

Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2020; 10:1-15. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.16>
Nota curta. Recebido: 20/03/2020. Aceito: 02/07/2020. Publicado: 16/07/2020.

Resposta sorológica contra *Mannheimia haemolytica* e sua leucotoxina em coelhos suplementados com selênio

Serological response against *Mannheimia haemolytica* and its leukotoxin in rabbits supplemented with selenium

Díaz-Sánchez Víctor^{1*} , Ciriaco-Solano Lina¹ , Rodríguez-Patiño Gabriela¹ , López-Arellano Raquel¹ , Revilla-Vázquez Alma¹ , Morales-Álvarez José² 

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Ciudad de México, México. ²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Ciudad de México, México. *Autor responsable e por correspondência: Díaz-Sánchez Víctor, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México, C.P. 54714. victorm_diazs@comunidad.unam.mx, lecs19943@gmail.com, grp2284@yahoo.com.mx, rlajjd@yahoo.com.mx, revillalma@gmail.com, morales62@yahoo.com

RESUMO

A selenodeficiência tem um impacto negativo na resposta imune dos animais. O objetivo do trabalho foi avaliar a suplementação de selênio e seu efeito na resposta contra *Mannheimia haemolytica* e sua leucotoxina. 21 coelhos foram utilizados. Estes foram distribuídos em três grupos (n=7). A: foram administrados selênio mais um toxóide bacteriano; B: toxina bacteriana foi administrada. C: considerado controle. O conteúdo de selênio no sangue foi estimado por espectrofotometria de absorção atômica. A resposta aos antígenos foi avaliada através de um ELISA. Uma análise de variância e Tukey foram realizadas para determinar a significância estatística, considerando um valor de P <0,05. Na quantificação de selênio, observou-se diferença entre A em relação a B e C (P <0,05). Na avaliação de IgG contra *M. haemolytica*, houve diferença entre A em relação a B e C (P <0,05). Para IgG contra leucotoxina, não foram observadas diferenças entre A e B (P > 0,05), mas estas com relação a C (P <0,05). Em conclusão, os animais suplementados apresentaram maiores concentrações de selênio. Isso teve efeitos positivos na resposta contra *M. haemolytica*, no entanto, não foram encontradas diferenças para a resposta contra leucotoxina.

Palavras-chave: *Mannheimia haemolytica*, selênio, coelhos e imunidade.

ABSTRACT

Selenodeficiency has a negative impact on the immune response of animals. The objective of the work was to evaluate selenium supplementation and its effect on the response against *Mannheimia haemolytica* and its leukotoxin. 21 rabbits were used. These were distributed in three groups (n = 7); A: Selenium plus bacterin-toxoid was administered; B: the bacterin-toxoid was administered. C: considered control. Blood selenium content was estimated by atomic absorption spectrophotometry. The response to antigens was evaluated through an ELISA. An analysis of variance and Tukey were performed to determine statistical significance, considering a P value <0.05. In selenium quantification, a difference was observed between A with respect to B and C (P <0.05). In the evaluation of IgG against *M. haemolytica*, there was a difference between A with respect to B and C (P <0.05). For IgG against leukotoxin, no differences were observed between A and B (P > 0.05), but of these with respect to C (P <0.05). In conclusion, the supplemented animals had higher concentrations of selenium. This had positive effects on the response against *M. haemolytica*, however, no differences were found for the response against leukotoxin.

Keywords: *Mannheimia haemolytica*, selenium, rabbits, immunity.

INTRODUÇÃO

Mannheimia haemolytica é uma bactéria habitante normal do trato respiratório superior dos ruminantes, que pode causar problemas pneumônicos associados à imunossupressão, que podem levar à morte de animais (De la Rosa *et al.*, 2012). Observou-se que a deficiência de alguns minerais nos animais resulta num efeito negativo na resposta imune contra a presença de antígenos (Radwinska y Zarczynska, 2014). É por isso que há interesse no uso de suplementos que nivelam as necessidades minerais, para melhorar o status imunológico e os processos de produção dos animais (Campos, 2015).

Atualmente, são utilizadas pré-misturas ou soluções parenterais para evitar a falta de minerais como o selênio, que é um micronutriente essencial para mamíferos, necessário no processo de crescimento, produção e reprodução de animais (Mehdi y Dufrasne, 2016). Por meio das selenoproteínas, elas têm funções antioxidantes e, portanto, participam do bom funcionamento dos órgãos, como: coração, fígado, rins, pâncreas, testículos e tireóide (Ghany y Tórtora-Pérez, 2010).

Observou-se que a deficiência desse mineral afeta a capacidade de neutrófilos e macrófagos de fagocitose e destruir antígenos; além do fato de a vida dessas células estar diminuída, afetando os fenômenos da apresentação antigênica e a subsequente produção de imunoglobulinas no sangue; fator que determina maior prevalência e gravidade de doenças (Avery y Hoffmann, 2018).

A suplementação com selênio pode melhorar a resposta imune em diferentes distúrbios animais. A concentração de anticorpos aumenta em animais suplementados com selênio, contra o desafio com diferentes antígenos; comparado aos animais que não foram suplementados (Gelderman y Clapper, 2013).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar, por meio dum ELISA indireto, a suplementação parentérica com selênio e a resposta de anticorpos contra o sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica* e sua leucotoxina, utilizando coelhos como modelo biológico. A hipótese deste trabalho é que, se os coelhos forem suplementados com selênio parenteral, eles terão uma resposta sorológica maior aos antígenos do sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica* e sua leucotoxina, diferentemente dos animais que não foram suplementados.

