁷⁹

Los signos clínicos pueden empezar entre los días 7 y 14 después del estímulo estresante y de la acción de un patógeno viral primario, observándose anorexia moderada, decaimiento y apatía, aislamiento del resto del grupo, cabeza y orejas gachas, ojos somnolientos, resistencia a moverse e indiferencia al medio. Las temperaturas rectales llegan a los 40°C; en etapas tempranas se observa disnea, aunque la respiración

puede ser rápida y superficial. A la auscultación hay aumento del murmullo vesicular y de los sonidos bronquiales en la zona anteroventral, hay descarga nasal serosa y tos.⁸⁷

A la necropsia se encuentra consolidación en más de una tercera parte de los pulmones, la cual se localiza más frecuentemente en los lóbulos cardíaco y apical; acumulación de exudados serofibrinosos en los espacios interlobulares; inflamación mucohemorrágica en nariz, laringe, tráquea, bronquios y pulmones con aspecto marmoleado, nódulos linfáticos regionales inflamados; bronquitis y bronquiolitis catarral y pleuresía serofibrinosa; pericarditis fibrinosa; bronconeumonía con adherencias pleurales (casos crónicos); llegan a observarse abscesos con exudado purulento.⁸⁸

Los mecanismos que permiten a la bacteria establecerse y diseminarse durante una infección no están completamente estudiados. *M. haemolytica* produce en fase logarítmica de crecimiento una sustancia soluble que es tóxica para macrófagos y leucocitos de rumiantes.^{16,140,141, 153} Es una citolisina formadora de poros que pertenece a la familia de toxinas RTX, es dependiente del calcio y es común a todos los serotipos de *M. haemolytica*, se le ha denominado leucotoxina. Esta toxina es una potente estimuladora de leucocitos cuando está presente en bajas concentraciones, induciendo la expresión de citocinas proinflamatorias, que favorecen la severidad de las lesiones en el desarrollo de la neumonía fibrinopurulenta aguda del ganado. Además, varios componentes asociados a la pared celular como el lipopolisacárido, proteínas de membrana externa, material capsular, así como otros factores de virulencia involucrados en la colonización, pueden contribuir a la presentación de la enfermedad.^{39,50}

Esta leucotoxina, produce daño específico en leucocitos de rumiantes, exhibiendo solo una leve actividad hemolítica contra eritrocitos de otras especies. La leucotoxina juega un papel importante en la patogénesis de la infección por *M. haemolytica*. Se presume que es capaz de destruir leucocitos, principalmente macrófagos alveolares, en el sitio de infección, lo cual reduce la capacidad del hospedador de establecer una respuesta inmune eficiente, induciendo eventos de inflamación que desencadenan un severo daño al pulmón. En adición a esto, las enzimas liberadas por leucocitos lisados en el tejido pulmonar, contribuyen a la severa necrosis observada en las infecciones por *M. haemolytica*. La leucotoxina por si misma, no es tóxica para el epitelio bronquial; la severidad de las lesiones en los septos alveolares depende en su mayor parte de la acumulación de leucocitos.⁸⁹

Entre otros mediadores inflamatorios, se incluyen productos liberados por leucocitos que pueden inducir su migración. Estos son productos de la 5-lipoxigenasa del ácido araquidónico e incluyen al leucotrieno B4 y al ácido 5-hidroxicosatotetraenoico, que son potentes agentes quimiotácticos. Estos agentes inducen el reclutamiento de células, además de exacerbar los eventos inflamatorios en las lesiones microvasculares.⁹⁰

Otro de los factores de virulencia de *M. haemolytica* es el lipopolisacárido, comprende del 10 al 25 % del peso seco de la bacteria, se le considera como uno de los componentes de la bacteria con alta capacidad para inducir una respuesta inflamatoria. Las lesiones que induce, implica hiperemia y edema que abarcan zonas de deposición de células inflamatorias invadiendo en ocasiones lóbulos adyacentes, además pueden observarse focos de hemorragia y adherencias fibrinosas. Tanto la leucotoxina (exotoxina) como el lipopolisacárido (endotoxina) inducen la expresión de genes para

citocinas proinflamatorias, incluyendo IL-1 y TNF en los macrófagos alveolares lo que contribuye a una mayor respuesta inflamatoria y en consecuencia daño tisular.⁹⁴

Las especies de *Mannheimia* pueden expresar una gran cantidad de potentes antígenos de superficie incluyendo lipopolisacáridos, proteínas de membrana externa, proteínas reguladas por hierro, fimbrias y polisacáridos capsulares. Cada uno de estos antígenos contribuye a la enfermedad clínica, en combinación con las secreciones y componentes celulares que favorecen la presentación de características de la enfermedad así como los cambios histopatológicos asociados al proceso. Los mecanismos importantes en la inmunidad de los bovinos hacia *M. haemolytica*, están mediados por el complemento, la opsonización de la bacteria y la fagocitosis por neutrófilos.⁹¹

La neumonía causada por *M. haemolytica* se caracteriza por ser una pleurobronconeumonía fibrinopurulenta severa. En estos cuadros se pueden encontrar desde neumonías supurativas focales y difusas, hasta cuadros donde existen lesiones vasculares con trombosis y hemorragias, en los que adicionalmente se puede observar la transformación de macrófagos con aspecto arremolinadas. Este último cambio se debe al efecto tóxico de la leucotoxina que produce *M. haemolytica*. Los cuadros neumónicos descritos, ocasionan menor conversión, retraso en el crecimiento y hasta la muerte del individuo.¹⁴⁹

En la patogénesis de la enfermedad existen múltiples interacciones hospedador-bacteria, que se inician con la inhalación del agente, la colonización nasofaríngea, la llegada al alvéolo, la respuesta a la colonización y culminan con la evasión bacteriana a las defensas del hospedador.¹⁸ Los eventos en nasofaringe que permiten la proliferación de

M. haemolytica son desconocidos. Estudios recientes sugieren que el estrés y las infecciones virales, estimulan el incremento en el hospedador de la actividad de elastasa en la mucosa nasal, lo cual puede disminuir las concentraciones de fibronectina y el incremento en la adherencia y colonización de *M. haemolytica*.²⁴ Adicionalmente, la neuraminidasa y la glicoproteasa producidas por *M. haemolytica* pueden alterar la secreción salival de tipo mucosa o las glicoproteínas de superficie de las células, incrementando la adherencia de *M. haemolytica* al moco o al epitelio nasal.^{1,88,89}

Una vez que *M. haemolytica* gana el acceso al alvéolo pulmonar, los factores bacterianos estimulan una respuesta inflamatoria intensa y aguda. Estos factores bacterianos, asociados con los del hospedador, inducen daño tisular localizado y estimulan una respuesta sistémica asociada con el proceso inflamatorio. La endotoxina y la leucotoxina son los factores de virulencia mejor caracterizados con respecto a sus efectos en el alvéolo.⁵⁰

La leucotoxina induce citólisis de neutrófilos y plaquetas, lo cual produce daño al alvéolo por la liberación de enzimas lisosómicas y de radicales libres del O₂. Aparte de la actividad citotóxica, la leucotoxina modifica la función del neutrófilo, aumenta la producción de mediadores de la inflamación. Estos cambios amplifican la respuesta inflamatoria, resultando en lesiones más severas o mejorando la bacteriolisis. Además las concentraciones sublétricas de leucotoxina inhiben la blastogénesis de linfocitos bovinos, lo cual podría reducir las defensas inmunomediadas contra *M. haemolytica*.^{16,}

La endotoxina de *M. haemolytica* es tóxica al endotelio, por lo que puede incrementar la permeabilidad capilar a nivel alveolar. También daña el endotelio mediante la estimulación del factor de necrosis tumoral (TNF) y por la producción de interleucina-1 por macrófagos alveolares.^{22,23,124,101}

La adherencia bacteriana es un factor de virulencia importante, en el caso de *M. haemolytica*, las estructuras bacterianas que participan en la adherencia incluyen fimbrias, adhesinas no fimbriales, adhesinas de naturaleza proteínica, parecidas a la cápsula, el glicocálix, el lipopolisacárido, los ácidos lipoteicóicos, las proteínas de membrana externa y la misma cápsula tiene capacidad para desempeñar esta función. Se asume que cualquier antígeno de la superficie bacteriana que tenga una conformación estereoquímica, perfil hidrofóbico y carga neta electrostática complementaria con las estructuras de membrana de su célula blanco, pueden funcionar como adhesinas.⁷⁶ La presencia de una envoltura de polisacáridos extracelulares conocida como glicocálix es frecuente en *M. haemolytica*, esta cubierta incrementa la resistencia de la bacteria a los mecanismos de fagocitosis, debido a su hidrofiliidad, carga y viscosidad.⁴¹

Descubrimientos recientes, destacan la presencia de un antígeno en la superficie de los leucocitos de rumiantes, conocido como integrina $\beta(2)$ CD11a/CD18 (LEA-1), que al unirse con la leucotoxina de *M. haemolytica* induce la activación del leucocito y la subsecuente citólisis. Las infecciones virales primarias pueden inducir una mayor expresión de este antígeno, siendo un mecanismo que soporta la interacción virus-bacteria que conlleva a la mayor severidad de las neumonías.^{79,91} Se ha reconocido que el marcador de superficie CD18 perteneciente a la integrina $\beta(2)$ CD11a/CD18 (LEA-1), es necesario y suficiente para mediar la citólisis ocasionada por la leucotoxina de *M.*

haemolytica.⁴³ Asimismo, las citocinas inflamatorias que se observan en infecciones virales y bacterianas, pueden inducir también la expresión de este antígeno, provocando la formación de estructuras similares a poros en la membrana, lo cual induce la lisis de leucocitos. En esta lisis pueden involucrarse mecanismos de apoptosis y necrosis. Las citocinas que han mostrado tener este efecto son la IL-1 β , el Factor de necrosis tumoral alfa y el interferón gama.⁹⁰

Aparte de los mecanismos de apoptosis, la leucotoxina también provoca muerte celular por oncosis. El mecanismo de oncosis induce pocos cambios nucleares, liberación de contenido citoplásmico que se acumula alrededor del tejido e inflamación.⁴³

Existen factores asociados al animal que permiten la inducción del daño por parte de la bacteria a los tejidos. Por ejemplo, la presencia o ausencia de receptores específicos para la leucotoxina de *M. haemolytica*, la participación de selectinas que se expresan en neutrófilos, que juegan un papel determinante en la susceptibilidad de estas células a la leucotoxina de *M. haemolytica*, ya que después de la activación de los neutrófilos, las L-selectinas son destruidas en la membrana del neutrófilo por enzimas proteolíticas, permitiendo la expresión de las β -integrinas (c/CD18 [LFA-1]), responsables de la especificidad de la leucotoxina a estas células.⁸⁸ La inhibición de estas selectinas disminuye la infiltración de neutrófilos durante las fases agudas de la neumonía causada por *M. haemolytica*.¹²⁷ Este fenómeno disminuiría la severidad del daño pulmonar, porque el daño tisular se produce por factores bacterianos y factores propios del animal; la respuesta inflamatoria provocada por neutrófilos es el principal factor, al liberar una gran cantidad de mediadores que inducen el daño. Entre estos mediadores destacan la IL-1 β y la IL-8 que son producidos por los neutrófilos.¹⁰¹

En la actualidad se ha desarrollado una diversidad de inmunógenos para prevenir la neumonía por *M. haemolytica*, con resultados aparentemente satisfactorios en algunos casos. Los inmunógenos a base de bacterias vivas de cultivos de 6 horas son los que han dado resultados más satisfactorios. Se argumenta que este tipo de biológicos son eficaces porque los cultivos jóvenes producen más material inmunogénico (material capsular, leucotoxina y otros antígenos no muy bien definidos).¹¹² La eficacia de la vacunación requiere que la respuesta inmune esté encaminada a los factores o antígenos que estén relacionados con protección. En relación al uso de las bacterinas, se ha discutido de manera amplia acerca de la protección que brindan, debido a que en la mayoría de las veces se concluye que confieren escasa protección e incluso se menciona que pueden incrementar el daño pulmonar. La ineficacia de estos biológicos se debe a que al ser inoculados a un animal, se producen anticuerpos séricos contra antígenos capsulares, sin embargo, existen otros antígenos que participan en la patogénesis de la enfermedad y que no están contenidos en estas bacterinas, como la leucotoxina de *M. haemolytica*. A pesar de lo anterior, en México se siguen utilizando las bacterinas, sin saber a ciencia cierta su eficacia, serotipos utilizados y las características de las cepas contenidas.¹¹²

