

Concentraciones de inmunoglobulinas séricas y calostrales de vacas selenio-deficientes y en el suero sanguíneo de sus terneros

Serum and colostrum immunoglobulin concentrations from selenium deficient cows and in the blood of their calves

V. LEYAN¹*, M.V., M.Sc; F. WITWERT², M.V., M.Sc; P.A. CONTRERAS², M.V., M.Phil; J. KRUIZE³, M.V., Ph.D.

¹ Instituto de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

² Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

³ Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

SUMMARY

The colostrum immunoglobulin concentrations of selenium-deficient cows and in the blood of their calves were studied in twelve Friesian cows of 4-9 year old. The animals were 7 months pregnant at the beginning of the experience and it were fed with a selenium deficient diet consisted in hay and a commercial concentrate (diet 0.04 ppm dry matter) and kept under permanent housing condition with water *ad libitum*. The cows were allocated into two homogeneous groups of six animals each, selenium supplemented (Se-S) and selenium deficient (Se-D) and the animals of the Se-S group were supplemented with barium selenate (1 mg/Se/kg s. c.) \pm 45 days before calving, whilst the Se-D group received nothing.

The balance of selenium was assessed by GSH-Px activity in blood and the concentration of immunoglobulin in serum and colostrums by immunodiffusion radial method.

Selenium deficiency did not affect serum and colostrum total IgG, IgM and IgA concentration in cows ($P > 0.05$). However, the IgG1 colostrum concentrations decreased in selenium supplemented cows ($P < 0.05$). On the other hand, the nutritional deficiency of selenium did not affect total IgG, IgG1, IgM and IgA in calves serum concentrations until 6 days of age.

Palabras clave: selenio, calostro, terneros, inmunoglobulinas.

Key words: selenium, colostrum, calves, immunoglobulins

INTRODUCCION

El selenio (Se) juega un rol importante en la integridad funcional del tracto reproductivo, la función tiroidea y el normal funcionamiento del sistema inmunológico del ganado (López Alonso y col., 1997). La principal fuente de Se para los bovinos a pastoreo proviene de la alimentación con praderas naturales y forrajes conservados, que en el Sur de Chile, en un alto porcentaje, son defi-

cientes en este microelemento (Ceballos y col., 1998). Para compensar la deficiencia nutricional de Se se utiliza la suplementación con este mineral, permitiendo optimizar con ello las variables productivas, de fertilidad y otorgar mayor protección a los animales contra las enfermedades infecciosas (Wittwer y col., 2002). En este sentido, en los últimos años hemos estudiado el efecto de la deficiencia nutricional de Se en vacas lecheras estabuladas y en vaquillas en pastoreo, demostrando sus efectos sobre la función tiroidea (Contreras y col., 2002; Matamoros y col., 2003), la glándula mamaria (Kruze y col., 2000) y el sistema inmune (Pesutic y col., 2001). En esta última investigación se observó que la

Accepted: 06.07.2004.

Financiado por proyectos: DID-UACH 2002-60 y FONDECYT 119-9993.

Correspondencia: e-mail: vleyan@uach.cl

suplementación con Se en vaquillas a pastoreo no favorece la respuesta inmune humoral ni celular.

Con relación al efecto del Se sobre la concentración de inmunoglobulinas en el calostro y la absorción de ellas en el ternero recién nacido, los estudios realizados son escasos y presentan resultados variables. Por una parte, se ha informado que la administración de Se solo o con vitamina E en vacas de carne, a mitad de preñez y pastoreando en praderas selenio-deficientes, aumenta las concentraciones de IgG en el calostro y en el suero de los terneros (Swecker y col., 1995). Sin embargo, otros estudios señalan que el Se y la vitamina E favorecen la producción de calostro y leche pero no benefician la inmunidad pasiva (Lacetera y col., 1996).

La presente investigación tiene por objetivo estudiar el efecto de la deficiencia nutricional de selenio en vacas gestantes sobre la concentración de inmunoglobulinas IgG total, IgG1, IgM e IgA en el calostro y en el suero sanguíneo de los terneros en sus primeras días de vida.