MATERIAL E MÉTODOS

Características das unidades experimentais, distribuição em grupo e administração de tratamento.

21 coelhos, raça Nova Zelândia, com peso médio de 3,2 kg e 6 meses de idade, respectivamente, foram utilizados como modelo biológico. Os animais foram manejados de acordo com os padrões de atendimento do Instituto Nacional de Pesquisas Florestais, Agrícolas e Piscas, no Centro Nacional de Pesquisa Disciplinar em Microbiologia Animal, com base na Lei Federal de Saúde Animal (terceiro título. Capítulo I do bem-estar da animais) e no padrão oficial mexicano NOM-062-ZOO-1999 (4.2.2; 4.2.2.1; 4.2.2.2;

4.2.2.3) Os animais foram alojados em gaiolas individuais de aço inoxidável de 50 cm x 30 cm, mantidas com pellets de alfafa e água ad libitum; distribuídos aleatoriamente em três grupos; grupo A: (n=7), foi administrada uma solução de selênio (10,95 mg de selenito de sódio para cada mL de solução), na dose de 0,25 mg/g de peso vivo mais 2 mL dum toxóide bacteriano, o que continha uma suspensão bacteriana com 1×10^6 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL), com base no *Mannheimia haemolytica* sorotipo A2 com leucotoxóide da bactéria por via subcutânea; grupo B: (n=7), foram administrados 2 mL de toxina bacterina por via subcutânea e grupo C: (n=7), foram administrados 2 mL de solução salina fisiológica a 10% por via subcutânea. Este grupo foi considerado o grupo controle.

Os tratamentos foram administrados na semana 0 e na semana 2 para todos os animais do estudo.

Amostragem e processamento

As amostras foram coletadas semanalmente. O sangue foi obtido de todos os grupos experimentais da veia marginal atrial, usando o sistema Vacutainer®; 1 mL de sangue foi coletado em tubo neutro sem anticoagulante e 1 mL em tubo com heparina. Os tubos neutros foram centrifugados a 4.500 g por 5 min para obter o soro.

Provas de laboratorio

Os exames de sangue e soro foram realizados da seguinte forma; Para a estimativa do teor de selênio no sangue, foi utilizado o método de espectrofotometria de absorção atômica do gerador de hidretos, seguindo o método descrito por [Ghany-Hefnawy et al., 2007](#). Para obter os antígenos para os testes ELISA, sonicated ao sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica*, para expor seus antígenos, seguindo a técnica descrita por [Solanet et al., 2011](#). Na obtenção de leucotoxina de *Mannheimia haemolytica*, foi seguido o método descrito por [Morales-Álvarez et al., 1993](#).

Para a avaliação da resposta à *Mannheimia haemolytica* e sua leucotoxina, foi realizado um teste ELISA indireto, realizado em microplacas de polietileno de 96 poços de fundo plano, foram adicionados 100 µL de cada um dos antígenos numa diluição 1:20 em cada poço em triplicata, incubando por 24 horas a 37 °C. Após esse tempo, um ciclo de três lavagens com PBS Tween-20 foi realizado usando uma lavadora de microplacas. Em seguida, foi adicionada uma solução de 2% de leite desnatado em PBS, a fim de ocupar locais onde não havia adsorção do antígeno, deixando-o por 60 min a 37 °C. Posteriormente, foram realizadas 3 lavagens com PBS-Tween 20. Finalmente, as placas foram cobertas e armazenadas a 4 °C, até o uso. Posteriormente, 100 µL dos soros de teste foram depositados em cada poço, na diluição de 1:20 em PBS, incubando a 37 °C, em forno bacteriológico por 60 min. Após esse período, foram realizadas três lavagens com PBS Tween-20; Foram adicionados 100 µL de conjugado de IgG *anti-ovino* de coelho a cada poço, a uma diluição de 1: 2000 em PBS, incubando 60 min a 37 °C. Posteriormente, foram realizadas três lavagens com PBS Tween-20 e foram adicionados 100 µL de substrato (ABTS da Sigma Chemicals Co).

Finalmente, a leitura foi feita em um espectrômetro múltiplo, calibrado a 405 nm (leitor Sigma D de múltiplos poços EIA).

Análise estatística

Uma análise de variância foi realizada para determinar a significância estatística de cada uma das variáveis a serem medidas; um valor de $P < 0,05$ foi considerado para determinar a significância dos dados. Posteriormente, para identificar entre quais grupos houve diferença significativa, foi utilizado o teste estatístico de Tukey. Para isso, foi calculada a diferença honestamente significativa ou HSD (*Honestly significant difference*) para cada uma das variáveis a serem medidas. Dose de selênio, dose de toxina bacterina e tempo de amostragem foram considerados variáveis independentes. Níveis de selênio no sangue e absorvâncias séricas para os antígenos avaliados foram considerados variáveis dependentes. O programa *Statgraphics Centurion 16.1.11* foi utilizado para a análise.

RESULTADOS

Quantificação de selênio no sangue dos grupos experimentais

A avaliação da quantificação do selênio no sangue foi realizada nos grupos experimentais. Para determinar diferenças significativas, foi realizada uma análise de variância, considerando um valor de $P < 0,05$ (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de variância da quantificação de selênio no sangue dos grupos experimentais

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade.	Média dos quadrados	Valor f	Valor p
Entre grupos	0.007	2	0.004	4.990	0.026
Dentro dos grupos	0.009	12	0.001		
Total	0.0158	14			

A tabela 1 mostra a análise de variância dos níveis de selênio no sangue dos grupos experimentais; foi obtido um valor de $P < 0,05$; portanto, existe uma relação estatisticamente significativa entre as concentrações de selênio no sangue entre os grupos experimentais. Essas diferenças podem ser vistas na figura 1.