En México se han introducido biológicos para la prevención de la Pasteurelosis Neumónica de los bovinos y que se han empezado a utilizar en borregos e incluso en cabras, algunos de estos biológicos tienen incluida a la leucotoxina de *M. haemolytica* como parte de los antígenos que inducen protección. Si bien, la leucotoxina es el antígeno mejor caracterizado, el que ha demostrado inducir mejor protección y que es un antígeno común a todos los serotipos de *M. haemolytica*, no hay que olvidar que los

antígenos capsulares, entre otros, también son importantes y éstos si son específicos del serotipo de la bacteria.¹¹²

Bajo el supuesto de que las bacterinas para prevenir la Pasteurelisis Neumónica no son muy eficaces y considerando que los laboratorios de producción de biológicos nacionales solo producen bacterinas, se han introducido recientemente en el mercado nacional, vacunas de nueva generación. Estos biológicos son bacterinas más "leucotoxide", o productos de la superficie bacteriana más "leucotoxide".¹¹²

En el CENID-Microbiología, INIFAP-SAGAR existe una línea de investigación relacionada con la evaluación de éstos biológicos. El objetivo general del proyecto es evaluar, de manera comparativa varios inmunógenos comerciales, en condiciones controladas y en campo. Se ha incluido como grupo control un inmunógeno experimental a base de bacterias muertas y sobrenadante rico en leucotoxina y otros antígenos de *M. haemolytica* para prevenir la Pasteurelisis Neumónica. Estas investigaciones han dado resultados alentadores y en algunos resultados obtenidos hasta el momento, tanto a nivel laboratorio (experimental) como en ensayos de campo se ha demostrado la eficacia de estos inmunógenos. Dentro de estos resultados destacan: la capacidad de la mayoría de estos biológicos para inducir una respuesta de anticuerpos contra los principales antígenos relacionados con la patogenicidad de la bacteria (antígenos capsulares, leucotoxina, proteínas de membrana externa, etc).¹¹²

Vitamina B₁₂

La cianocobalamina tiene un núcleo tipo porfirina que contiene un átomo central de cobalto unido a un radical cianuro, y una estructura de tipo nucleótido, ligada a la porción porfirínica por un grupo aminopropanol. En su variedad coenzima, el radical cianuro es substituido por un grupo desoxiadenosina.⁶³ Por lo general un grupo cianuro está adherido al cobalto como un artefacto del aislamiento y debe ser removido en el organismo antes de que la cobalamina pueda ser transformada a su forma activa. Está presente en el hígado del animal normal, donde existe como metilcobalamina, adenosilcobalamina o hidroxicobalamina. La cianocobalamina es la forma más estable y por consiguiente ésta es la forma en que se produce comercialmente a partir de la fermentación bacteriana. Es hidrosoluble y termostábil.¹⁷

Es una Coenzima necesaria para la formación de glóbulos rojos, la formación del aminoácido metionina, la entrada de algunos aminoácidos en el ciclo de Krebs y la manufactura de colina. Su fuente principal es la síntesis bacteriana; los vegetales no tienen capacidad para formarla, pero la pueden tomar del suelo en donde la han formado las bacterias. Esta vitamina se almacena en el hígado.⁶³

La absorción intestinal de la vitamina B₁₂ es mediada por sitios receptores en el íleo que requieren que la cobalamina sea fijada por el factor intrínseco, que es una glucoproteína altamente específica, secretada por las células de la mucosa gástrica.¹⁷

Las formas cristalinas de la B₁₂ utilizadas como suplemento son habitualmente la hidroxicobalamina o la cianocobalamina. En los alimentos, la B₁₂ se encuentra

normalmente ligada a proteína en la forma metilo o 5-desoxiadenosilo. Para poder ser utilizada, la B₁₂ ha de ser separada en primer lugar de la proteína mediante hidrólisis ácida en el estómago o por digestión trípica en el intestino. Debe combinarse seguidamente con el factor intrínseco.¹⁶⁷ Cuando el complejo cobalamina-factor intrínseco cruza la mucosa ileal, el factor intrínseco es liberado y la vitamina es transferida a una proteína plasmática transportadora, la transcobalamina II. En el hígado existen otras proteínas fijadoras de cobalamina, como la transcobalamina I y permiten una forma eficaz de almacenamiento de la cobalamina, situación única para las vitaminas hidrosolubles. La vitamina B₁₂ es secretada en la bilis y participa en la circulación enterohepática; por esta razón existe un requerimiento mayor de cobalamina exógena cuando el sistema de circulación enterohepática está alterado de alguna manera. Una vez que la cobalamina se fija a la transcobalamina II en la sangre del sistema portal, desaparece del plasma en unas cuantas horas. La vitamina de mayor circulación es la metilcobalamina, con unas trazas detectables de hidroxicobalamina. No obstante, en el hígado el 70 % de la cobalamina total está en forma de adenosilcobalamina, en tanto que sólo hay 3 % de metilcobalamina.¹⁶⁷

El complejo transcobalamina II se une a los receptores específicos de la superficie celular y entra en la célula mediante el proceso de endocitosis, liberando por último a la cobalamina como hidroxicobalamina en el citosol. Ahí es convertida a metilcobalamina o entra a la mitocondria, donde el cobalto es reducido y a continuación se forma la 5-desoxiadenosilcobalamina.⁶⁰

Solo existen dos reacciones enzimáticas en las cuales la cobalamina sirve como coenzima. La metilación de homocisteína a metionina que ocurre en el citoplasma y

utiliza metilcobalamina como coenzima y el N5-metiltetrahidrofolato como fuente de radicales metilo. La apoenzima metiltransferasa se une a la cobalamina y el N5-metiltetrahidrofolato transfiere su grupo metilo al grupo protético cobalamina. A continuación el radical metilo unido a la cobalamina es transferido a la homocisteína, formándose la metionina, La ausencia de Vitamina B₁₂ provoca un bloqueo de ésta reacción y la acumulación del N5-metiltetrahidrofolato. Así una deficiencia de cobalamina produce un atrapamiento de tetrahidrofolato.⁶³

La segunda reacción enzimática que utiliza cobalamina es la isomerización de la L-metilmalonil-CoA y succinil-CoA por la enzima L-metilmalonil-CoA mutasa y la coenzima 5-desoxiadenosilcobalamina. La desoxiadenosilcobalamina se forma en la mitocondria a partir de ATP cobalamina reducida y asimismo, la isomerización ocurre en la mitocondria.⁶³

El derivado metilo de la B₁₂ es necesario para la conversión de homocisteína en metionina, y el derivado 5-desoxiadenosilo se requiere para la reacción de la metilmalonil CoA mutasa (metilmalonil CoA- succinil CoA), la cual es una reacción clave en el catabolismo de algunos aminoácidos ramificados. Las alteraciones neurológicas observadas en la carencia de B₁₂ se deben a la desmielinización progresiva del tejido nervioso. Se ha propuesto que el metilmalonil CoA que se acumula interfiere con la formación de la vaina de mielina de dos maneras:

1. El metilmalonil CoA es un inhibidor competitivo del malonil CoA en la biosíntesis de ácidos grasos. Dado que la vaina de mielina está sujeta a un recambio constante,

cualquier inhibición grave de la biosíntesis de ácidos grasos conducirá finalmente a su degeneración.⁶³

2. En la síntesis residual de ácidos grasos el metilmalonil CoA puede sustituir al malonil CoA en la secuencia de reacción, dando así lugar a ácidos grasos ramificados que podrían desorganizar la estructura normal de la membrana.⁶³

Deficiencia

Existen dos signos principales de la carencia de B₁₂, la hematopoyética y la neurológica. La deficiencia prolongada de vitamina B₁₂ produce una anemia llamada anemia perniciosa (megaloblástica). Esta se debe probablemente a una deficiencia secundaria de folato reducido, a consecuencia de la acumulación de cantidades excesivas de N⁵-metiltetrahydrofolato.¹³¹ Los glóbulos rojos en desarrollo se hacen más grandes (megaloblastos) pero no maduran bien y el recuento de glóbulos rojos alcanza cifras peligrosamente bajas. Si esto no se corrige a tiempo, empiezan a presentarse cambios degenerativos en el sistema nervioso, que se inician en la médula espinal y se traducen en alteraciones sensoriales, debilidad general y parálisis.⁶³

Se cree que la anemia megaloblástica asociada a la carencia de B₁₂ refleja el efecto de la B₁₂ sobre el metabolismo del folato. La conversión de homocisteína en metionina dependiente de la B₁₂ (homocisteína + N⁵-metil THF → metionina + THF) parece ser la única ruta mayoritaria por la que el n⁵-metiltetrahydrofolato puede volver a los depósitos del tetrahydrofolato. Así, en la carencia de B₁₂ se da una acumulación de N⁵-metiltetrahydrofolato y una carencia de los derivados del tetrahydrofolato necesarios para la biosíntesis de purinas y deoxitimidina monofosfato (dTMP). Todo el folato queda

atrapado en forma de derivado N5-metilo. La B₁₂ también puede ser necesaria para la captación de folato por las células y para su conversión en las formas poliglutamato, que son biológicamente más activas. Los niveles elevados de folato procedentes de un suplemento pueden superar la anemia megaloblástica asociada con la deficiencia de B₁₂ pero no los problemas neurológicos.¹³¹

En estados de deficiencia de cobalamina, si éstos se deben a una mala absorción de vitamina B₁₂ o a una liberación defectuosa de cobalamina a los tejidos periféricos, aparece hemocistinuria y aciduria por el ácido metilmalónico.¹⁰³

El uso de B₁₂ esencialmente va dirigido a aportar cobalto (Co), las carencias de Co son resultado de condiciones de competencia en suelos ricos en Molibdeno, impiden la utilización del Cobalto que además es escaso y necesario para que la microflora digestiva sintetice B₁₂. Esta situación es frecuente en Oceanía, pero no es un problema en México.⁶³

Las principales deficiencias de la Vitamina B₁₂ ocurren en Rumiantes jóvenes, como becerros y corderos, cuando su microflora no es capaz de desarrollar el mecanismo de biosíntesis de la Vitamina B₁₂, sin embargo, en ausencia de Cobalto por deficiencia en los pastos, también se puede presentar deficiencia en animales adultos.⁶³

Las principales características de deficiencia son: falta de crecimiento o decremento en la producción, pérdida de apetito, pobre condición, incoordinación por desmielinización de los nervios periféricos, anorexia, pérdida de peso, baja en la concentración de hemoglobina y anemia.¹³¹

La biosíntesis de la Vitamina B₁₂ en el rumen, también puede estar influenciada por la alimentación, y se ha observado que la disminución de la materia seca puede favorecer una menor concentración de Vitamina B₁₂ en Hígado, y una mayor concentración en sangre con lo que se favorece una mayor excreción urinaria de la misma.¹³¹

Independientemente de la capacidad del rumiante adulto de biosintetizar la Vitamina B₁₂, una aplicación de la misma va a garantizar el correcto aporte de Co así como al ser precursor de la Hemoglobina, favorecerá una mayor presencia de O₂ circulante en sangre, con la consecuente eficiencia de los sistemas celulares, lo que se reflejará en una mejor respuesta a la producción, siendo importante en estados de tensión, de parasitosis o de convalecencia.¹³¹

La Vitamina B₁₂ está involucrada en diversos procesos metabólicos básicos principalmente de tipo enzimático, siendo el más importante en el metabolismo de las proteínas, pero también se involucra en el metabolismo de las grasas y carbohidratos, así como también a sido relacionada recientemente en procesos metabólicos participando con el Ácido Fólico, la Metionina, la Colina y Ácido Pantoténico.¹³¹

Una de las principales funciones metabólicas de la Vitamina B₁₂ es la transmetilación, función bioquímica definida como la transferencia de grupos metilo entre moléculas, la importancia de estos procesos estriba en ser un proceso bioquímico condicionante para la síntesis de ciertos aminoácidos, así mismo la Vitamina B₁₂ es requerida para lograr el desecho de los esqueletos de carbono de la síntesis de aminoácidos, incrementándose su requerimiento con dietas altas en proteína. El átomo de Co de la Vitamina B₁₂ es el responsable del proceso de transmetilación.¹³¹