MATERIAL Y METODOS

Animales. Se utilizaron 12 vacas Frisonas de 4 a 9 años de edad (promedio de 5 años) con 7-8 meses de gestación, provenientes de un predio lechero libre de tuberculosis, leucosis y brucelosis. Todos los animales fueron alimentados con una dieta deficiente en Se (Se < 0.05 ppm) consistente en 9.5 kg de heno de pradera natural (Se=0.02 ppm de materia seca, MS), más 1 kg de concentrado comercial (Cosetan, Biomaster IANSA-Chile) (Se=0.12 ppm de MS) y fueron mantenidos en estabulación permanente durante todo el período experimental en cubículos individuales sobre piso de hormigón y cama de paja, alimentados en comederos individuales y agua a voluntad. Las vacas fueron distribuidas en dos grupos de seis animales, homogéneos en términos de edad (6.5 años), número de partos (3.5 partos), peso corporal (594 kg), tiempo de gestación (230 días) y producción de leche en la última lactación (6.406 litros). Uno de los grupos se suplementó con selenio (Se-S) y el otro grupo no recibió suplementación (Se-D).

De las 12 vacas, una de ellas perdió el ternero debido a un parto distócico. El examen *post mortem* del ternero descartó la presencia de enfermedades infecciosas. De los 11 terneros nacidos vivos, seis correspondieron a vacas Se-S y cinco al grupo Se-D. Las vacas permanecieron tres días con sus terneros y posteriormente se les aplicó ordeño mecánico dos veces al día. En el transcurso del período de estudio se registró la condición corporal de todos los animales utilizando la escala 1 a 5 según Edmonson y col. (1989).

Suplementación con selenio y toma de muestras. Las vacas del grupo Se-S fueron suplementadas por vía subcutánea con 1 mg de Se/kg usando selenato de bario (Deposel®, Young Animal Health Ltd., N. Zealand) en dosis única de 1 ml/50 kg/pv, administrado 60 días antes de la fecha probable de los partos. De cada vaca se tomaron simultáneamente dos muestras de sangre (con y sin heparina), por venopunción coccígea previo a la suplementación (día 0) y luego cada 15 días durante 90 días. Inmediatamente después del parto se recolectaron muestras de calostro de todas las vacas de ambos grupos y muestras de suero de los terneros en la primera hora postnacimiento y cada dos días hasta el sexto día de vida. Los sueros de las vacas, terneros y el calostro fueron mantenidos a -20° C hasta su posterior análisis.

Evaluación de la actividad sanguínea de glutatión peroxidasa (GSH-Px). El balance nutricional de Se se evaluó mediante la actividad sanguínea de GSH-Px realizado en un hemolizado de las muestras de sangre con heparina de ambos grupos de vacas, empleando reactivos comerciales (RANSEL®. Laboratorios Randox, Crumlin, UK), basados en una técnica cinética compuesta NADPH-dependiente, según la modificación del método descrito por Paglia y Valentine en 1967 (Ceballos y col., 1999). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Hitachi 4020 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). La actividad de GSH-Px fue expresada en UI/g Hb e interpretada según Ceballos y Wittwer (1996), quienes señalan que valores menores a 60 UI/g Hb son considerados deficien-

tes, entre 61 y 100 UI/g Hb son considerados bajo marginales, 101 a 130 son marginales y valores superiores a 130 UI/g Hb son considerados apropiados.

Determinación de la concentración de inmunoglobulinas en el suero y calostro. La determinación de la concentración de inmunoglobulinas IgG total, IgG1, IgM e IgA en suero y calostro de las vacas y suero de los terneros se realizó mediante un kit comercial de inmunodifusión radial (BINDARID®. The Binding Site, UK). Previo a la determinación se procedió a la separación de la grasa del calostro mediante ultracentrifugación a 41.366 g por 1 hora, en una centrifuga refrigerada Sorvall 28S.

Análisis estadístico. Establecida la normalidad de la distribución de los datos, mediante la prueba de Kolmogorov y Smirnov, se calcularon los promedios y desviación estándar para cada grupo y día de muestreo. La significancia de las diferencias dentro del grupo se evaluó mediante análisis de varianza y cuando éstas fueron significativas se identificaron con la prueba de comparación múltiple de Tukey. Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante la prueba “t” de Student (Zar, 1996). Los análisis se realizaron con el programa Graph-Pad-Prism (versión 3), usándose un valor de significancia de $P < 0.05$.