Na figura 1, são observados os meios e erros padrão para a quantificação de selênio no sangue dos grupos experimentais. O grupo A apresenta maior concentração média, diferentemente dos grupos B e C ($P < 0,05$). Durante o experimento, este último sem diferença estatística entre eles ($P > 0,05$). Para corroborar, foi realizado o teste de Tukey, calculado o HSD, obtendo-se um valor de $0,045 \mu\text{g/g}$. Quando comparado com o valor obtido da subtração das médias do grupo, foi obtida uma diferença estatisticamente significante entre o grupo A, em relação ao grupo B e ao grupo C.

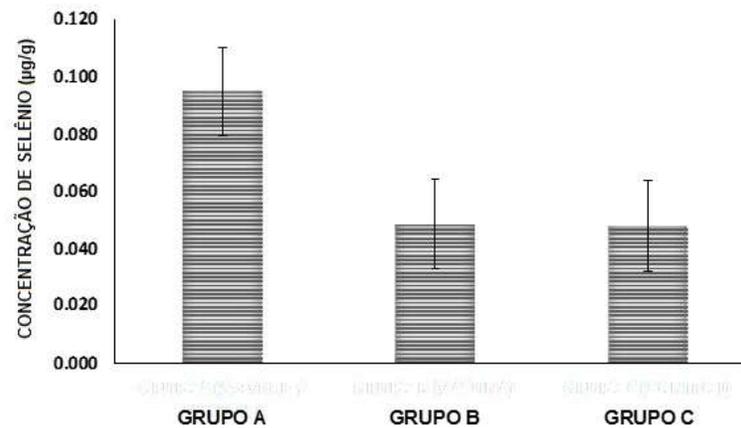


Figura1. Médias e erros padrão da quantificação de selênio no sangue dos grupos experimentais

As concentrações semanais de selênio no sangue para os grupos de estudo são mostradas abaixo (Figura 2). Quantificação semanal de selênio no sangue é observada para os grupos experimentais. Observa-se que nas semanas 0, 2 e 3, o grupo A apresenta maiores concentrações de selênio no sangue, em comparação aos grupos B e C ($P < 0,05$); o último sem diferença significativa entre eles ($P > 0,05$), para essas semanas. Por outro lado, nas semanas 1 e 4, os três grupos não mostraram diferenças significativas nas concentrações de selênio no sangue ($P > 0,05$).

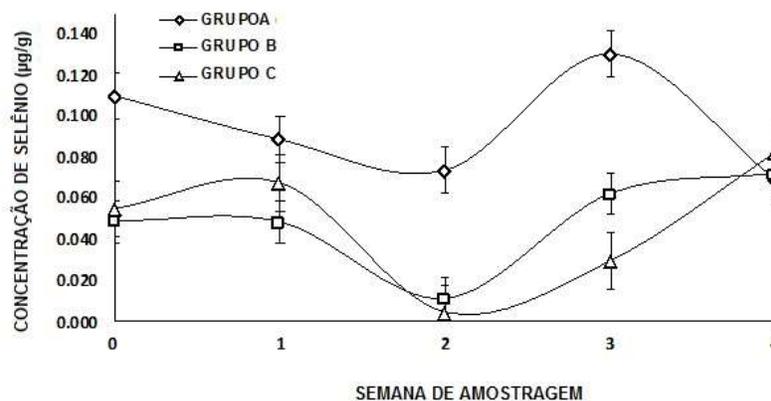


Figura 2. Quantificação semanal de selênio no sangue dos grupos experimentais

Avaliação da resposta humoral contra o sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica* no soro dos grupos experimentais

Foi realizada a avaliação das absorvâncias a 405 nm para IgG nos soros dos grupos experimentais, contra os antígenos de *Mannheimia haemolytica*. Uma análise de variância foi realizada para determinar a significância estatística entre os grupos, para os quais foi considerado um valor de $P < 0,05$ (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância das absorvâncias obtidas a 405 nm para IgG sérica dos grupos experimentais contra os antígenos de *Mannheimia haemolytica*

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade.	Média dos quadrados	Valor f	Valor p
Entre grupos	0.308	2	0.154	4.941	0.027
Dentro dos grupos	0.375	12	0.031		
Total	0.683	14			

A Tabela 2 mostra a análise de variância para as absorvâncias obtidas a 405 nm para IgG nos soros dos grupos experimentais, contra os antígenos de *Mannhemia haemolytica*. Observa-se um valor de $P < 0,05$, portanto, existe uma relação estatisticamente significativa para absorvâncias para IgG entre os grupos de estudo. Essas diferenças podem ser vistas na figura 3.