Estudios recientes han determinado que una cantidad importante de Nitrógeno No Proteico (Amoniaco) se acumula en la sangre de animales con una concentración baja de Vitamina B₁₂, lo que favorece una disminución en la capacidad del Hígado de incorporar Glucosa y Serina al metabolismo proteico del Hígado, y se ha demostrado que se puede disminuir la incorporación de aminoácidos a las proteínas en presencia de pobres niveles de Vitamina B₁₂, por lo que resulta una depresión en la síntesis de proteínas, como la principal causa de falta de crecimiento en animales deficientes en Vitamina B₁₂.¹³¹

Otro papel metabólico muy importante de la Vitamina B₁₂, es en el metabolismo del Ácido Propiónico, ya que la Vitamina B₁₂ actúa parte de las coenzimas involucradas. La presencia de la Vitamina B₁₂ favorece a una mayor concentración de Ácido Propiónico a nivel sanguíneo, mientras que en animales deficientes, la excreción del Propionato es mucho mayor, y recordando que el Propionato es la forma de precursora de la energía de los rumiantes, este factor se vuelve de suma importancia para en metabolismo energético de los rumiantes.¹³¹

Además de participar en el metabolismo del Ácido Propiónico, la Vitamina B₁₂ se involucra en el metabolismo de otros ácidos grasos volátiles, por lo que adquiere relevancia su papel en la fisiología de los rumiantes.¹³¹

Efecto antioxidante

Siendo la enzima Glutathion, un tripéptido formado por Ácido glutámico, Cisteína y Glicocol, un potente antioxidante, se ha observado que la concentración elevada de Vitamina B₁₂ favorece un incremento de esta enzima principalmente en eritrocitos.¹³¹

Así mismo, se han descubierto recientemente que la Vitamina B₁₂ participa por sí misma del sistema de Oxido- Reducción, al fungir como donador del Co en ciertas coenzimas participantes junto con la Vitamina C (Ácido Ascórbico), sin embargo se siguen investigando los efectos antioxidantes de la Vitamina B₁₂.¹³¹

Justificación

La dosificación y niveles adecuados de Selenio en los animales, en especial en los rumiantes, sigue siendo motivo de controversia, por lo que trabajos que aporten información sobre dosis-respuesta siguen siendo necesarios.

Hipótesis

El ganado suplementado con Selenio mostrará mayores concentraciones de Selenio en plasma, presentará mejores ganancias de peso y evidenciará mejor respuesta a un toxoide de *Mannheimia haemolytica*

Objetivo General

Evaluar ganancia diaria de peso, los niveles plasmáticos de Selenio y los niveles de anticuerpos producidos contra la leucotoxina de *Mannheimia haemolytica*, en bovinos de engorda suplementados con Selenio-Vitamina B₁₂ y controles sin suplementar.

Objetivos Particulares

Evaluar la mejora en la ganancia de peso de bovinos suplementados con Se y controles.

Determinar niveles plasmáticos de Se en bovinos suplementados y controles.

Determinar la presencia y títulos de anticuerpos generados contra la leucotoxina de *Mannheimia haemolytica* serotipo A1 y A2 en sueros de bovinos de engorda inmunizados contra la Pasteurelisis neumónica en bovinos.

Materiales y Métodos

Éste trabajo se realizó en el Rancho “Dos Matas” ubicado en el Municipio de Tierra Blanca en el Estado de Veracruz de Ignacio de la Llave, México. El rancho se encuentra a una elevación de 60 m.s.n m, se encuentra en la Latitud 18° 27' 00'' N, Longitud 96° 21' 00 '' W, presenta una Temperatura Promedio de 25.1 °C y una Precipitación Pluvial de 1000 mm. durante el año. Se utilizaron 120 animales de una unidad de engorda intensiva. Los animales se seleccionaron procurando que fueran de la misma procedencia, edad semejante e igual tipo racial. Se sometieron a las mismas condiciones de manejo, alimentación y se constató que estuvieran libres de enfermedades clínicas.

A su llegada al rancho los animales recibieron el manejo de ingreso establecido en la explotación:

- Vacunación con bacterina contra *M. haemolytica*
- Vacunación contra rinotraqueitis infecciosa bovina, diarrea viral bovina, parainfluenza 3 y virus respiratorio sincitial bovino.
- Vacunación con bacterina toxoide contra complejo clostridial. (*Clostridium chauvoei*, *septicum*, *sordellii*, *novyi* serotipo B, *tetani*, *haemolyticum*, *perfringens* tipos “A”, “B”, “C” y “D” en hidróxido de aluminio como adyuvante).
- Tratamiento de antibióticos (Tylan) a los animales que presentan temperaturas mayores a los 40 °C.
- Desparasitacion contra *Fasciola hepatica* con Triclabendazol
- Colocación de implantes promotores del crecimiento con Trenbolona más estradiol
- Aretado

-Descorne

-Pesaje

-Lotificación

De acuerdo al manejo del rancho, los animales tuvieron un ciclo de engorda de 90 días. Este ensayo comenzó a los 30 días de este ciclo, luego de que los animales se habían adaptado. A partir del día 30 se realizaron las siguientes actividades con los animales experimentales:

Se formaron 2 grupos de 60 animales cada uno. Un grupo suplementado con Se de forma parenteral (A) y un grupo control (B), los cuales fueron ubicados en corrales diferentes. Los animales de los 2 grupos fueron aretados para distinguirlos. Ambos grupos recibieron la misma dieta “*ad libitum*”, y todos los animales fueron pesados los días 0, 45, 60, 75 y 90. Se analizaron los niveles de Se en las dietas de recepción, adaptación y finalización. La dieta de recepción se aplicó del día 0 al día 30, la de adaptación del día 31 al día 60 y la de finalización del día 61 al día 90.

Al Grupo A el día 30 y 60 fue tratado con Selenio-Vitamina B₁₂, con un producto comercial elaborado en Nueva Zelanda, con selenato de sodio equivalente 4 mg de Se/ml. e hidroxicianocobalamina (2000mcg), a una dosis recomendada por el fabricante de 5 ml. y el otro se mantuvo como grupo control no tratado. Ambos grupos el A y el B fueron inmunizados el día 30 del ensayo con un biológico experimental elaborado en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), el cual es una bacterina toxoide que contiene células completas de *Mannheimia haemolytica* serotipos A1 y A2, *Pasteurella multocida* tipo A y sobrenadante de cultivo

con leucotoxina, así como proteínas de membrana externa y otros antígenos solubles. Se realizó un análisis estadístico de mediciones repetidas (Repeated).

De cinco animales de cada grupo se obtuvieron entre 5 y 10 ml de sangre mediante venopunción coccígea empleando el sistema de tubos al vacío con EDTA los días 30, 37, 45, 60 y 90 que se trabajaron como “pool” para determinar los niveles de Se. El Se se determinó por medio de la prueba de espectrofotometría de absorción atómica con flujo de hidruros. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza utilizando el paquete de “Statistical Analysis System-SAS, 1985”. Las muestras de sangre sin EDTA se utilizaron para obtener suero y medir el título de anticuerpos contra la leucotoxina, con la prueba de ensayo visual simple de seroneutralización de muerte leucocitaria.

Las muestras de suero fueron remitidas dentro de 24 horas al laboratorio de diagnóstico CENID Microbiología del INIFAP y las que contenían EDTA fueron remitidas al laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1.

A los 2 grupos se les midió ganancia diaria de peso, niveles séricos de Selenio y los niveles de anticuerpos contra la leucotoxina de *M. haemolytica*

Dietas suministradas a los animales durante el periodo que estuvieron a prueba:

Dieta Húmeda:

-Bagazo húmedo de cervecería

- Levadura líquida de cervecería
- Maíz
- Cribados de cervecería
- Pasto henificado
- Carbonato de calcio
- Sebo
- Premezcla Zilmax (Zilpaterol)
- Premezcla MGA para hembras
- Procreatin 7 (Levadura viva)
- Bostec C25 DM (Premezcla)
- CAD-SELENIO (electrolitos + Selenio orgánico. Solo en la dieta de recepción a partir del mes de febrero).

Dieta Seca:

- Maíz
- Salbado de Trigo
- Pasta de Soya
- Levadura Líquida de Cervecería
- Cribado de Cervecería
- Pasto Henificado
- Sebo
- Premezcla Zilmax (Zilpaterol)
- Premezcla MGA para hembras
- Procreatin 7 (Levadura viva)
- Bostec C25 DM (Premezcla)

Los valores de Se en la dieta variaron de 0,4 a 0,6 mcg/g en adaptación y finalización y de 0,7 a 1,0 mcg/g en la dieta de recepción, que fue adicionada con un compuesto de selenolevaduras, rico en SeMet.

Manejo de las muestras de Sangre

El Se se determinó por medio de la prueba de espectrofotometría de absorción atómica con flujo de hidruros. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción coccígea en tubos con EDTA. El plasma obtenido por centrifugación se mantuvo en congelación a -20 °C hasta su análisis.

Tratamiento de las muestras:

Determinación de niveles plasmáticos de Selenio por medio de la prueba de espectrofotometría de absorción atómica con flujo de hidruros.

- Se pesó 1 gr. de plasma en cada vaso utilizando una balanza analítica.
- Se agregaron 10 ml de agua desionizada y 5 ml de ácido nítrico concentrado.
- Se adicionaron 2 ml de peróxido de hidrógeno.
- Las muestras se mantuvieron en reposo por 30 min.

Digestión de las muestras:

- La digestión se realizó usando las siguientes rampas de temperatura:
- De temperatura ambiente a 120 °C en 5 minutos.
- La temperatura se mantiene en 120 °C durante 2 minutos.
- De 120 °C a 170 °C en 5 minutos.
- Enfriamiento de las muestras a temperatura ambiente por 1 hora.

- Cada muestra se transfirió a un matraz volumétrico de 50 ml y el volumen se completo hasta la marca del aforo con ácido clorhídrico 7 M.

Cuantificación:

- Se utilizó el espectrofotómetro de absorción atómica con el sistema de generador de hidruros.
- La presión de los gases fue de 50 psi para nitrógeno y de 20 psi para acetileno.
- El flujo de la muestra fue de 8 ml/min.
- Se corrió la curva de calibración (2, 4, 6, 8 y 10 ppb).
- Se midieron las observancias de las muestras y se interpolaron en la curva de calibración para obtener la concentración de cada una.
- Las concentraciones se reportan en partes por billón (ppb), es decir en (ng/Kg).

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza utilizando el paquete de “Statistical Analysis System-SAS, 1985”.

Determinación de anticuerpos contra la leucotoxina de *Mannheimia haemolytica*, por medio de la prueba de ensayo simple visual.

Esta prueba se fundamenta en la capacidad que tiene la leucotoxina de *M. haemolytica* de lisar leucocitos de sangre periférica de bovino obtenidos mediante choque hipotónico de sangre completa, para eliminar los eritrocitos.

En una placa de microtitulación de 96 pozos de fondo plano, se adicionaron 100 µl de RPMI-1640 a todos los pozos de la placa. A la primera fila se le añadió 96 µl de RPMI-

1640 más 5 µl del suero problema para hacer una dilución 1:50, a continuación se hicieron diluciones dobles de los sueros hasta el final de la placa. Después se agregaron 50 µl de leucotoxina y se adicionaron 100 µl de células blancas, y se incubaron a 37 °C a movimiento constante por 1 hora, pasado este lapso de tiempo se centrifugó a 800 x g por 5 min (2000 rpm). Y terminado esto se decantó y se fijaron con 50 µl de formol al 10 % por 20 minutos. Posteriormente se tiñeron las placas con una solución de 50 µl de cristal violeta al 0.5 % por 10 minutos, lavándolas finalmente con agua corriente y se procedió a la lectura. Un fondo azul en los pozos indicaba la presencia de células teñidas y por lo tanto la ausencia de leucotoxina de *M. haemolytica* en los sobrenadantes. Un fondo claro indicaba la ausencia de células por la presencia de leucotoxina, que había ejercido su efecto de lisis sobre las células “blanco”, eliminando el sustrato celular a teñir.

Se realizó un análisis de varianza y la diferencia entre medias a los diferentes tiempos, se estableció con la prueba de Duncan.