RESULTADOS

La condición corporal de las vacas de ambos grupos al comienzo del experimento fue de 3.3, disminuyendo durante el período de estudio hasta 2.3, después del parto. No se presentaron diferencias entre grupos ($P > 0.05$)

En el grupo Se-S se observó un aumento ($P < 0.05$) de la actividad GSH-Px a partir del día 30 postsuplementación, logrando valores considerados adecuados a los 45 días, efecto que se mantuvo durante el período de estudio (figura 1); sin embargo, los animales del grupo Se-D mantuvieron valores de actividad enzimática considerados bajos (< 100 U/g Hb), situación observada después de 30 días de consumo

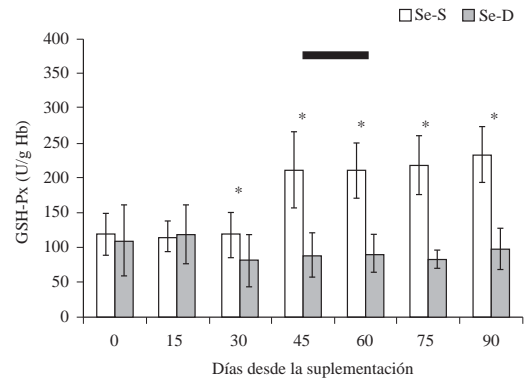


FIGURA 1. Actividad sanguínea de GSH-Px ($x \pm DE$) en vacas selenio-deficientes (Se-D) y selenio-suplementadas (Se-S) con selenato de bario (día 0). Ambos grupos mantenidos con ración selenio-deficiente

■ Período de partos entre 45 y 60 días postsuplementación.

* $P < 0.05$ entre grupos.

Blood GSH-Px activity (mean \pm SD) in cows fed a selenium deficient diet (Se-D) and cows supplemented (Se-S) with barium selenate on day 0.

de la ración selenio-deficiente, y se mantuvieron en esa condición durante el transcurso del estudio, el que incluyó el período de los partos ocurridos entre los 45 a 60 días postsuplementación.

Durante el parto, en ambos grupos de animales se observó una disminución ($P < 0.05$) de la concentración sérica de IgG total aproximadamente dos semanas antes del parto con respecto a la sexta semana antes del parto (cuadro 1). La concentración de IgG total, IgM e IgA en suero y calostro no mostró diferencias ($P > 0.05$) entre los animales Se-S y Se-D. Sin embargo, la concentración de IgG1 fue mayor ($P < 0.05$) en el calostro de las vacas no suplementadas con Se (cuadro 2).

Las concentraciones de inmunoglobulinas séricas de los terneros de las vacas Se-S y Se-D aumentaron significativamente ($P < 0.05$) entre la primera y las 48 horas de vida. Sin embargo, las concentraciones de inmunoglobulinas IgG total, IgG1, IgM e IgA desde el nacimiento hasta el sexto día de vida en los terneros de ambos grupos fueron similares ($P < 0.05$) (cuadros 3 y 4).

CUADRO 1. Concentraciones séricas de IgG, IgM e IgA ($X \pm DE$ en g/l), 6 y 2 semanas antes del parto, en vacas selenio-deficientes (Se-D) y selenio-suplementadas (Se-S).

Serum IgG, IgM and IgA concentrations (mean \pm SD in g/l) on weeks 6 and 2 before partum in selenium deficient (Se-D) and selenium supplemented (Se-S) cows.

Semana	IgG total		IgM		IgA	
	6	2	6	2	6	2
Grupo						
Se-S	51.2 \pm 5.4 ^a	27.2 \pm 9.0 ^b	3.09 \pm 0.9 ^a	2.94 \pm 0.79 ^a	0.19 \pm 0.12 ^a	0.17 \pm 0.09 ^a
Se-D	43.7 \pm 7.0 ^a	32.3 \pm 7.0 ^b	3.41 \pm 1.6 ^a	3.34 \pm 1.52 ^a	0.16 \pm 0.08 ^a	0.12 \pm 0.05 ^a

^a Letras distintas en las filas señalan diferencias significativas entre el período ($P < 0.05$).