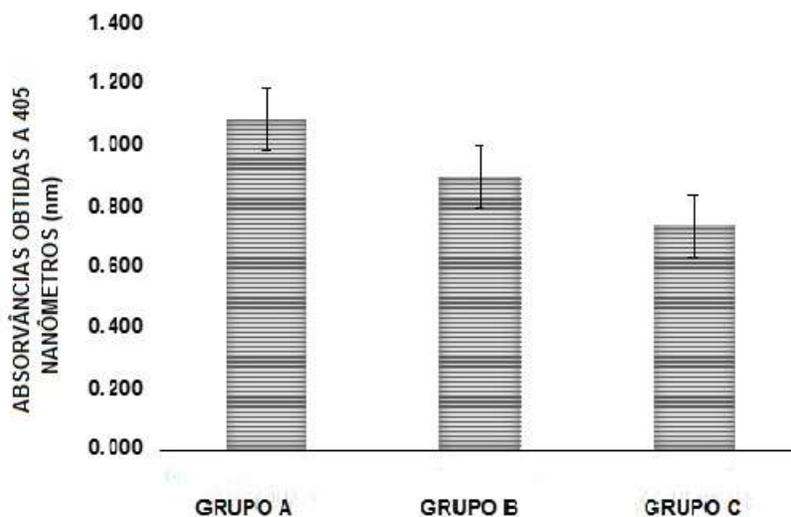


Figura 3. Médias e erros padrão das absorvâncias para IgG sérica dos grupos experimentais contra *Mannheimia haemolytica*

A Figura 3 mostra as médias e os erros padrão das absorvâncias obtidas a 405 nm para IgG nos soros dos grupos experimentais, contra os antígenos de *Mannhemia haemolytica*. O grupo A apresentou absorvâncias mais altas, diferentemente dos grupos B e C ($P < 0,05$). Durante o experimento, este último sem diferença estatística significativa ($P > 0,05$). Foi realizado o teste de Tukey, calculado o HSD, obtendo-se um valor de 0,272. Quando comparado com o valor obtido da subtração das médias do grupo, observou-se diferença estatisticamente significativa entre o grupo A, em relação ao grupo B e ao grupo C.

As absorvâncias semanais obtidas a 405 nm para IgG são mostradas abaixo, contra *Mannheimia haemolytica* para os grupos de estudo (Figura 4).

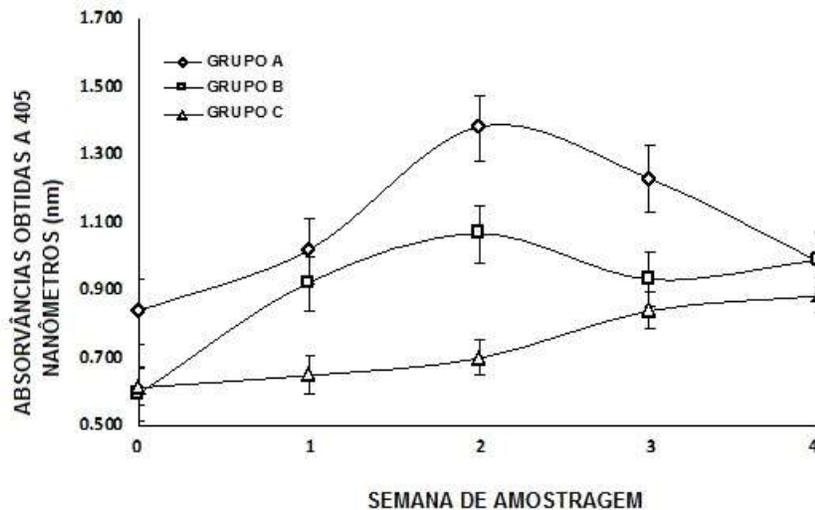


Figura 4. Absorções semanais de IgG dos soros dos grupos experimentais contra *Mannheimia haemolytica*

Na figura 4, são observadas as absorvâncias semanais obtidas a 405 nm para IgG, contra *Mannheimia haemolytica* nos grupos de estudo. Nas semanas 0, 2 e 3, observa-se que o grupo A apresenta absorvâncias maiores, comparado aos grupos B e C ($P < 0,05$). Nas semanas 1 e 4, não foram observadas diferenças entre A e B e entre A, B e C, respectivamente ($P > 0,05$).

Avaliação da resposta humoral à *Mannheimia haemolytica* leucotoxina no soro dos grupos experimentais

As absorvâncias obtidas a 405 nm foram avaliadas quanto à IgG sérica dos grupos experimentais, contra a *Mannheimia haemolytica* leucotoxina. Uma análise de variância foi realizada para determinar diferenças significativas, considerando um valor de $P < 0,05$ (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de variância das absorvâncias obtidas a 405 nm para a *Mannheimia haemolytica* leucotoxina dos soros dos grupos experimentais

Fonte	Soma dos quadrados	Graus de liberdade.	Média dos quadrados	Valor f	Valor p
Entre grupos	0.827	2	0.414	4.026	0.046
Dentro dos grupos	1.233	12	0.103		
Total	2.060	14			

A Tabela 3 mostra a análise de variância para as absorvâncias obtidas a 405 nm para IgG sérica dos grupos experimentais, contra a leucotoxina de *Mannheimia haemolytica*. Observa-se um valor de $P < 0,05$, portanto, existe uma relação estatisticamente significativa para absorvâncias para IgG entre os grupos de estudo. Essas diferenças podem ser vistas na figura 5.

