

## MEDICINĂ VETERINARĂ

CZU 635.82(430.1):582+631.589

### EFFECTUL SUPLIMENTĂRII HRANEI CU ZINC ȘI SELENIU ORGANIC ASUPRA RĂSPUNSULUI IMUN UMORAL LA VACILE DE LAPTE

D. CURCĂ<sup>1</sup>, A. LIONIDE<sup>2</sup>, M. SAMARINEANU<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, București

<sup>2</sup>Institutul pentru Controlul Produselor Biologice și Medicamentelor de Uz Veterinar, București

<sup>3</sup>S.N. "Institutul Pasteur" S. A., București

**Abstract.** The organic mineral sources represent, in the last years, a nutritive supplement recommended for use in the nutrition of humans and animals, because of their superior bioavailability and biological functions as compared to inorganic sources. Also, there have been reported beneficial effects on the animal immunity. As regarding the effect of zinc deficiency on humoral immune response in dairy cows, there is little information on this subject with disputed results. As for selenium, many researchers mention its stimulating influence on the immunological status.

In this work, it was studied the effect of feed supplementation with organic sources of zinc (as Bioplex-n) and selenium (as Sel-Plex) on the humoral immune response in dairy cows. The results show an increased bioavailability of zinc and selenium having a positive influence on the humoral immune response.

**Key words:** Dairy cows, Feed supplement, Humoral immune response, Selenium, Zinc.

#### INTRODUCERE

Informațiile acumulate până în prezent arată în mod clar, că seleniul în forma organică, de exemplu drojdia îmbogățită cu Se, are mai multe avantaje comerciale importante, decât seleniul anorganic (S. Ghergariu, 1980; D. Curcă et al., 2008). În reacția de răspuns imun, seleniul are rol stimulator în proliferarea limfocitelor și implicit în rezistența organismului la infecții. Unele studii demonstrează că seleniul a determinat o creștere a blastogenezei limfocitelor T stimulate cu mitogen *in vitro*, în timp ce altele, nu semnalează acest fapt. Carența în Se a determinat o reducere a funcției leucocitelor polimorfonucleare (PMN) la capre și a concentrației serice de IgM.

Lucrările de până acum au pus în evidență largă difuziune a Zn în regnul animal și fac să se întrevadă importanța sa fiziologică. Studiile făcute de E.J. Underwood și colab., (1999), au evidențiat diversele efecte ale deficitului de Zn la animale și anume: modificări ale apetitului, întârzieri în creștere a testiculului și a spermatogenezei la masculi, iar la femele blocarea estrului, sterilitate, uneori o naștere distocică. În cursul carenței de zinc, mai sunt prezente modificări hematologice caracterizate prin limfopenie și creșterea valorii hematocritului, precum și instalarea tulburărilor de comportament.

Zincul și seleniul sunt microelemente esențiale pentru menținerea sănătății, influențând creșterea, imunitatea, fertilitatea, funcțiile musculare și neuromusculare, fiind totodată componente sau activatori ai unor enzime cu rol antioxidant etc. (D. Mihai, 1996).

Diferite experimente efectuate pe oameni și animale de laborator au arătat că deficitul de zinc în alimentație a redus intensitatea răspunsului imun și rezistența la boli (J. K. Chesters, 1997). Studiile privind efectul carenței în zinc asupra răspunsului imun umoral la vacile de lapte sunt relativ puține, iar rezultatele acestor cercetări rămân controversate (G. B. Salyer et al., 2004; A. Lionide et al., 2005).

Implicațiile seleniului în imunologie sunt semnalate de diferiți cercetători, ce menționează rolul stimulator al seleniului în proliferarea limfocitelor și implicit în rezistența organismului la infecții. Există studii în care seleniul a determinat o creștere a blastogenezei limfocitelor T *in vitro* stimulate cu un mitogen, dar și studii care nu semnalează acest fapt (A. Lionide et al., 2008). Carența în seleniu determină o reducere a funcției leucocitelor polimorfonucleare la capre (E. S. Azizi et al., 1984) și la vaci de lapte (Gyang et al., 1984, citat de D. Mihai, 1996) și a concentrației serice de imunoglobuline Ig M (J. W. Spears, 2006).

În prezenta lucrare a fost studiat efectul zincului și seleniului organic (Bioplex-Zn și Sel-Plex) introduse ca suplimente în alimentația vacilor de lapte, asupra răspunsului imun umoral postvaccinal.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Experimentul s-a efectuat pe un număr de 24 de vaci de lapte din rasa Bălțată cu negru românească (BNR), aflate în lactația a doua (lunile 3-4 de lactație), cu o producție medie de lapte de 21 de litri/zi și o stare de întreținere corespunzătoare.

Animalele luate în experiment au fost repartizate în 4 loturi a câte 6 vaci/lot și au beneficiat de același tip de hrană. Ca suplimente minerale cu zinc și seleniu în forme organice, s-au folosit produsele autorizate a fi comercializate pe piață, și anume Bioplex-Zn și Sel-Plex, astfel:

- lotul E1 - suplimentat cu 2,5 g Bioplex Zn (echivalent 375 mg Zn)/vacă/zi;
- lotul E2 - suplimentat cu 5 g Sel-Plex (echivalent 4,8 mg Se)/vacă/zi;
- lotul E3 - suplimentat cu 2,5 g Bioplex Zn (echivalent 375 mg Zn) și 5 g Sel-Plex (echivalent 4,8 mg Se)/vacă/zi;
- lotul C (de control) - nu a primit supliment mineral.