CUADRO 2. Concentraciones de IgG, IgG1, IgM e IgA ($X \pm DE$ en g/l) en el calostro de vacas selenio-deficientes (Se-D) y selenio-suplementadas (Se-S).

IgG, IgG1, IgM e IgA colostrum concentrations (mean \pm SD in g/l) in selenium deficient (Se-D) and selenium supplemented (Se-S) cows.

Grupo	IgG Total	IgG1	IgM	IgA
Se-S	124.6 \pm 35.5	84.4 \pm 12.3 ^a	4.97 \pm 0.97	5.81 \pm 1.68
Se-D	123.2 \pm 43.1	103.0 \pm 12.5 ^b	6.05 \pm 1.72	4.58 \pm 1.57

^a Letras distintas en las columnas señalan diferencias significativas entre grupos ($P < 0.05$).

CUADRO 3. Concentraciones séricas ($X \pm DE$ en g/l) de IgG e IgG1 el día del nacimiento y a los 2, 4 y 6 días de edad en terneros nacidos de las vacas selenio-deficientes (Se-D) y selenio-suplementados (Se-S).

IgG and IgG1 serum concentrations (mean \pm SD in g/l) at the day of birth, 2, 4 and 6 days of age in calves of selenium deficient (Se-D) and selenium supplemented (Se-S) cows.

Edad (días)	IgG Total				IgG1			
	0	2	4	6	0	2	4	6
Grupo								
Se-S	1.86 \pm 2.02 ^a	28.6 \pm 12.6 ^b	29.9 \pm 12.9 ^b	28.6 \pm 12.4 ^b	1.63 \pm 2.35 ^a	17.7 \pm 6.54 ^b	17.8 \pm 6.54 ^b	17.5 \pm 7.11 ^b
Se-D	1.78 \pm 0.54 ^a	26.6 \pm 20.0 ^b	31.7 \pm 18.2 ^b	34.5 \pm 16.9 ^b	0.87 \pm 0.36 ^a	16.1 \pm 10.6 ^b	17.6 \pm 9.02 ^b	17.0 \pm 9.32 ^b

^a Letras distintas en la fila de cada grupo señalan diferencias significativas entre días postnacimiento ($P < 0.05$). Edad 0: Concentración determinada en la primera hora desde el nacimiento.

CUADRO 4. Concentraciones séricas ($X \pm SD$ en mg/dl) de IgM e IgA el día del nacimiento y a los 2, 4 y 6 días de edad en terneros nacidos de las vacas selenio-deficientes (Se-D) y selenio-suplementados (Se-S).

IgM and IgA serum concentrations (mean \pm SD in mg/dl) at the day of birth, 2, 4 and 6 days of age in calves of selenium deficient (Se-D) and selenium supplemented (Se-S) cows.

Edad (días)	IgM				IgA			
	0	2	4	6	0	2	4	6
Grupo								
Se-S	20 \pm 16 ^a	175 \pm 74 ^b	144 \pm 62 ^b	103 \pm 34 ^b	7 \pm 0 ^a	125 \pm 58 ^b	87 \pm 43 ^b	63 \pm 36 ^b
Se-D	37 \pm 3 ^a	135 \pm 109 ^b	163 \pm 75 ^b	142 \pm 63 ^b	7 \pm 0 ^a	78 \pm 40 ^b	60 \pm 20 ^b	48 \pm 12 ^b

^a Letras distintas en la fila de cada grupo señalan diferencias significativas entre días postnacimiento ($P < 0.05$). Edad 0: Concentración determinada en la primera hora desde el nacimiento.

DISCUSION

Los requerimientos de Se para bovinos corresponden a 0.1 ppm/Se (base materia seca) y de 0.3 ppm/Se/MS en el caso de vacas en lactancia (NRC, 2001). La concentración mínima que debe tener la dieta de bovinos es de 0.05 ppm/Se/MS, ya que dietas con concentraciones menores a esta cifra se asocian con alteraciones en la salud y producción del ganado (Underwood and Suttle, 1999). La dieta utilizada en este experimento contenía 0.04 ppm/Se/MS, lo que permitió predisponer a la presentación de problemas asociados a la deficiencia de Se en los animales no suplementados. No obstante, no se observaron alteraciones atribuibles a esta deficiencia durante el período de partos y el puerperio.