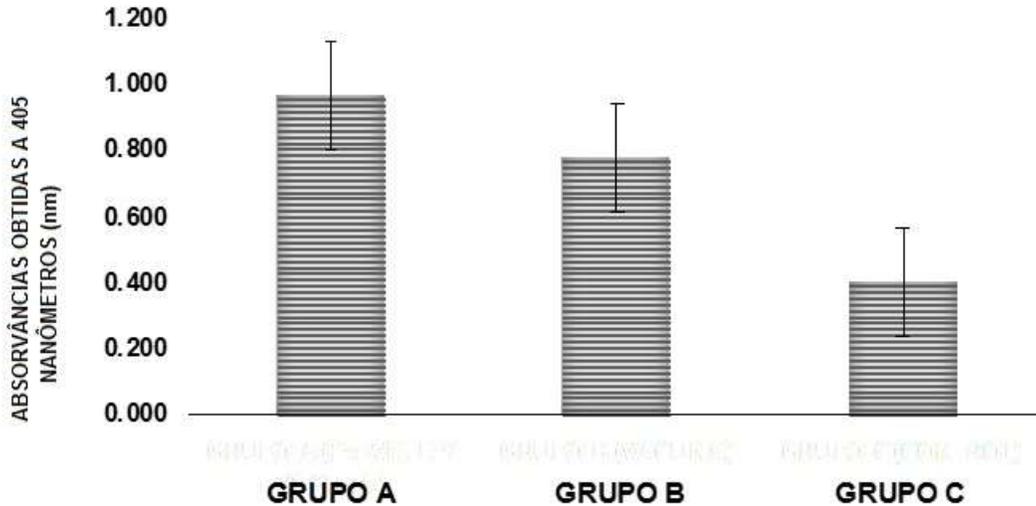


Figura 5. Médias de absorbância do soro para IgG dos grupos experimentais do sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica* leucotoxina sérica

A Figura 5 mostra as médias e os erros padrão das absorvâncias obtidas a 405 nm para IgG sérica dos grupos experimentais, contra a leucotoxina de *Mannhemia haemolytica*. Os grupos A e B não mostram diferenças significativas entre eles ($P > 0,05$); no entanto, eles mostram absorvâncias mais altas que o grupo C ($P < 0,05$) durante o experimento. Foi realizado o teste de Tukey, calculado o HSD, obtendo-se um valor de 0,540. Ao compará-lo com o valor obtido da subtração das médias do grupo, observa-se diferença estatisticamente significativa entre o grupo A em relação ao grupo C; que não foi desafiado com leucotoxina.

As absorvâncias semanais obtidas a 405 nm para IgG contra leucotoxina para os grupos de estudo são mostradas abaixo (Figura 6).

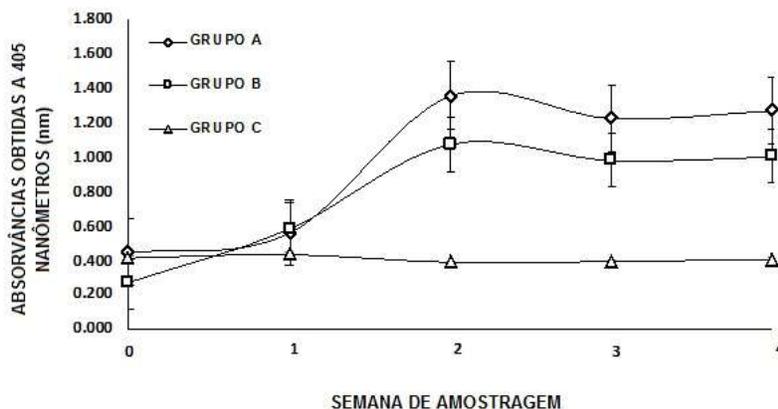


Figura 6. Média semanal das absorvâncias para IgG nos soros dos grupos experimentais, contra *Mannhemia haemolytica* leucotoxina

A Figura 6 mostra as absorvâncias semanais obtidas a 405 nm para IgG nos soros dos grupos de estudo, contra a *Mannheimia haemolytica* leucotoxina. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas absorvâncias médias do grupo A e do grupo B durante o estudo ($P > 0,05$); é a partir da semana 3 que são observadas diferenças entre A e B em relação ao grupo C ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Neste estudo, coelhos foram utilizados como modelo biológico para observar o efeito da suplementação de selênio e avaliar parte da resposta imune humoral, contra o sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica* e sua leucotoxina; que afeta o trato respiratório dos ruminantes, causando pneumonia e morte destes.

O requerimento de selênio é baixo para coelhos, com cerca de 0,05 mg/kg de alimento, para observar efeitos benéficos na produtividade desses animais (NRC, 1977; Papadomichelakis *et al.*, 2017); no entanto, foi observado que doses de 0,2 mg/kg de alimento melhoram a produtividade nessa espécie (Syvyk *et al.*, 2018)

Para suplementar os animais parenteralmente, foi utilizada uma dose de 0,025 mg/kg de peso vivo, recomendada por Ramírez-Bribiesca *et al.*, 2004 para ruminantes, extrapolando essa dose ao peso metabólico de coelhos, de modo que este era o adequado para as espécies; bem como evitar envenenamentos e mortes.

Foi relatado que níveis adequados de selênio no sangue de coelhos variam de 0,074 a 1.000 ppm (Puls, 1988), isso depende da dieta e da área geográfica em que são encontrados. Após a suplementação, observou-se que o grupo A apresentou uma média de 0,972 µg/g de selênio no sangue durante todo o estudo; enquanto os grupos B e C tiveram uma média de 0,595 µg/g de selênio no sangue durante todo o experimento ($P < 0,05$).

Não foram observadas deficiências de selênio no sangue; todos os três grupos mantiveram níveis adequados ao longo do experimento. Observou-se que a suplementação com mineral aumenta os níveis de selênio no sangue em vacas leiteiras (Khalili, *et al.*, 2020), porcos (Cao *et al.*, 2014), em galinhas (Doaa *et al.*, 2019), ovelhas (Ademi *et al.*, 2017) e cabras (Ziaei, 2015), com efeitos benéficos na saúde e produção animal; no entanto, um excesso de mineral na dieta pode ter efeitos negativos na produtividade com o consequente envenenamento dos animais e a morte (Żarczyńska *et al.*, 2013).