Resultados:

Cuadro 1.- Títulos de anticuerpos contra la leucotoxina de *M. haemolytica* del grupo tratado con Selenio y Vitamina B₁₂

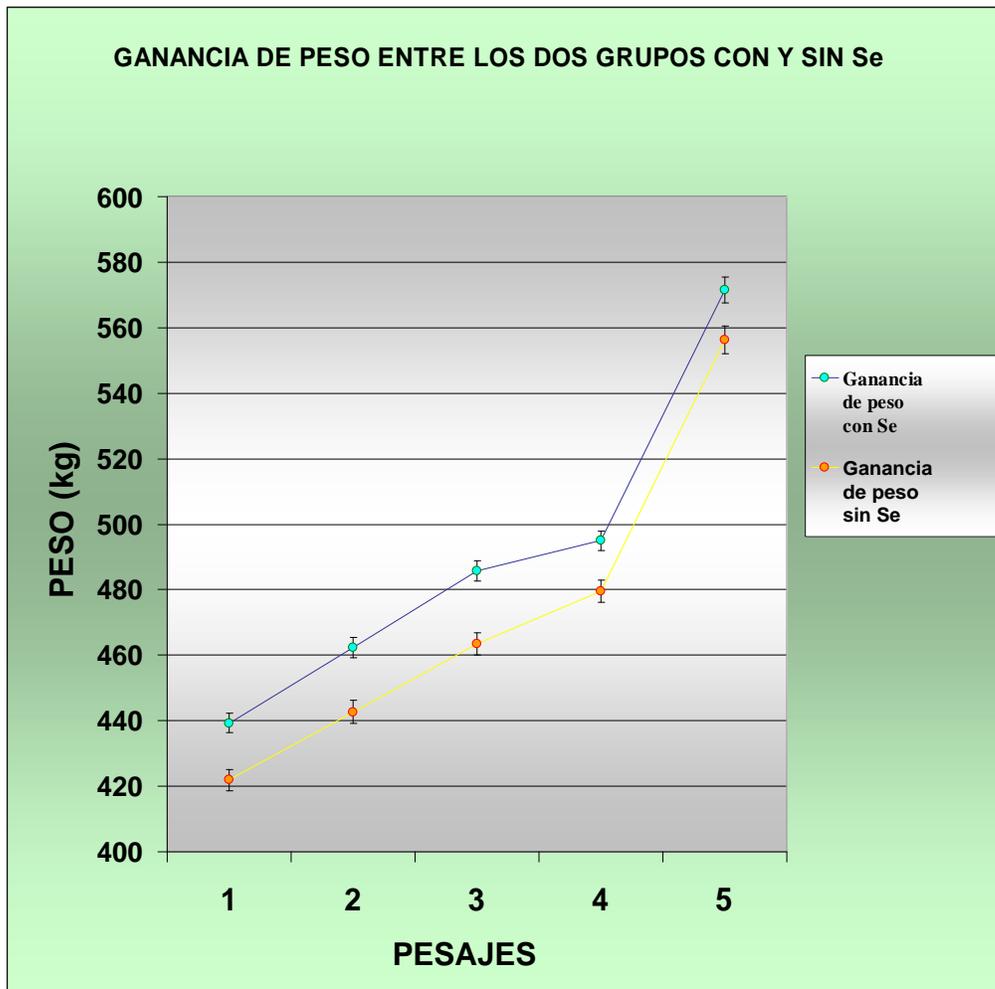
Muestreo	1°	2°	3°	4°	5°
I CS	1:400	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
II CS	1:400	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
III CS	1:200	1:800	1:800	1:1600	1:1600
IV CS	1:400	1:1600	1:800	1:1600	1:1600
V CS	1:200	1:800	1:800	1:800	1:1600

Cuadro 2.- Títulos de anticuerpos contra la leucotoxina de *M. haemolytica* del grupo control.

Muestreo	1°	2°	3°	4°	5°
I SS	1:400	1:400	1:400	1:400	1:400
II SS	1:800	1:800	1:800	1:800	1:800
III SS	1:400	1:400	1:1600	1:800	1:800
IV SS	1:400	1:400	1:800	1:400	1:400
V SS	1:800	1:800	1:800	1:800	1:800

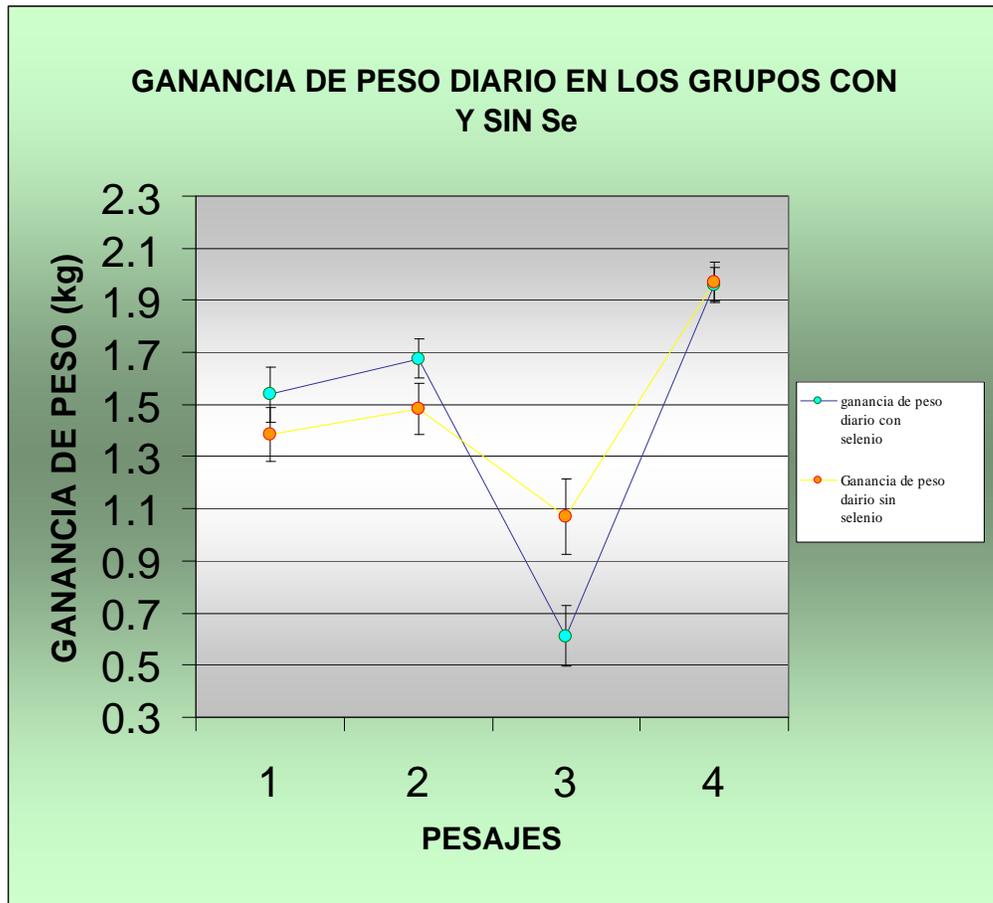
Los animales que fueron suplementados (CS) superaron a los controles (SS). La respuesta de anticuerpos contra leucotoxina es mayor en el grupo al que se le aplicó el Se y la vitamina B₁₂, pese a que en el primer muestreo sus títulos eran iguales o menores a los del grupo control

Gráfica 1. Ganancia de peso entre el grupo con Selenio y el grupo sin Selenio



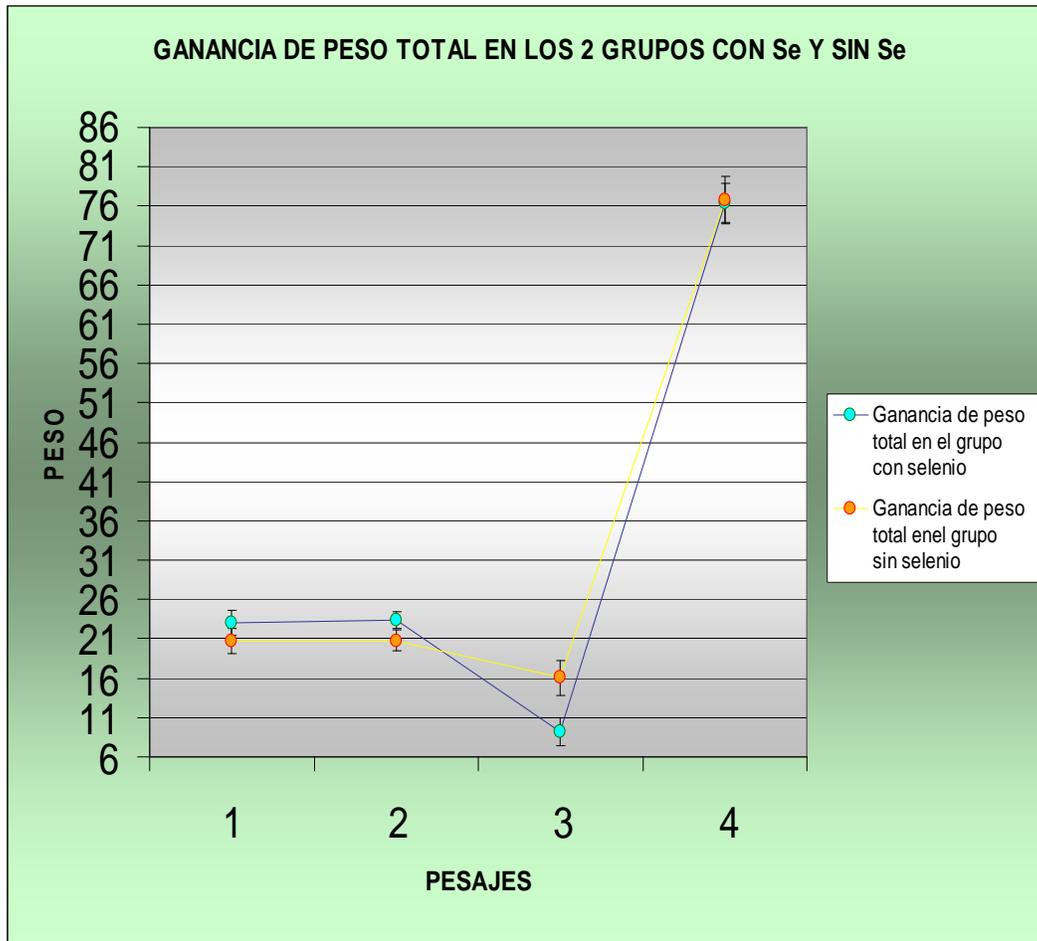
Gráfica 1. Las ganancias de peso fueron mayores en los novillos selenificados, 462.367 y 485.817 kg en los pesajes de los días 45 y 60 respectivamente ($p < 0.05$). El grupo control obtuvo una menor ganancia de peso, 442.672 y 463.448 kg en los mismos pesajes. En el pesaje del día 75, los animales habían comenzado a consumir la dieta de finalización y ocurrió una baja de peso que afectó a controles y suplementados, determinando un estancamiento en las ganancias de peso, sin embargo los animales suplementados se recuperaron en mejor forma que los controles. Los pesos finales fueron de 574,45 y 556,33 Kg en los animales selenificados y controles respectivamente.

Gráfica 2. Ganancia de peso diario en los grupos con Selenio y sin Selenio.