La actividad de la enzima GSH-Px se considera un buen indicador del estatus de selenio en rumiantes (Stowe y Herdt, 1992) y el selenato de bario una fuente adecuada de aporte de selenio. Además, este producto tiene la ventaja que mantiene los niveles de Se durante varios meses debido a su lenta liberación desde el sitio de inyección (Lee y col., 1999). En este estudio, la suplementación de las vacas con selenato de bario aumentó significativamente la concentración de GSH-Px a partir del día 30 postsuplementación, alcanzando niveles superiores a 200 UI/g/Hb durante el período de los partos, apropiados

para vacas en lactancia (Ceballos y Wittwer, 1996). Contrario a ello, la actividad de GSH-Px de las vacas del grupo Se-D se mantuvo dentro de lo considerado bajo marginal o deficientes (< 100 U/g Hb), corroborando con ello la deficiencia de Se en la dieta. Este hecho permitió establecer las diferencias y similitudes entre grupos.

La disminución de la concentración de IgG total en las vacas de ambos grupos durante el fin de la gestación coincide con el transporte activo de inmunoglobulina IgG desde la circulación sanguínea a la glándula mamaria (Larson y col., 1980). Llama la atención que, aun cuando la concentración de IgG total en calostro de las vacas no presentó diferencias entre los grupos suplementados y no suplementados, los resultados muestran que la suplementación con Se afecta negativamente la concentración de IgG1 en el calostro. Si se considera que toda la IgG, la mayor parte de la IgM y cerca del 50% de la IgA del calostro bovino provienen del plasma (Tizar, 1998), estos resultados sugieren que el Se favorece el aumento de la concentración de IgG2 en la glándula mamaria. Esto podría explicar por qué no se observaron diferencias significativas en la concentración total de IgG entre los grupos experimentales. El aumento de IgG2 inducido por el Se sería de gran importancia, ya que los neutrófilos de bovino presentan receptores sola-

mente para IgG2 (Howard y col., 1980), lo cual favorece la defensa contra las infecciones bacterianas. Este aspecto requiere mayor estudio.

La ausencia de un efecto favorable de la suplementación con Se sobre la inmunidad pasiva de los terneros del grupo Se-S concuerda con estudios previos realizados por Lacetera y col. (1996), quienes observaron que la suplementación de Se asociado a la vitamina E favorecen la producción de calostro y leche de las vacas, pero no benefician la inmunidad pasiva de las crías. También se ha señalado que en vacas de aptitud cárnica, a mitad de preñez y mantenidas en praderas selenio-deficientes, la administración parenteral de Se asociado a vitamina E no afecta el contenido de IgG en calostro (Swecker y col., 1995); sin embargo, estos mismos autores señalan que el uso de Se solo o asociado con vitamina E, pero administrado con una mezcla mineral, aumenta las concentraciones de IgG en el calostro de las vacas y en el plasma sanguíneo de sus crías.

En nuestro estudio no se observaron diferencias para IgM e IgA entre grupos. Sin embargo, otras investigaciones realizadas *in vitro* han demostrado un efecto positivo del Se sobre plasmocitos de la glándula mamaria encargados de la producción local de inmunoglobulinas (Wuryastuti y col., 1993; Hogan y col., 1993).

Las inmunoglobulinas detectadas en los terneros corresponden a las absorbidas desde el calostro, ya que la IgM, IgA, IgG2 e IgG1 producidas por el neonato aparecen sólo a los 4, 4, 8 y 32 días de vida, respectivamente (Husband y Lascelles, 1975). La no observación de diferencias en las concentraciones séricas de inmunoglobulinas entre los terneros de ambos grupos de vacas en los primeros seis días de vida son consecuentes con la ausencia de diferencias entre las concentraciones de inmunoglobulinas en el suero y calostro de los grupos Se-S y Se-D. Esta observación sugiere que el balance positivo de Se en las vacas suplementadas no jugaría un rol importante en la absorción de inmunoglobulinas por la mucosa intestinal del ternero.