Variações nas concentrações de selênio foram observadas ao longo do experimento para todos os grupos. Em algumas semanas, eles mostram uma diminuição nas concentrações de minerais no sangue, particularmente no grupo A, nas semanas 2 e 4. Isso também foi observado em porcos suplementados com selênio e desafiados com diferentes antígenos (Falka *et al.*, 2018), Isso pode ser devido à biodistribuição do mineral no organismo, para manter o equilíbrio oxidativo contra infecções ou desafios com

antígenos, por meio de selenoproteínas; desde que eles participam do regulação do estresse oxidativo, otimizando os processos celulares para o bom funcionamento; incluindo aqueles envolvidos em respostas imunes inatas e adaptativas (Dalgaard *et al.*, 2018). No entanto, essa síntese é regulada pela disponibilidade do mineral no corpo; uma deficiência de selênio terá impacto no correto funcionamento das células e, portanto, nas respostas imunes (Howard *et al.*, 2013; Seyedali *et al.*, 2014).

Os monogástricos, como os coelhos, não apresentam deficiência de selênio tão marcada quanto os ruminantes; que são muito suscetíveis à deficiência desse mineral, principalmente em ovinos e caprinos. Nessas espécies, a digestibilidade e absorção desse mineral através da dieta são muito baixas (11-18%); comparado aos monogástricos (70-80%), o que afeta sua saúde e produtividade (Ghany y Tórtora-Pérez, 2010). Essa maior suscetibilidade dos ruminantes é atribuída ao ambiente retículo-ruminal, uma vez que parte do selênio ingerido é absorvido pela microbiota, que o utiliza para a síntese de proteínas; ou o próprio ambiente ruminal reduz o mineral a formas não solúveis (selenetos), que não podem ser absorvidos pelo animal (Carbajal *et al.*, 2013). Ao avaliar as absorvâncias para IgG sérica, contra o sorotipo A2 de *Mannheimia haemolytica*, verificou-se que o grupo A apresentou uma absorbância média de 1.087 nm, significativamente maior que os grupos B e C, com média de 0.817 nm no estudo (P <0,05).

Em outros trabalhos, resultados ambíguos foram observados em relação à suplementação de selênio e seu efeito na resposta imune a desafios com diferentes antígenos. Por um lado, a suplementação de selênio demonstrou ter um efeito positivo em galinhas na indução de anticorpos específicos para a vacina contra o vírus da doença bursal infecciosa (Shekaro *et al.*, 2012). Da mesma forma, uma resposta imunológica mediada por anticorpos mais alta contra *Pasteurella multocida* foi observada em ovelhas suplementadas com 0,3 ppm de selênio na dieta (Kumar *et al.*, 2009). Por outro lado, quando a influência do selênio na imunidade de frangos de corte foi estudada por suplementação através de ração em várias concentrações (0, 100, 200, 300 ou 400 µg/kg de dieta), nenhum efeito foi encontrado. na produção de anticorpos específicos para a vacina contra o vírus da doença de Newcastle (Rao *et al.*, 2013). Por outro lado, um estudo em cabras em que foi avaliada a resposta imune contra *Mannheimia haemolytica*, ao avaliar a IgG sérica, não foram observadas diferenças significativas nos grupos de estudo nos primeiros 28 dias do experimento; no entanto, os grupos suplementados apresentaram uma concentração significativamente maior de IgG desde o dia 28, após e até o final do experimento (Díaz-Sánchez *et al.*, 2017). Por fim, apesar dos estudos limitados em coelhos, foi relatado que coelhos da raça californiana, suplementados com selênio e desafiados contra glóbulos vermelhos de ovelhas (SRBC), os títulos de anticorpos eram mais altos em comparação ao grupo controle (Ebeid *et al.*, 2013), conforme observado neste estudo para o caso de *Mannheimia haemolytica*.

É provável que haja mais interações relacionadas à suplementação de selênio e à resposta imune a antígenos; como o estado nutricional dos animais, a idade, a disponibilidade de selênio no organismo e o tipo de agente infeccioso ou antígeno que entrou no organismo animal; portanto, diferenças entre os animais em relação à suplementação de selênio e à resposta imune podem ser observadas (Hoffmann y Berry, 2008).

Quando há uma infecção, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) participa da ativação e sinalização de vários sistemas endógenos (Vladimirov *et al.*, 2009). As células fagocíticas dependem da produção de ERO para suas atividades bactericidas durante a inflamação, mas se esse processo não for controlado por antioxidantes, como as selenoproteínas, os produtos reativos de oxigênio podem induzir danos ao hospedeiro, como a lipoperoxidação celular (Lubos *et al.*, 2011). Finalmente, verificou-se que os efeitos da suplementação de selênio não afetariam necessariamente a concentração de anticorpos da mesma maneira. Efeitos diferentes podem ser esperados nas respostas de anticorpos direcionados, contra antígenos T dependentes contra antígenos T independentes (Dalgaard *et al.*, 2018).