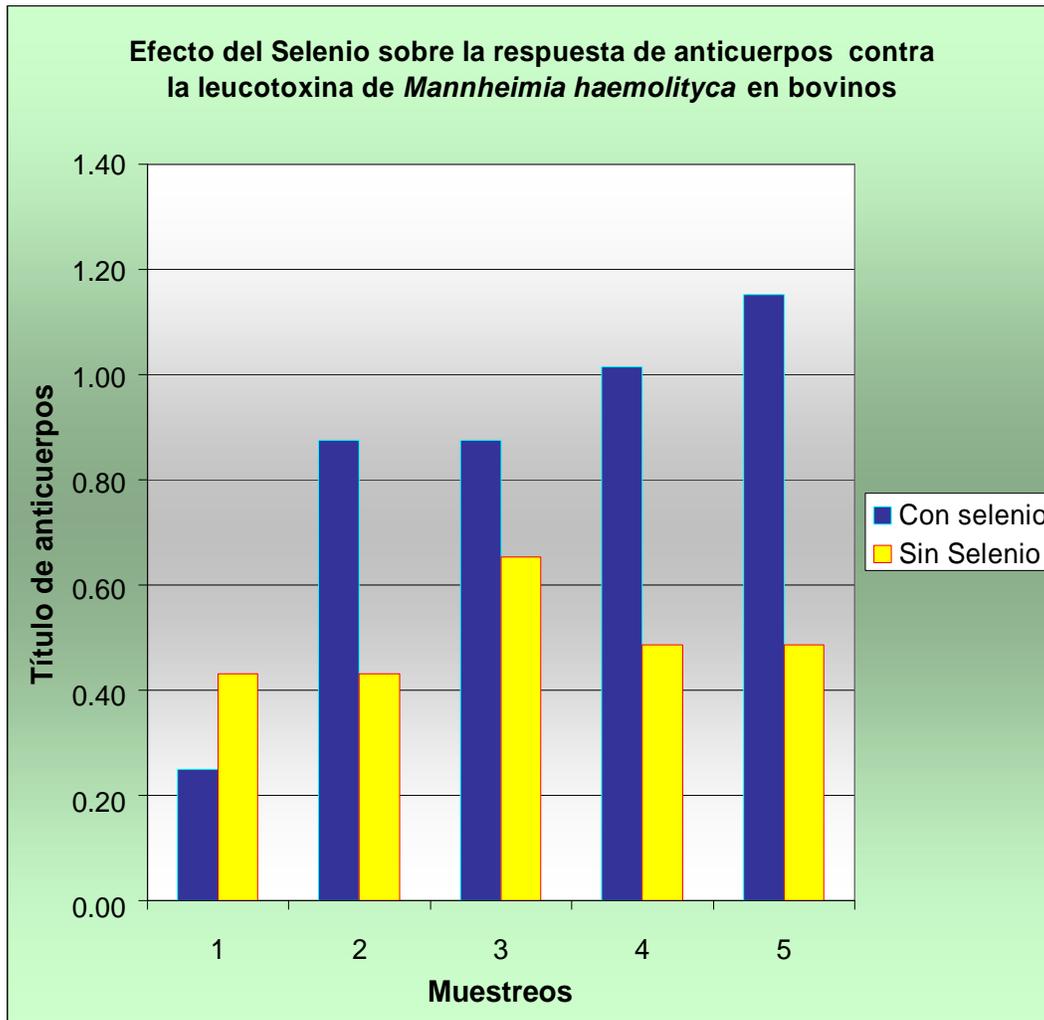
Gráfica 2. Las ganancias diarias de peso fueron mayores en los novillos selenificados, 1.537 y 1.675 g/día en los pesajes de los días 45 y 60 respectivamente ($p < 0.05$). El grupo control obtuvo una menor ganancia de peso, 1.38506 y 1.48399 kg en los mismos pesajes. En el pesaje del día 75, los animales habían comenzado a consumir la dieta de finalización y ocurrió una baja de peso que afectó a controles y suplementados, determinando un estancamiento en las ganancias diarias de peso, sin embargo los animales suplementados se recuperaron en mejor forma que los controles. Las ganancias diarias de peso finales fueron de 1.96026 y 1.97038 Kg en los animales selenificados y controles respectivamente.

Grafica 3.- Ganancia de peso total entre el grupo con Se y el grupo sin Se.



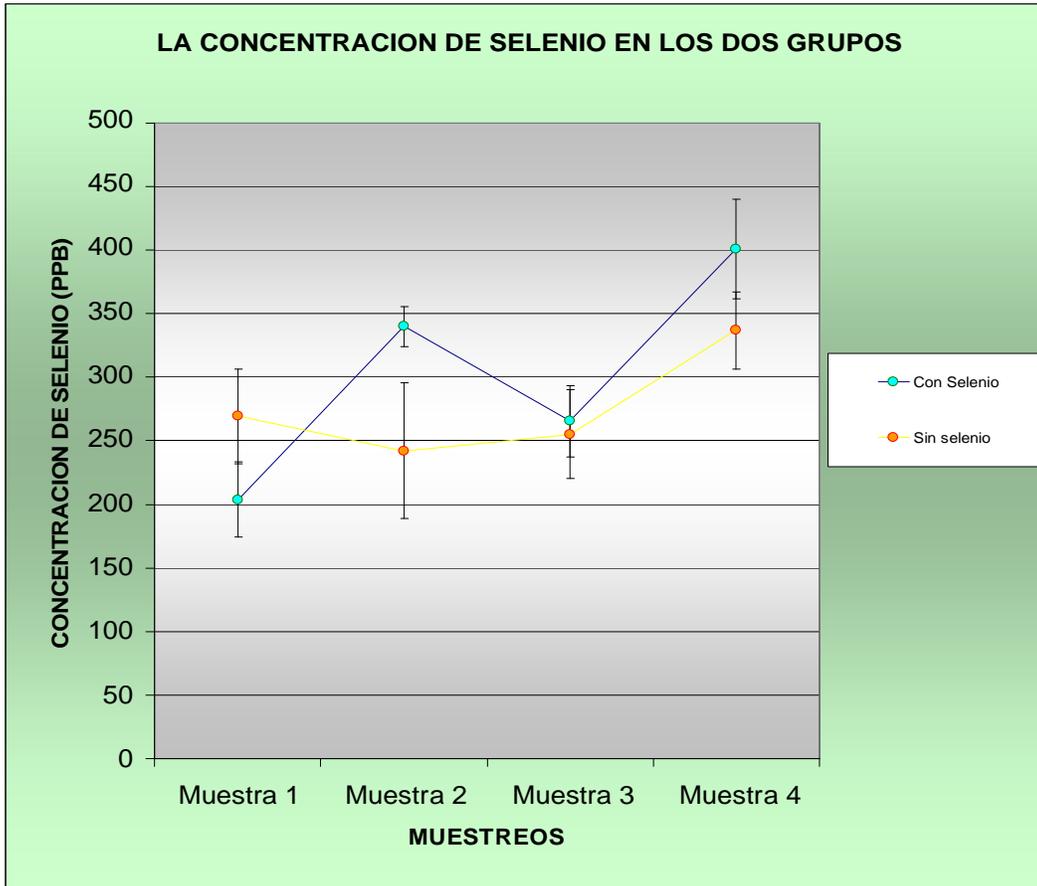
Gráfica 3. Las ganancias totales de peso fueron mayores en los novillos selenificados, 23.06 y 23.45 kg en los pesajes de los días 45 y 60 respectivamente ($p < 0.05$). El grupo control obtuvo una menor ganancia de peso, 20.77 y 20.80 kg en los mismos pesajes. En el pesaje del día 75, los animales habían comenzado a consumir la dieta de finalización y ocurrió una baja de peso que afectó a controles y suplementados, determinando un estancamiento en las ganancias diarias de peso, sin embargo los animales suplementados se recuperaron en mejor forma que los controles. Las ganancias totales de peso finales fueron de 76.45 y 76.84 Kg en los animales selenificados y controles respectivamente.

Gráfica 4. Efecto del Selenio sobre la respuesta de anticuerpos contra la leucotoxina de *M. haemolytica* en bovinos.



Gráfica 4. Solo se observaron variaciones significativas en los valores hemáticos de Se entre grupos, en el 2do. muestreo ($p < 0.05$), donde los suplementados superaron a los controles. La respuesta de anticuerpos contra leucotoxina, fue significativamente superior en los animales suplementados, que presentaron un título promedio corregido de 1,15 (1:1600) contra los controles con 0.49 (1:400), pese a que en el primer muestreo sus títulos eran menores a los del grupo control ($p < 0.05$).

Gráfica 5. Concentraciones de Se en sangre de animales suplementados y controles.



Gráfica 5. Los valores hemáticos de Se resultaron significativamente elevados en el 2do. muestreo (350ppb) ($p < 0.05$), en los animales suplementados, para reducirse en el tercero, en concordancia, con una reducción en la GDP, atribuible al cambio de dieta.

Discusión

En las gráficas 1, 2 y 3 se muestra un mayor aumento de peso en los animales que recibieron el tratamiento con Selenio y Vitamina B₁₂, estos resultados refuerzan lo expuesto por Niyo. *et al* 1977. En donde declaran que la aplicación de Selenio muestra efectos positivos sobre ganancia de peso, incremento de la tasa de sobrevivencia de corderos recién nacidos, mayor respuesta inmunitaria e incremento en la fertilidad cuando se mantienen niveles adecuados de Selenio en sangre. También se puede asumir que al haber mayor concentración de Selenio en sangre, habrá mayor título de anticuerpos y por ende mayor resistencias a diferentes tipos de enfermedades.

Larsen, H. J. 1998 indica que la aplicación de Selenio causa un aumento de la Gsh-px en las células fagocitarias y también un aumento de la capacidad bactericida de los neutrófilos frente a distintos agentes etiológicos, en el presente trabajo se obtuvo un aumento en los títulos de anticuerpos, lo cual podría causar un aumento en la capacidad bactericida de los neutrófilos frente a distintos agentes etiologicos.

Nemec, *et. al.* 1990, demostraron que tanto la respuesta inmune celular como humoral están incrementadas en animales que reciben suplementos de Selenio.

La actividad de la Gsh-px se incrementó en animales con valores de Selenio adecuados, en respuesta a procesos infecciosos¹⁴⁶, Mientras que en aquellos que presentan valores deficientes de este oligoelemento, tras la inoculación con rinotraqueitis infecciosa bovina o parainfluenza tipo 3, no ocurre este incremento de actividad antioxidativa de la Gsh-px.¹³²

Combs, G.F. Y Combs, S.B. 1986, evaluaron la respuesta de cerdos alimentados con Se 0,2 mg o 200 U.I. de vitamina E por día, desafiados con *Serpulina hyodisenteria* (Disentería porcina). Tanto la vitamina E como el Se disminuyeron la mortalidad porcina y los niveles de *S. Hyodisenteria* recuperados de las heces. Los signos clínicos de disentería fueron menos severos con suplementación de Se.

Se observó una mejor respuesta a la inmunización con leucotoxina, considerada la forma más adecuada de protección contra la “Pasteurelisis neumónica” en rumiantes, en los animales suplementados con Se. Considerando la cantidad de animales empleados en el ensayo, que la única variable fue la suplementación en Se y las marcadas diferencias en los títulos de anticuerpos de respuesta al inmunógeno, es válido considerar que el efecto observado es atribuible a la suplementación de Se, que mejora la respuesta inmune y el reconocimiento antigénico, tal como ha sido señalado por otros autores^{18, 73,106}.

La protección contra procesos metabólicos oxidativos ha sido señalada como un importante mecanismo de prevención de los cuadros neumónicos^{39,61}, y no hay duda sobre la importancia del Se en la protección contra estos mecanismos de oxidación tisular.

En la gráfica 4 se presentan los resultados de los títulos de anticuerpos de los dos grupos, los títulos de anticuerpos del grupo tratado con Selenio y vitamina B₁₂ fueron mayores en todos los muestreos excepto en el primero, cuando aún no se había aplicado el medicamento, esto coincide con los trabajos realizados en bovinos inoculados con *Mannheimia haemolytica*¹⁴⁶, en donde se incrementan los niveles de IgM cuando han sido suplementados con Se.

En la gráfica 5 se muestran los resultados de los valores hemáticos de Se, los cuales resultaron significativamente elevados en el 2do. muestreo (350ppb) ($p < 0.05$), en los animales suplementados, para reducirse en el tercero, en concordancia, con una reducción en la GDP, atribuible al cambio de dieta.

Las dietas presentaron niveles de Se adecuados, sin embargo los animales respondieron a la suplementación parenteral, incrementando los niveles hemáticos de Se y sus GDPs. Esta respuesta positiva a la suplementación parenteral puede ser atribuida a la baja utilización del Se dietético por los rumiantes ya que la fuente de suplementación, la selenometionina, es poco eficiente para generar selenoenzimas. La selenometionina se incorpora a las proteínas en sustitución de la forma de metionina azufrada y si está en mayor disponibilidad que la forma azufrada, la incorporación de Se-metionina a la proteína es rápida, esto generó confusión en los trabajos de los 80's y hasta hoy, pues los resultados sugerían que el uso del aminoácido como suplemento era más efectivo que las formas de sales inorgánicas.⁶¹ La demostración a mediados de los 90's, de que en los sitios activos de las selenoenzimas el Se se incorporaba en todos los casos como Se-cisteína y de que la transformación Se-metionina a Se-cisteína es un proceso que parece no tener ruta metabólica en las células animales e incluso bacterianas, ha culminado con la observación de que es preferible la suplementación con sales inorgánicas.¹⁰⁶ En rumiantes incluso se ha demostrado que la microflora consume para su propio uso metabólico buena parte del Se de la dieta y genera Se-metionina.¹⁶

En el presente trabajo la aplicación de la vitamina B₁₂ no pudo haber influido en los resultados obtenidos, ya que no existía ningún signo clínico que sugiriera una deficiencia de esta vitamina. En los suelos de México y mas específicamente en los

suelos del estado de Veracruz, no existe el problema de deficiencia de Cobalto y en dado caso de que existiera una deficiencia en los suelos, los animales no se encontraban en pastoreo, sino que estaban hacinados en un corral y eran alimentados con una dieta balanceada.