La ausencia de diferencias significativas entre ambos grupos experimentales, en este estudio, así como, los resultados de estudios previos

sobre inmunidad y Se revisados por Finch y Turner (1996), demuestran que la respuesta de anticuerpos tanto en animales selenio-deficientes como en suplementados con selenio es variable y en algunos casos hasta contradictoria. Esto sugiere que la modulación de la respuesta inmune por este microelemento estaría influenciada por diversos factores, tales como la vía de administración (Swecker y col., 1995) y las interacciones entre nutrientes, como se ha señalado para vitamina E y Se (Kubena y McMurray, 1996). Estos aspectos habitualmente no son considerados cuando se indica la suplementación con Se. En este sentido, es necesario realizar estudios tendientes a establecer protocolos de utilización de Se de acuerdo a objetivos bien definidos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir, en primer lugar, que la deficiencia nutricional de Se en vacas gestantes no afecta la concentración de inmunoglobulinas totales en calostro ni en el plasma sanguíneo de las crías; en segundo lugar, el uso de selenato de bario en vacas gestantes selenio-deficientes restablece el balance nutricional de Se; sin embargo, disminuye la concentración de IgG1 sin afectar los niveles de IgG total en el calostro. Este hecho implicaría un aumento de IgG2, lo cual tiene gran importancia, ya que los neutrófilos de rumiantes sólo poseen receptores para IgG2. Esta condición favorece la función de los neutrófilos y tiene especial relevancia en el control de las infecciones bacterianas.

RESUMEN

Se estudió el efecto de una dieta selenio-deficiente en vacas gestantes sobre la concentración de inmunoglobulinas en el calostro y en el suero sanguíneo de las crías en sus primeras horas de vida. Para ello se trabajó con 12 vacas gestantes (7-8 meses) entre 4-9 años de edad, mantenidas en estabulación permanente y sometidas a una dieta deficiente en selenio (0.04 ppm de materia seca), constituida por heno y un alimento concentrado comercial selenio-deficiente. Un grupo de seis vacas fueron suplementadas con selenato de bario (1 mg Se/kg, s.c.). El balance de selenio fue medido a través de la actividad de GSH-Px eritrocítica. La medición de inmuno-

globulinas en el suero y calostro de las vacas y en el suero de los terneros se realizó por inmunodifusión radial.

Los resultados demostraron que no existen diferencias ($P < 0.05$) en la concentración de IgG, IgM e IgA entre vacas suplementadas y no suplementadas. La deficiencia de Se no afectó la concentración de IgG total, IgM e IgA en calostro; sin embargo la suplementación con selenio disminuyó ($P < 0.05$) la concentración de IgG1. Por otra parte, la deficiencia nutricional de Se en las vacas no afecta la concentración de IgG total, IgG1, IgM e IgA en el suero de terneros en sus primeros seis días de edad.