Em relação à avaliação das absorvâncias para IgG, contra *Mannheimia haemolytica* leucotoxina, não foram encontradas diferenças entre os grupos A e B ($P > 0,05$); no entanto, ambos os grupos apresentaram absorvâncias maiores que o grupo C ($P > 0,05$), que não apresentou resposta ao antígeno, como esperado no estudo. Sabe-se que a leucotoxina induz efeitos biológicos negativos nos leucócitos de ruminantes de uma maneira específica da espécie. O coelho não é suscetível a esse antígeno; no entanto, poderia ter efeitos semelhantes em seu sistema imunológico. Nos ruminantes, induz a secreção e liberação de peptídeos quimiotáticos vasoativos; bem como o número de leucócitos disponíveis no local da inflamação, onde ocorrem depósitos fibrinosos. Esse processo causa pneumonia fibrinopurulenta aguda. Qualquer oportunidade para uma resposta imune secundária é interrompida pela atividade da leucotoxina, que impede a blastogênese dos linfócitos e a destruição dos próprios leucócitos (Jaramillo *et al.*, 2009). Finalmente, Jaramillo *en el* 2000, conseguiu a purificação de uma adesina, capaz de se ligar especificamente aos eritrócitos de coelho, concluindo que as adesinas de *Mannhemia haemolytica* desempenham um papel importante na infecção; Isso pode sugerir porque houve uma resposta IgG mais forte ao sorotipo A2 de *Mannhemia haemolytica* do que à leucotoxina neste estudo.

CONCLUSÃO

Os animais que foram suplementados apresentaram uma maior concentração de selênio no sangue. Ao utilizar o coelho como modelo biológico para avaliar a resposta antigênica, verificou-se que a suplementação com selênio teve efeitos positivos na resposta aos antígenos do serotipo A2 de *Mannheimia haemolytica*, obtendo maior absorvância nos

coelhos suplementados, em comparação aos que não o eram suplementado. Em relação à resposta ao antígeno para a *Mannheimia haemolytica* leucotoxina, não foram encontradas diferenças entre os grupos estudados.

LITERATURA CITADA

ADEMI A, Bernhoft A, Govasmark E, Bytyqi H, Sivertsen T, Singh BR. 2017. Selenium and other mineral concentrations in feed and sheep's blood in Kosovo. *Transl. Anim. Sci.* 1:97–107. <https://doi.org/10.2527/tas2016.0010>

AVERY JC, Hoffmann PR. 2018. Selenium, Selenoproteins, and Immunity. *Nutrients.* 10(9):1-20. <https://doi.org/10.3390/nu10091203>

CAMPOS GCM. 2015. El Impacto de los Micronutrientes en la inmunidad de los animales. *Nutrición Animal Tropical.* 9(1): 1–23. ISSN: 2215-3527. <https://doi.org/10.15517/nat.v9i1.18778>

CAO J, Guo F, Zhang L, Dong B, Gong L. 2014. Effects of dietary Selenomethionine supplementation on growth performance, antioxidant status, plasma selenium concentration, and immune function in weaning pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 5:46. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-46>

CARBAJAL HMA, Aquí QG, Díaz GC. 2013. Uso de selenio en ovinos. *AbanicoVet.* 3(1):44-54. ISSN 2007-4204. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=44582>

DALGAARDA ST, Briensb M, Engberga MR, Lauridsena C. 2018. The influence of selenium and selenoproteins on immune responses of poultry and pigs. *Animal Feed Science and Technology.* 238:73-83. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.01.020>

DÍAZ-SÁNCHEZ VM, Rodríguez-Patiño G, Ramírez-Noguera P, Ramírez-Bribiesca JE, Morales-Álvarez JF, Revilla-Vázquez AL, López-Arellano R. 2017. Dose of selenium in goat kids and its effect on the antigenic response to *Mannheimia haemolytica* and oxidative stress. *Small Ruminant Research.* 153:171–174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.06.005>

DE LA ROSA RJL, Jaramillo-Arango CJ, Martínez-Maya JJ, Aguilar Romero F, Hernández-Castro R, Suarez-Güemes F, Trigo-Tavera F. 2012. Frecuencia de aislamientos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en becerras con signos clínicos de enfermedad respiratoria, en un complejo lechero del estado de Hidalgo, México. *Vet. Méx.* 43:(1). <https://www.researchgate.net/publication/286067163>

DOAA I, Asmaa TY, Safaa IK, Ahmed H, Haiam AM, Ahmed SA, Ghada IAEIR, Mohamed TE. 2019. Effect of Dietary Modulation of Selenium Form and Level on Performance, Tissue Retention, Quality of Frozen Stored Meat and Gene Expression of Antioxidant Status in Ross Broiler Chickens. *Animals*. 9:342. <https://doi.org/10.3390/ani9060342>

EBEID TA, Zeweil H, Basyony M, Badry H. 2012. The Impact of Incorporation of Organic Selenium Into Meat on Growth Performance, Antioxidative Status, and Immune Response in Growing Rabbits. *Proceedings 10 th World Rabbit Congress*. 861–864. <https://www.researchgate.net/publication/224921998>

FALKA M, Bernhoftb A, Framstadc T, Salbud B, Wisloffb H, Kortnere TM, Kristoffersenb BA, Oropeza MM. 2018. Effects of dietary sodium selenite and organic selenium sources on immune and inflammatory responses and selenium deposition in growing pigs. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 50:527-536. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.03.003>

GELDERMAN A, Clapper J. 2013. Effects of inorganic or organic selenium on immunoglobulins in swine. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 4:47. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-47>

GHANY HAE, Tórtora-Pérez JL. 2010. The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research*. 89:185-192. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.042>