Conclusiones:

De los resultados obtenidos en las dos fases del experimento, derivan las siguientes conclusiones:

La suplementación parenteral con Se muestra efectos positivos sobre la ganancia diaria de peso y la ganancia total de peso en los novillos tratados.

La concentración de Se en sangre resulta mayor cuando se aplica de forma parenteral, que en forma oral.

La aplicación de Se como selenato de sodio puede ayudar a disminuir las pérdidas económicas relacionadas con la ganancia de peso en toros de engorda y por la incidencia de ciertas enfermedades.

La suplementación con Se, mejoró significativamente la respuesta inmune mediada por anticuerpos a la leucotoxina de *M. haemolytica* en toros de engorda.

El cambio a la dieta de finalización, provocó un estancamiento en las ganancias de peso que fue atribuido a menor consumo y/o conversión, que incluso afectó más a los animales selenificados que sin embargo para el último pesaje obtuvieron mayor peso que los controles.

Las dietas presentaron niveles de Se adecuados, sin embargo los animales respondieron a la suplementación parenteral, incrementando los niveles hemáticos de Se y sus GDPs.

Esta respuesta positiva a la suplementación parenteral puede ser atribuida a la baja utilización del Se dietético por los rumiantes y a que la fuente de suplementación, la selenometionina, es poco eficiente para generar selenoenzimas.

El uso de B₁₂ esencialmente va dirigido a aportar cobalto (Co), las carencias de Co son resultado de condiciones de competencia en suelos ricos en Molibdeno, impiden la utilización del Cobalto que además es escaso y necesario para que la microflora digestiva sintetice B₁₂. Esta situación es frecuente en Oceanía, pero no es un problema en México, por lo que el efecto del aporte de Co no se considera relevante en los resultados obtenidos.

Bibliografía.

- 1.- Abdullah KM, Udoh EA, Shewen PE, Mellors A. 1992. A neutral glycoprotease of *Pasteurella haemolytica* A1 specifically cleaves O-sialoglycoproteins. *Infect. Immun.* 60:56-62
- 2.- Achkar, C.C., Bentel, J.M., Boylan, J.F., Scher, H.I., Gudas, L.J., and Miller, W.H., Jr. 1994. Differences in the pharmacokinetic properties of orally administered all-trans-retinoic acid and 9-cis-retinoic acid in the plasma of nude mice. *Drug Metab. Dispos.*, 22:451-458.
- 3.- Aguilar TC, Tórtora PJ. 1989. Mortalidad de corderos en dos sistemas de producción ovina en Milpa Alta, D.F., Memoria de III Congreso Nacional de Producción Ovina. 146.
- 4.- Allan, Ch. B. Lacourciere, G.M. and Stadtman, Th.C. 1999. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Ann. Nutr.* 19:1-16.
- 5.- Allaway, W.H., Moore, D.P., Oldfield, J.E., Muth, O.H. 1966. Movement of physiological levels of Selenium from soils through plants to animals. *J. Nutr.*, 88: 411-418.
- 6.- Allen, J.G., Steele, P., Masters, H.G., D' Atouono, M.F. 1985. A study of nutritional myopathy in weaner sheep. *Aus. Vet. J.*, 68: 8-13.

7.- Ammerman, C.B. and S.M. Miller 1974. Selenium in Ruminant nutrition. Review. J. of Dairy Sci. 58: 561-1577.

8.- Anderson, P.A., S. Berrett and D.S.P Patterson. 1978. Glutathione peroxidase activity in erythrocytes, muscle of cattle and sheep and its relationship to selenium. J. Comp. Path. 88: 181-185.

9.- Angen O, Mutters R, Caugant DA, Olsen JE, Bisgaard M. 1999. Taxonomic relationships of the (*Pasteurella*) *haemolytica* complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov., and *Mannheimia varigena* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 67-86.

10.- Arthur J.R., 1988 Effects of selenium and vitamin E status on plasma Creatine Kinase activity in calves. J Nutr. 118:747-755.

11.- Arthur J.R, McKenzie RC, Beckett GJ. 2003 Selenium in the immune system. J Nutr 133:1457S-1459S.

12.- Awadeh, F.T. Kincaid, R.L., Johnson, K.A. 1998. Effect of level and sources of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves. J. Animal Sci. 76, 1204–1215.

- 13.- Barradas H. V. 1980. Interrelationships among the mineral content of soils, forages and cattle in the central and northern of Veracruz, México. M. Sc. Thesis. Michigan State University, Michigan.
- 14.- Beckett, G.J. and Arthur, J.R. 2005. Selenium and endocrine systems. *J. Endocrinol.* 184: 455-465.
- 15.- Benavides, S. T. y Silva, M. F. 1965. Seleniosis. 2 ed., Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi; 151 p.
- 16.- Berggren KA, Baluyut CS, Simonson RR, Bemrick WJ, Maheswaran SK. 1981 Cytotoxic effect of *Pasteurella haemolytica* on ovine neutrophils. *Am. J. Vet. Res.* 42: 1383
- 17.- Bertram G. Katzung. Vitamina B12. 1990, 251-252. Editorial El manual Moderno. Mexico D.F.
- 18.- Biberstein EL. 1978. Biotyping and Serotyping of *Pasteurella haemolytica*. En: Norris BT. *Methods in Microbiology*. New York Academic Press Inc., 10:253
- 19.- Blood, D.C.; Radostits, O.M. 1989 *Veterinary Medicine. Textbook of the Disease of cattle, sheep, pigs, goat and horses*. 7 ed. Bailliere Tindall, London England. Pp. 1502.

20.- Blood, D.C., O.H. Radostits, J.H. Arundel, C.C. Gay 1992. Medicina Veterinaria. 7^o ed., Ed. Interamericana, Madrid.

21.- Blodgett, D.J., E.T. Kornegay, G.G. Shurig, J.B. Meldrum and E.D. Bonnette. 1986. Vitamin E-Selenium and immune response to selected antigens in swine. Nutr. Rep. Inter. 38: 37-43.

22.- Breider MA, Kumar S, Corstvet RE. 1990. Bovine pulmonary endothelial cell damage mediated by *Pasteurella haemolytica* pathogenic factors. Infect. Immun.; 58: 1671-1677.

23.- Breider MA, Kumar S, Corstvet RE. 1991. Interaction of bovine neutrophils in *Pasteurella haemolytica* mediated damage to pulmonary endothelial cells. Vet. Immunol. Immunopathol. 27: 337-350.

24.- Briggs RE, Frank GH. 1992. Increased elastase activity in nasal mucus associated with nasal colonization by *Pasteurella haemolytica* in infectious bovine rhinotracheitis virus-infected calves. Am J Vet Res. 53:631-635.

25.- Broderius, M.A., P.D. Whanger, P.H. Weswing. 1973. Tissue sulphhydryl groups in selenium-deficient rats and lambs, *J. Nutr.* 103: 336-342.

26.- Brown, D.V., P.L. Senger, S.L. Stone, J.A. Froseth and W.C. Becker, 1977. Glutathione peroxidase in bovine semen. J. Reprod. Fert. 5: 117-118.

- 27.- Brown, T.A. and A. Shrift. 1982 Selenium: Toxicity and tolerance in higher plants. *Biol. Rev. Philos. Soc.* 57: 59-84.
- 28.- Bryson, R.W. and Zump, G.F. 1979. An outbreak of white muscle disease in lambs born of ewes on a zero grazing system in natal. *J. Vet. Med. Assoc.* 50: 159-160.
- 29.- Burk R.F, Hill KE, Award JA, Morrow JD, Lyons PR 1995. Liver and kidney necrosis in selenium-deficient rats depleted of glutathione. *Lab Invest* 72:723-730.
- 30.- Burk R,F, Hill K,E, Boeglin M.E, Ebner F.F, Chittum H.S. 1997. Selenoprotein P associates with endothelial cells in rat tissues. *Histochem Cell Biol* 108:11-15.
- 31.- Burton, S. 1992. Handbook of diagnostic Endocrinology. Atlantic Vet. College, Charlottetown, P.E.I.
- 32.- Canther, H.E., D.C. Hafeman, R.A. Lawrence. 1976. Selenium and glutathione peroxidase in health and disease. A review, *Trace Elements in Human Health and Disease* 2: 165-236.
- 33.- Capaul, E. G., A.R. Carcagno, L. Deluca. 1988. Alterations in the semen quality and plasma enzymes in bulls. Relation with selenium deficiency. En elenium in Medicine and Biology. Proceedings of the Second International Congress on Trace Elements in Medicine and Biology, Avoriaz, Francia, pp. 377-379. y col.

- 34.- Cappa, V. 1996. Importancia y papel del selenio en la alimentación de los bovinos, *Veterinaria en Praxis* 11: 15-20.
- 35.- Carter, J.N.; Meredith, G.L.; Montelongo, M.; Gill, D.R.; Krehbiel, C.R.; Payton, M.E. and Confer, A.W. 2002. Relationship of vitamin E supplementation and antimicrobial treatment with acute-phase protein responses in cattle affected by naturally acquired respiratory tract disease. *Am. J. vet. Res.* 63: 1111-1117.
- 36.- Clark L C, Combs GF, Turnbull BW, Slate eh, Chalker DK, Chow J, Davis LS, Glover RA, Graham GF, Gross EG, Kongrad A, Leshner JL, Park HK, Sanders BB, Smith CL, Taylor JR 1996. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. *JAMA* 276:1957-1963.
- 37.- Combs G.F, Clark L.C, Turnbull B.W 1997. Reduction of cancer risk with an oral supplement of selenium. *Biomed Environ Sci* 10:227-234.
- 38.- Combs, G.F. y Combs, S.B. 1986. The role of selenium *Nutrición.*; New York: Academic Press, Inc.,; 4 p.
- 39.- Confer AW, Panciera RJ, Mosier DA. 1985. Immunity to *Pasteurella haemolytica*. *J.A.V.M.A.* 193:1308-1316
- 40.- Corah, L.R., S. Ives. 1991. The effects of essential trace minerals on reproduction in beef cattle, *Vet. Clin. North Am.* 7: 41-57.

- 41.- Crockett-Torabi E. Selectins and mechanisms of signal transduction. En: Radi ZA, Brodgen KA, Dixon RA, Gallup JM, Ackermann MR. 2002. A selectin inhibitor decreases neutrophil interaction during acute *Mannheimia haemolytica* pneumonia. Vet. Pathol. 39:697-705.
- 42.- Crystal, R. G., J. R. Ramón. 1992. GSH System. Glutathión: eje de la defensa antioxidante. Excerpta Médica, Amsterdam. Holanda.
- 43.- Cudd LA, Ownby CL, Clarke CR. 2001. Effects of *Mannheimia* leucotoxin on apoptosis and necrosis of bovine neutrophils. Am. J. Vet. Res. 2001; 62: 136-142.
- 44.- Czuprynski CJ, Noel EJ, Ortiz- Carranza O, Srikumaran S. 1991. Activation of bovine neutrophils by partially purified *Pasteurella haemolytica* leucotoxin. Infect. Immun. 59: 3126-3133.
- 45.- Chan, W.S.H. 1987. Oxygen free radicals in food. Proc. Nutr. Soc. 46: 35-41
- 46.- Chirase, N.K.; Greene, L.W.; Purdy, C.W.; Loan, R.W.; Auverman, B.W.; Parker, D.B.; Walborg, E.F.; Stevenson, D.E.; Xu, Y. and Klaunig, J.E. 2004. Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. Am.J.vet.Res. 65: 860-864.
- 47.- Church, D.E. 1993. El ruminante, fisiología digestiva y nutrición. Acribia, Zaragoza. España.