BIBLIOGRAFIA

- CEBALLOS, A., F.G. WITWERT. 1996. Metabolismo del selenio en rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 28: 5-18.
- CEBALLOS, A., F. WITWERT, P. A CONTRERAS, H. BÖHMWALD. 1998. Actividad sanguínea de glutatión peroxidasa en rebaños lecheros a pastoreo: variación según edad y época del año. *Arch. Med. Vet.* 30: 13-22.
- CEBALLOS, A., F. WITWERT, P.A. CONTRERAS, E. QUIROZ, H. BÖHMWALD. 1999. Actividad de glutatión peroxidasa en bovinos a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio. *Pesq. Agrop.* 34: 2331-2338.
- CONTRERAS, P.A., R. MATAMOROS, R. MONROY, J. KRUIZE, V. LEYAN, M. ANDAUR, H. BÖHMWALD, F. WITWERT. 2002. Effect of a selenium deficient diet on blood values of T_3 and T_4 in cows. *Comp. Clin. Path.* 11: 65-70.
- EDMONSON, A.J., I.J. LEAN, L.D. WEAVER, T. FARVER, G. WEBSTER. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68-78.
- FINCH, J.M., R. J. TURNER. 1996. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. *Res. Vet. Sci.* 60: 97-106.
- HOGAN, J.S., W.P. WEISS, K.L. SMITH. 1993. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. *J. Dairy Sci.* 76: 2795-2803.
- HOWARD, C.J., TAYLOR, G., J. BROWNLIE. 1980. Surface receptors for immunoglobulin on bovine polymorphonuclear neutrophils and macrophages. *Res. Vet. Sci.* 29: 128-130.
- HUSBAND, A.J., A.K. LASCELLES. 1975. Antibody response to neonatal immunization in calves. *Res. Vet. Sci.* 18: 201-207.
- KRUIZE, J., A. MELLA, P. A. CONTRERAS, F. WITWERT, V. LEYAN, R. MATAMOROS. 2000. Experimental *Staph. aureus* mastitis in selenium-deficient and selenium-supplemented dairy cows. XXI Congreso Mundial de Buiatría. Punta del Este- Uruguay.
- KUBENA, K.S., D.N. Mc MURRAY. 1996. Nutrition and the immune system: a review of nutrient-nutrient interactions. *J. Am. Diet. Assoc.* 96: 1156-1164.
- LACETERA, N., U. BERNABUCCI, B. RONCHI, A. NARDONE. 1996. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *Am. J. Vet. Res.* 57: 1776-1780.
- LARSON, B.L., J.L. HEARY, J.E. DEVERY. 1980. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 63: 665-671.
- LEE, J., D.G. MASTERS, C.L. WHITE, N.D. GRACE, G.J. JUDSON. 1999. Current issues in trace element nutrition of grazing livestock in Australia and New Zealand. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 1341-1364.
- LOPEZ ALONSO, M., M. MIRANDA, J. HERNANDEZ, C. CASTILLO, J. L. BENEDITO. 1997. Glutatión peroxidasa en las patologías asociadas a deficiencias de selenio en rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 29: 171-179.
- MATAMOROS, R., P. A. CONTRERAS, F. WITWERT, I.M. MAYORGA. 2003. Hipotiroidismo en rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 35: 1-11.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Ed. National Academy Press, Washington, DC.
- PESUTIC, D., V. LEYAN, G. SCHURIG, F. WITWERT, P. CONTRERAS, J. KRUIZE, R. MATAMOROS. 2001. Efectos de una dieta selenio-deficiente sobre la respuesta inmune a la vacuna RB51 en vaquillas a pastoreo. V Jornadas Chilenas de Buiatría. Puerto Varas-Chile. pp. 141-142.
- STOWE, H. D., T.H. HERDT. 1992. Clinical assessment of selenium status of livestock. *J. Anim. Sci.* 70: 3928-3933
- SWECKER, W., C. THATCHER, D. EVERSOLE, D. BLODGETT, D. SCHURIG. 1995. Effect of selenium supplementation on calostrual IgG concentration in cows grazing selenium-deficient pastures and on postsuckle serum IgG concentration in their calves. *Am. J. Vet. Res.* 56: 450-453.
- TIZAR, I. R. 1998. Inmunología Veterinaria. McGraw Hill Interamericana editores. México.

- UNDERWOOD, E.J., N F. SUTTLE. 1999 The Mineral Nutrition of Livestock. 3rd Ed. Pp. 343-373. CAB International, Wallingford, Oxford, UK.
- WITTWER, F., O. ARAYA, P.A. CONTRERAS. 2002. Strategic procedures for important herd problems of heifers. In: Kaske M., Scholz M, Höltershinken M (eds.) Recent Developments and Perspectives in Bovine Medicine. Pp. 396-409 Keynote Lectures, XXII World Buiatric Congress. Hannover, Germany.
- WURYASTUTI, H., H.D. STOWE, R.W. BULL, E.R. MILLER. 1993. Effects of vitamin E and selenium on immune response of peripheral blood, colostrum and milk leukocytes of sows. *J. Anim. Sci.* 71: 2464-2472.
- ZAR, J.H. 1996. Biostatistical Analysis. 3rd Ed. Prentice Hall. New Jersey. USA.