GHANY-HEFNAWY AE, López-Arellano R, Revilla-Vázquez A, Ramírez-Bribiesca E, Tórtora-Pérez J. 2007. The relationship between fetal and maternal selenium concentrations in sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 73:174–180. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.01.020>

HOFFMANN PR, Berry MJ. 2008. The influence of selenium on immune responses. *Mol Nutr Food Res*. 52(11): 1273–1280. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700330>

JARAMILLO ACJ, Trigo TFJ, Suárez GF. 2009. Mannheimiosis bovina: etiología, prevención y control. *Vet. Méx*. 40:(3). ISSN 0301-5092. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922009000300008

JARAMILLO L, Díaz F, Hernández P, Debray H, Trigo F, Mendoza G. 2000. Purification and characterization of an adhesin from *Pasteurella haemolytica*. *Glycobiology*. 10:31-37. <https://doi.org/10.1093/glycob/10.1.31>

KHALILI M, Chamani M, Amanlou H, Nikkhah A, Sadeghi AA, Dehkordi FK, Rafiei M, Shirani V. 2020. The effect of feeding inorganic and organic selenium sources on the hematological blood parameters, reproduction and health of dairy cows in the transition period. *Acta Scientiarum. Animal Sciences.* 42:45371. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v42i1.45371>

KUMAR N, Garg AK, Dass RS, Chaturvedi VK, Mudgal V, Varshney VP. 2009. Selenium supplementation influences growth performance, antioxidant status and immune response in lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* (153):77–87. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.06.007>

LUBOS E, Loscalzo J, Handy DE. 2011. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid. Redox Signal.* 15:1957–1997. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3586>

MEHDI Y, Dufrasne I. 2016. Selenium in Cattle: A Review. *Molecules.* 21(545):1-14 <http://doi.org/10.3390/molecules21040545>

MORALES-ÁLVAREZ FJ, Jaramillo-Meza L, Oropeza-Vázquez Z, Tórtora-Pérez JL, Trigo-Tavera FJ, Espino-Rosas G. 1993. Evaluación experimental de un inmunógeno de *Pasteurella haemolytica* en corderos. *Vet. Méx.* 24:97–105. <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=12524>

NRC. 1977 Nutrient Requirements of Rabbits. National Academy of Sciences. *National Research Council*, Washington, USA. ISBN: 0-309-02607-5. <https://www.nap.edu/catalog/35/nutrient-requirements-of-rabbits-second-revised-edition-1977>

PAPADOMICHELAKIS G, Zoidis E, Pappas AC, Mountzouris KC, Fegeros K. 2017. Effects of increasing dietary organic selenium levels on meat fatty acid composition and oxidative stability in growing rabbits. *Meat Science.* 131:132-138. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.006>

PULS R. 1988. Mineral levels in animal health diagnostic data. Sherpa International, British Columbia, Canada. ISBN 0-9693429-0-X. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19892283865>

RADWIŃSKA J, Katarzyna Ż. 2014. Effects of mineral deficiency on the health of young ruminants. *J. Elem.* 19(3):915–928. https://www.researchgate.net/publication/279013357_Effects_of_mineral_deficiency_on_the_health_of_young_Ruminants

RAMÍREZ-BRIBIESCA E, Hernández-Camacho E, Hernández-Calva LM, Tórtora-Pérez JL. 2004. Efecto de un suplemento parenteral con selenito de sodio en la mortalidad de corderos y los valores hemáticos de selenio. *Agrociencia*. 38:43-51. ISSN: 1405-3195. <https://www.researchgate.net/publication/242624660>

RAO SVR, Prakash B, Raju MVLN, Panda AK, Poonam S, Murthy OK. 2013. Effect of supplementing organic selenium on performance, carcass traits, oxidative parameters and immune responses in commercial broiler chickens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 26:247–252. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12299>

SEYEDALI A, Berry MJ. 2014. Nonsense-mediated decay factors are involved in the regulation of selenoprotein mRNA levels during selenium deficiency. *RNA Publ. RNA Soc.* 20:1248–1256. <https://doi.org/10.1261/rna.043463.113>

SHEKARO A, Oladele SB, Abdu PA, Ibrahim NDG. 2012. Effect of selenium on the susceptibility of vaccinated cockerels against infectious bursal disease. *J. Vet. Adv.* 2:573–578. ISSN: 2251-7685. <https://doi.org/10.5455/japa.20150315015216>

SYVYK TL, Dyachenko LS, Tytariova OM, Shulko OP, Osipenko OP, Pirova LV, Bilkevych VV. 2018. Productivity of rabbits and balance of selenium in their body by feeding different doses of selenium. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 24:480–483. <https://www.researchgate.net/publication/325763729>

SOLANET JJ, Malena R, Estein SM, Estevao BSG, Paolicchi FA. 2011. Desarrollo de una prueba de ELISA para detectar anticuerpos en carneros vacunados o infectados con *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Revista Argentina de Microbiología*. 43(1):9-17. e-ISSN: 1851-7617. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/70918>

VLADIMIROV YA, Proskurnina EV. 2009. Free radicals and cell chemiluminescence. *Biochem. Moscow*. 74:1545–1566. <http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v74/full/74131545.html>

ŻARCZYŃSKA K, Sobiech P, Radwińska J, Rêkawek W. 2013. Effects of selenium on animal health. *J. Elem.* 18(2):329–340. <https://doi.org/10.5601/jelem.2013.18.2.12>

ZIAEI N. 2015. Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive indices and biochemical metabolites in Raieni goats. *Journal of Applied Animal Research*. 43(4):426–430. <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2014.980415>