48.- De Souza M. P., Pilon-Smits E. A. H., Lytle C. M., Hwang S., Tai J., Honma TSU, Yeh L., Terry N. 1998. Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian mustard. *Plant Physiol.*, 117: 1487-1494.

49.- De Waxman, S.; Corcino, J.; Herbert, V. 1970. *J.A.M.A.* 214:101

50.- Dereck AM, Simons KR, Confer AW, Panciera RJ, Clinkenbeard KD. 1989. *Pasteurella haemolytica* antigens associated with resistance to pneumonic pasteurellosis. *Infect Immun.* 57: 711-716.

51.- Díaz, Z.S, 1993. Determinación de la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y niveles de Selenio en sangre de ovinos y niveles de Selenio en suelo y pasto de áreas ovinas de San Felipe del Progreso, México. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.

52.- Drogue W. 2002. Free Radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82: 47-95.

53.- Droke. E. A. and S. C. Loerch, 1989. Effects of parenteral selenium and vitamin E on Performance health and humoral immune response of steers new to the feedlot environment. *J. Anim. Sci.* 67: 1350-1359.

54.- Dukes, H.H., and Swenson, J.M. 1981. Fisiología de los animales domésticos. Tomo I. Ed. Aguilar, México.

55.- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 2: 51-62.

56.- Ellison, R.S. 1992. A review of copper and selenium referente ranges in cattle and sheep. Proceeding of the 22nd seminar sheep and beef cattle society New Zeland Veterinary Association incorporating the NZVA conference. Publication. No. 154. 3-17.

57.- Erasmus, J.A. 1984. Blood Seleniun levels of sheep of some districts of the Northern Orange Free State: The Bultfontein Area. J. S. Afr. Vet. 55: 155-166.

58.- Erskine, R.J., R.B. Eberhardt, P.J. Crasso. 1989. Induction of E. coli mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diet, Am. J. Vet. Res. 50: 2093-2100.

59.- Fassbender, H. W. y E. Bornemiza. 1987. Química de suelos con énfasis en suelos de America Latina. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Costa Rica. P. 398.

60.- Flores J. 2004. Farmacología Humana.

61.- Frank GH, Wessman GE. 1978. Rapid plate agglutination procedure for serotyping Pasteurella haemolytica. J. Clin. Microbiol. 7: 142-145 .

62.- Garberg et al., 1988; Kramer y Ames 1988; Seko et al., 1989; Yan y Spallholz 1993; Terada et al., 1999.

63.- Goodman y Gilman. 2006. Las Bases Farmacológicas de la terapéutica, Oncena Edición.

64.- Grace N. D., R.G. Clark. 1991. Trace element requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. In Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants ed. Tsuda, T.; Sasaki, and Kawashima, R. Academic Press.

65.- Hansard, S.M. 1983. Microminerals for Ruminant Animals. Commonwealth Bureau of Nutrition. Nutr. Abs. Rev. Series B. 53: 1-24.

66.- Henricks PAJ, Binhorst GJ, Druver AA, Nuk AMP. 1992. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin enhances production of leukotriene B4 and 5-hydroxyeicosatetranoic acid by bovine polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun. 60: 3238-3243.

67.- Henry, P.R., Echevarria, M.G., Ammerman, C.B., Rao, P.V. 1988. Estimation of the relative biological availability of inorganic Selenium sources for ruminants using tissue uptake of Selenium. J. Anim. Sci. 66: 2306-2312.

68.- Hidioglou, M., T.R. Batra, X. Zhao. 1997. Bioavailability of vitamin E compounds and the effect of supplementation on release of superoxide and hydrogen peroxide by bovine neutrophils. J. Dairy Sci. 80: 187-193.

69.- Hidioglou, M., K.J. Jenkins, and J.R. Lessard. 1970. Metabolism of vitamin E in sheep. *Br. J. Nutr.* 24: 917-928.

70.- Highlander SK. 2001. Molecular genetic analysis of virulence in *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Frontiers in bioscience.* 6:1128-1150

71.- Hill K.E, McCollum GW, Boeglin ME, Burk RF 1997. Thioredoxin reductase activity is decreased by selenium deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 234:293-295.

72.- Hill, F.I., T.K. Wyeth, A.F. Death. 1992. Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase levels of unsupplemented and supplemented alpacas in New Zealand. En: *Trace Elements: Roles, risks and remedies. Proceedings of the New Zealand Trace Elements Group Conference, New Zealand.* pp. 135-140.

73.- Himmel ME, Yates MD, Laverman LR, Squire PG. 1982. Purification and partial characterization of a macrophage cytotoxin from *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.* 43: 764.

74.- Jachens, G. 1993. Studies at selenium-deficient farms on the effect of postnatal selenium/vitamin E supplements on the health of calves in the first weeks of life. Tesis, Tierärztliche Hochschule. Hannover, Alemania.

75.- Jackson, M.J. 1987..Muscle damage during exercise: possible role of free redicals and protective effect of vitamin E. Proc. Nutr. Soc. 46: 77-80.

76.- Jacques M, Paradis SE, 1996. Adhesin-receptor interactions. International Conference of *Haemophilus, Actinobacillus and Pasteurella*.

77.- Jenkins, K.J. and Hidioglou, M. 1971. Transmission of selenium as selenite and as selenomethionine from ewe to lamb via milkusing selenium-75. Can.J.Anim.Sci. 51: 389-403.

78.- Jensen, R. 1988. Jensen and Swift's diseases of sheep 3a. ed. Cleon U. Kimberling. College of Veterinary Medicine and Biomedical Sc. Colorado State University Ft. Collins, Colorado. Lea and Febiger. Phildelphia. USA. 394 pp.

79.- Jeyaseelan S, Kannan MS, Briggs RE, Thumbikat P, Maheswaran SK. 2001. *Mannheimia haemolytica* leukotoxin activates a nonreceptor tyrosine kinase signaling cascade in bovine leucocytes, which induces biological effects. Infect. Immun. 69:6131-6139.

80.- Jimenez, A., M. Gonzalez, S. Andres, A. Del Niño Jesus, J. Sanchez, R. Barrera, J. Rodriguez, M.C. MAñe, G. Redondo. 1991. Enfermedad del musculo blanco, Ovis 12:9-62.

81.- Judson, G. J., N.J.S. Ellis, B.R. Kemper and M. Shallow. 1991. Long-acting selenium treatments for sheep. Aust. Vet. J. 68: 263-265.

82.- Kabata-Pendias, A. and H. Pendias. 1992. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Boca Raton Ann Arbor London. 78-226.

83.- Kolb, E. 1974. Microfactores en nutrición animal. Ed. Acribia. España. P 142-147.

84.- Kondracki, M., D. Bednarek. 1994. Effect of selenium and vitamin E on mineral, haematological and immunological values in calves. En: Proceedings 18th World Buiatrics Congress: 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics, Bolonia, Italia. pp. 1351-1354.

85.- Langlands, J.P., J.E. Bowles, G.E. Donald and A.J. Smith. 1986. Selenium Excretion in Sheep. Aust. J. Agric. Res. 37: 201-209.

86.- Larsen, H. J. 1998. Effect of selenium on sheep lymphocyte responses to mitogens. Res. Vet. Sci. 45: 11-15.

87.- Lea Master BR, Evermann JF, Lehmkuhl HD. 1987. Identification of ovine adenovirus types five and six in an epizootic of respiratory tract disease in recently weaned lambs. J.A.V.M.A. 190: 1545.

88.- Lee CW, Lo RY, Shewen PE, Mellors A. 1994. The detection of the sialoglycoprotease gen and assay for sialoglycoprotease activity among isolates of *Pasteurella haemolytica* A1 strains, serotypes A13, A14, T15 y A16. FEMS Microbiol Let. 121:199-206.

- 89.- Lee CW, Shewen PE, Cladman WM, Conlon JAR, Mellors A, Lo RY. 1994. Sialoglycoprotease of *Pasteurella haemolytica* A1: Detection of anti-sialoglycoprotease antibodies in sera of calves. *Can. J. Vet. Res.* 58:93-98
- 90.- Leite F, O'Brien S, Sylte MJ, O'Brien S, Page T, Atapattu D, Czuprynski CJ. 2002. Inflammatory cytokines enhance the interaction of *Mannheimia haemolytica* leucotoxin with bovine peripheral blood neutrophils *in vitro*. *Infect. Immun.* 70:4336-4343.
- 91.- Leite F, Sylte MJ, O'Brien S, Schultz R, Peek S, van Reeth K, Czuprynski CJ. 2002. Effect of experimental infection of cattle with bovine herpesvirus (BHV-1) on the *ex vivo* interaction of bovine leucocytes with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* leucotoxin. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 84:97-110.
- 92.- Levander O.A, Ager J.r. A.I, Beck M.A. 1995. Vitamin E and selenium: contrasting and interacting nutritional determinants of host resistance to parasitic and viral infections. *Proc Nutr* 124:810-816.
- 93.- London, J.R. 1991. Booker tropical soil manual. Longman Scientific and Technical Booker p. 155-172.
- 94.- Lopez A, Maxie MG, Savan M, Ruhnke HL, Thomson RG, Barnum DA, Geissinger HD. 1982. The pulmonary clearance of *Pasteurella haemolytica* in calves infected with Bovine Virus Diarrhea or *Mycoplasma bovis*. *Can. J. Comp. Med.* 46:302.

95.- Lunec, J., D. Blake. 1990. Citado por Cohen, R.D.; B. Lewis; K.G.M.M. Alberti; A.M. Denman. 1992. The metabolic and molecular basis of acquired diseases. Ed. Baillière Tindall. Londres.

96.- Maas, J. 1990. Selenium deficiency in cattle. En: Proceeding XVI World Buiatrics Congress, Salvador, Brasil, pp. 3-13.

97.- Maas, J. and L.D. Koller. 1985. Selenium deficiency in Beef Cattle and Sheep; Diagnosis, Treatment and prevention. Symposium at the west St. Vet. Conf, Vegas, NV.

98.- MacPherson, A. and J.S. Chalmers. 1984. Methods of selenium supplementation of ruminants. Vet. Rec. 115. 544-546.

99.- Maddox, J.F., C.C. Reddy, R.J. Eberhardt, R.W. Scholz. 1991. Dietary selenium effects on milk eicosanoid concentration in dairy cows during coliform mastitis, Prostaglandins 42: 369-378

100.- Maheswaran SK, Weiss DJ, Kannan MS, Townsend EL, Reddy KR, Whiteley LO, Srikumaran S. 1992. Effects of *Pasteurella haemolytica* A1 leucotoxin on bovine neutrophils: degranulation of generation of oxyge-derived free radicals. Vet. Immunol. Immunopathol. 33: 51-68.

101.- Malazdrewich C, Ames TR, Abrahamsen MS, Maheswaran SK. 2001. Pulmonary expression of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8 in the acute phase of bovine pneumonic pasterellosis. Vet. Pathol. 38:297-310.

102.- Malbe, M., M. Klaassen, W. Fang, V. Myllys, M. Vikerpuur, K. Nyholm, S. Sankari, K. Suoranta, M. Sandholm. 1995. Comparisons of selenite and selenium yeast feed supplements on Se-incorporation, mastitis and leukocyte function in Se-deficient dairy cows, *J. Vet. Med., A.* 42: 111-121.

103.- Mark H. Beers, M.D., y Robert Berkow, M.D. 2000. *El Manual Merck de Diagnóstico y Tratamiento. Décima edición.*

104.- Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Institute of Plant Nutrition University. Hohenheim Federal Republic of Germany. Academic Press. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers. USA. P 364-367.

105.- Marsh, J.A., G.F. Combs, M.E. Whitacre, R.R. Dietert. 1986. Effect of selenium and vitamin E dietary deficiencies on chick lymphoid organ development, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 182: 425-436.

106.- Martin SW, Meek AH, Davis DG, Thomson RG, Johnson JA, Lopez A, Stephe L, Curtis RA, Prescott A. 1980. Factors associated with mortality in feedlot cattle. The Bruce county beef project. *Can J. Comp. Med.* 44: 1.

107.- McDowell L. R. 2002. Minerals in animal and human nutrition, 1 ed; San Diego, California, Academic Press Inc. 524 p.

108.- Mcevoy, J.D., J.M. Pollock. 1994. A preliminary study of peripheral lymphocyte function in cows with cronic endometritis, *Vet. Rec.* 134: 237-238.

109.- Miles, C. O. , S. C. Munday, P. T. Holland, B. L. Smith and P. P. Embling. 1991. Monitoring selenium status what test should we use? *N. Z. Vet. J.* 39: 152-154.

110. Miller, G.Y., P.C. Bartlett, R.J. Erskine, K.L. Smith. 1995. Factors affecting serum selenium and vitamin E concentrations in dairy cows, *JAVMA*. 206: 1369-1373.

111.- Miller, J. K., E. Brzezinska-Slebodzinska, F.C. Madsen. 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J. Daairy Sci.* 76: 2812-2823.

112.- Morales, A. J. F. 2007. Muerte subita asociada a Pasteurelosis Neumonica en bovinos. *Cenid-Microbiologia*. INIFAP.

113.- Mortvedt, J. J., Giordana, P.M., Lindsay, W. L. 1983. Micronutrientes en agricultura. AGT. Editor, México.

114.- Ndiweni, N. T.R. Field, M.R. Williams, J.M. Booth, J.M. Finch. 1991. Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and selenium in dairy herds in England, *Vet. Rec.* 129: 86-88.

115.- Ndiweni, N., J.M. Finch. 1991. The relationship between the vitamin E/selenium status and the incidence of mastitis in dairy herds near Harare, *Zimbabwe Vet. J.* 22: 101-109.

116.- Ndiweni, N., J.M. Finch. 1995. Effects of *in vitro* supplementation of bovine mammary gland macrophages and peripheral blood lymphocytes with alpha-tocopherol and sodium selenite: implications for udder defenses, *Vet. Immunol. Immunopath.* 47: 111-121.

117.- Nemeč, M., M. Hidiroglou, K. Nielsen, J. Proulx. 1990. Effect of vitamin E and selenium supplementation on some immune parameters following vaccination against brucellosis in cattle, *J. Anim. Sci.* 68: 4303-4309.

118.- Niyo, Y., Glock, R.D., Ramsey, F.K., Ewan, R.C. 1977. Effects of intramuscular injections of Selenium and vitamin E an Selenium vitamin E deficiency in young pigs. *Am. J. Vet. Res.* 38: 1479-1484.

119.- NRC. 1980. Mineral Tolerance of Domestic Animals. National Academy Press, Washington, D.C. 585 p.

120.- NRC. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. 6th rev. ed. National Academies Press, Washington, D. C.

121.- O Dea, J. D. and N. S. Agar. 1990. Glutathione and 2, 3-diphosphoglycerate in the blood of hypoxic ruminants. *Res. Vet. Sci* 29: 153-156.

122.- Oh, S.H., H.E. Ganther, W.G. Hoekstra. 1974. Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes, *Biochemistry* 13: 1825-1829.

123.- Osorio A. M. M. 1995. Factores del bioclima que afecta el comportamiento del bovino en pastoreo en el trópico. En: Memorias del Seminario Establecimiento y manejo de praderas. Biblioteca M. Bartlett B. U.J.A.T. Villahermosa, Tab. 6-9 Septiembre. pp. 24-35.

124.- Pastor Meseguer, J. 1994. Mamitis, *Buiat. Esp.* 4: 6-25.

125.- Paulsen DB, Confer AW, Clinkenbeard KD, Moiser, DA. 1990. *Pasteurella haemolytica* lipopolysaccharide-induced arachidonic acid release from and neutrophil adherence to bovine pulmonary artery endothelial cell. *Am. J. Vet. Res.* 51: 1635-1639.

126.- Pehrson B., S. Johnsson. 1993. Selenium and glutathione peroxidase in blood and tissues and growth and feed efficiency in young bulls at different dietary selenium levels. *Zbl. Vet. Med. A.* 332: 492-501.

127.- Porter, J.R. and D.W. Lawlor, 1991. Plant Growth: interactions with nutrition and environment . Cambridge University Press. P. 124-155.

128.- Radi ZA, Brodgen KA, Dixon RA, Gallup JM, Ackermann MR. 2002. A selectin inhibitor decreases neutrophil interaction during acute *Mannheimia haemolytica* pneumonia. *Vet. Pathol.* 39:697-705.

129.- Ramírez Bribiesca, J. E. 1995. La carencia de selenio, su diagnóstico y suplementación en un sistema de producción caprina del sureste del estado de Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias, FESC, UNAM.

130.- Ramón, J. R. 1993. Radicales libres y antioxidants en clinica humana. Ed. IDEPSA Internacional de ediciones y Publicaciones, S.A.), Madrid, España.

131.- Rang HP, Dale. 1999. Pharmacology. 4ª edic.

132.- Reffett, J.K., J.W. Spears and T.T. Brown. 1988ab. Effect of Dietary selenium and vitamin E on the primary and secondary immune response in Lambs challenged with Parainfluenza 3 virus. J. Anim. Sci. 66: 1520-1528.

133.- Rosemary, H. N. 1990. Selenium. Heavy Metals in Soils. Ed. By Allaway. Blackie, Glasgow and London. P 237-260.

134.- Ross, A.D., C.G. Gee, A.R.B. Jackson, E. Hall and P.L. Greentree. 1989. Nutritional Myopathy in goats. Aust. Vet. J. 66: 361-366.

135.- Salisbury, F. B., C. W. Ross. 1985. Plant Physiology. Third edition. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California. Pp 99-102.

136.- Sandholm, M. 1980. Biological and clinical aspects of selenium. En: IV International Conference on Production Disease in Farm Animals. Munchen, Germany, pp. 247-253.

137.- Sanson, R.L. 1990. Selenium supplementation of sheep by topdressing pastures under high rainfall conditions. N. Z. Vet. J. 38, 1-3.

138.- Santiago, C.M. 1990. Usos e influencia del selenio-alfatocoferol. En: Proceeding XVI World Buiatrics Congress. Salvador, Brasil, pp. 15-19.

139.- Sarkar, S., K.C. Das., S.P. Chowdhury, M.K. Bhowmik and B.N. Mukherjee. 1992. Effect of certain micromineral status in the soils and forages of a lluvian tropics on the incidence of nutritional anemia in grazing sheep. *Indian J. Anim. Sc.* 62: 665-669.

140.- Shamberger, J. R. 1981. *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press. New York And London. pp. 787.

141.- Shewen PE, Wilkie BN. 1982. Cytotoxin of *Pasteurella haemolytica* acting on bovine leukocytes. *Infect. Immun.* 35: 91.

142.- Shewen PE, Wilkie BN. 1985. Evidence for the *Pasteurella haemolytica* cytotoxin as a product of growing bacteria. *Am. J. Vet. Res.* 46: 1212.

143.- Shkolnik, M. Ya. 1984. Trace elements in plants. *Developments in crop science* (6) Ed. Elsevier Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo. P. 270-275.

144.- Speard, J.W., R.W. Harvery and E.C. Segerson. 1986. Effect of marginal selenium deficiency and winter protein supplementation on growth, reproduction and selenium status of beef cattle *J. Anim. Sci.* 63: 586.594.

145.- Spross, S.A.K. 1982. Evaluación del contenido mineral en suelo, planta y animal, de cinco ranchos del Estado de México y Estado de Hidalgo. Tesis de Maestría. FESC. UNAM.

146.- Stable, J.R., J. W. Spears, T. T. Brown, y J. Brakc. 1989. Selenium effects on glutathione peroxidase and the immune response of stressed calves challenged with *Pasteurella haemolytica*. J. Anim. Sci. 67: 557-564.

147.- Stowe, H.D. and T.M. Herdt. 1992. Clinical Assesment of selenium status of livestock. J. Anim. Sci. 70: 3928-3933.

148.- Strouth, M.K.D. 1985. Niveles de Selenio en alfalfa y sangre de vacas Holstein y correlación entre niveles de Selenio y glutatión peroxidada. Tesis de Maestría FMVZ. UNAM.

149.- Sunde R. A. 1990. Molecular biology of selenoproteins. Ann. Rev. Nutr.,10, 451-455.

150.- Sutherland AD, Donachie W. 1986. Cytotoxic effect of serotypes of *Pasteurella haemolytica* on sheep bronchoalveolar macrophages. Vet. Microbiol. 11: 331.

151.- Sutherland AD, Redmond J. 1986. Cytotoxin from ovine strain of *Pasteurella haemolytica*: Characterization studies and partial purification. Vet. Microbiol. 11: 33

152.- Suzuki K. T., Itoh M. 1997: Metabolism of selenite labeled with enriched stable isotope in the blood stream. J. Chromatogr. B 692, 15-22.

153.- Suzuki K. T., Isóbara Y., Itoh M., Omichi M 1998. Selective uptake of selenite by red blood cells. *Analyst*, 123(1), 63-67.

154.- Swecker, W.S., Thatcher, C.D., Eversole, D.E., Blodgett, J., Schuring, G.G. 1995. Effect of selenium supplementation on colostral IgG. Concentration in cows grazing selenium deficient pastures and on post-suckles serum IgG concentration on their calves. *Am. J. Vet. Res.* 56, 450–453.

155.- Tasker, J:B. 1992. Current options in selenium supplementation. Proceeding of the 22nd seminar sheep and beef cattle society New Zealand Veterinary Association incorporating the NZVA conference. Publication No. 154: 53-59.

156.- Thomson et al., 1973. Thomson C. D., Stewart R. D. H. (1973): Metabolic studies of ⁷⁵Se selenomethionine and ⁷⁵Se selenite in the rat. *Br. J. Nutr.*, 30(1):139-47.

157.- Tinggi U. 2003. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicol. Lett.*, 137, 103-110.

158.- Tórtora, P. J. 1979. Lesiones en la tiroides de los ruminantes afectados de distrofia muscular nutricional *Boletín Rumiantes FES-C, UNAM.* P. 223-230.

159.- Udala, J., A. Ramisz, W. Drewnowski, B. Lasota, W. Radoch. 1995. Semen quality of bulls treated with selenium and vitamin E. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Szczecinie Zootechnika* 32: 57-63.

160.- Ullrey, D.E. , P.S. Brady, P.H. Whetter, K. Kupo and W.T. Magee, 1977. Selenium supplementation of diets for sheep and beef cattle. *J. Anim. Sci.* 45: 559.

161.- Ullrey, D.E. 1987. Biochemical and physiological indicators of Selenium status in animal. *J. Anim. Sci.* 65: 1712-1724.

162.- Ullrey, D. E. 1992. Basis for regulation of selenium supplements in Animal diets. *J. Anim. Sci.* 70: 3922-3927.

163.- Underwood, E.J. 1981. The mineral nutrition of livestock, second Edition. Commonwealth agricultura Bureaux, London. U.K.

164.- Van Vleet, J.F., Ruth, G.R., and Ferrans, V.J. 1976. Ultrastructural alterations in skeletal muscle of pigs with Selenium-vitamin E deficiency. *Am. J. Vet. Res.* 37: 911-920.

165.- Vera, A. 1986. Alimentación y pastoreo del ganado ovino. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba.

166.- Watkinson, J.H. 1992. Application of selenium to pasture. Trace elements in ruminants. Proceeding of the 22nd seminar sheep and beef cattle society New Zeland Veterinary Association incorporating the NZVA conference. Publication. 154: 125-131.

167.- Wesley G. Clark. Vitamina B12. 1993. 610-612. Farmacología Médica, Editorial Mosby. Madrid, España. 13 ed.

168.- Whanger, P.D. 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. Journal of the American College of Nutrition, Vol. 21, No. 3: 223 – 232.

169.- Wheatley, L.E., and Beck, N.F.G. 1988. The influence of season and husbandry on the -Selenium status of sheep in a deficient area. Br. Vet. J. 144: 246-251.

170.- White, C.L., Caldwell, T.K., Hoekstra, W.G., and Pope, A.L. 1989. Effects of Copper and Molybdenum supplements on the Copper and Selenium status of pregnant ewes and lambs. J. Anim. Sci. 67: 803-809.

171.- Wild, A. 1988. Russell's Soil Condition and Plant Growth. Eleventh edition. Longman Scientific Technical. pp 453.

172.- Zachara, B.A., A.K. Borowska, R. Zamorski, M. Kaptur. 1989. Blood selenium status, glutathione peroxidase, and creatine kinase activities in ewes during pregnancy and lactation and in lambs. En: The 6th International Trace Element Symposium, Leipzig, Alemania, pp.1005-1012.