Pentru imunizare s-a utilizat ca antigen viral și anume virusul bolii Aujeszky, inactivat, tulpina Bartha (2 ml, i.m.). Prima vaccinare s-a efectuat, pentru ambele loturi, la 22 de zile de la începutul experimentului, urmată de revaccinare la 14 zile de la a doua vaccinare (ziua 36). În vederea evaluării titrului de anticorpi (Ac) s-au recoltat probe de sânge în zilele 22 și 50.

Concentrația serică a zincului și seleniului a fost determinată la începutul și la sfârșitul experimentului (ziua 0, respectiv ziua 50). Durata experimentului a fost de 50 de zile. Concentrația serică de zinc s-a determinat prin spectrometrie de absorbție atomică, iar selenemia prin metoda fluorimetrică. Titrul de anticorpi postvaccinali anti-virus Aujeszky a fost evaluat prin tehnica imunoenzimatică (ELISA). Prelucrarea statistică a datelor s-a efectuat cu ajutorul testului ANOVA.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Concentrația serică a zincului și seleniului reprezintă un indicator al biodisponibilității acestor microelemente. Prin rezultatele lor, majoritatea cercetărilor susțin biodisponibilitatea superioară a formelor organice de zinc și seleniu comparativ cu sursele anorganice.

Concentrația plasmatică de zinc la bovine este de 80-110  $\mu\text{g}/\text{dl}$ , serul conținând în medie cu 16% mai mult zinc decât plasma care are 95-130  $\mu\text{g}/\text{dl}$ . După S. Ghegariu, 1999, concentrația serică de zinc la viței este de  $166,12 \pm 78 \mu\text{g}/\text{dl}$ . Valorile normale ale selenemiei la vacile de lapte se regăsesc în intervalul 0,04-0,1 ppm.

Inițial, loturile de vaci prezentau carență în zinc și seleniu. În condițiile experimentale date, s-a observat că adaosul de zinc și seleniu organic (Bioplex-Zn și Sel-Plex) a condus la creșterea concentrațiilor serice ale acestor bioelemente, în limitele considerate normale pentru vacile de lapte (tab. 1.). Astfel, în cazul loturilor E<sub>1</sub> și E<sub>3</sub> (suplimentate cu Bioplex-Zn), concentrațiile serice medii ale zincului înregistrate la sfârșitul experimentului, 106,33  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (lotul E<sub>1</sub>) și 105,17  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (lotul E<sub>3</sub>) au fost cu 40,83 % ( $P < 0,001$ ) și respectiv cu 39,29 % ( $P < 0,001$ ) mai mari, comparativ cu lotul C (75,5  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) (tab. 1).

Loturile E<sub>2</sub> și E<sub>3</sub> (suplimentate cu Sel-Plex), au înregistrat o concentrație serică medie a seleniului la sfârșitul experimentului de 0,0430 ppm și 0,0425 ppm; cu 70,2% ( $P < 0,001$ ) și respectiv 70,0 % ( $P < 0,001$ ) mai mare, comparativ cu lotul C (0,025 ppm).

Este în general un fapt acceptat că, seleniul participă la diferite funcții fiziologice ca parte integrantă a mai multor selenoproteine (J. Kohrle et al., 2000). De fapt, prezența selenocisteinei în situsul activ al unei enzime duce la creșterea activității sale de 100 până la 1000 de ori. La mamifere, glutathion-peroxidaza (GSH-Px) și tioredoxin-reductaza (TR) sunt cele mai întâlnite proteine antioxidante care conțin seleniu.

Stresul oxidativ poate fi definit ca acea formă de stres prin acțiunea căreia asupra organismelor vii este stimulată formarea speciilor reactive ale oxigenului (SRO), cu efect perturbator sever asupra metabolismului celular, finalizat prin instalarea colapsului întregului organism. Așadar, stresul oxidativ constituie cauza comună a diferitelor forme de stres. SRO reprezintă un mecanism esențial al dialogului între diferite compartimente celulare, induce modificări ale metabolismului și proceselor de dezvoltare care cel mai adesea sunt atribuite alterării paternului expresiei genice. Stresul oxidativ este rezultatul dezechilibrului dintre factorii pro-oxidanți și sistemele antioxidante protectoare în favoarea primei componente. El reprezintă totalitatea deteriorărilor oxidative produse de radicalii liberi la nivelul celulei

Tabelul 1

Concentrația serică a zincului, selenemia și titrul anticorpilor postvaccinali la vacile de lapte suplimentate cu Bioplex Zn și/sau Sel Plex

Determinare efectuată	Momentul determinării	Loturi			
		C	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>
Concentrația serică a zincului (Medie ± DS)	Ziua 0	76,5 ± 5,00	73,83 ± 4,16	-	73,5 ± 3,61
	Ziua 50	75,5 ± 6,59	106,33 ± 6,34***	-	105,17 ± 5,77***
Selenemia (Medie ± DS)	Ziua 0	0,024 ± 0,004	-	0,026 ± 0,003	0,028 ± 0,005
	Ziua 50	0,0255 ± 0,005	-	0,0433 ± 0,002***	0,0425 ± 0,002***
Ac anti-virus Aujeszky (Medie ± DS)	Ziua 22	437,00 ± 82,86	397,83 ± 21,22	380,5 ± 38,03	364,5 ± 130,63
	Ziua 50	1002,833 ± 188,45	1142,167 ± 210,72	1182,833 ± 313,12	1273,833 ± 111,21*

Legendă: \*\*\* diferențe foarte semnificative (P<0,001)

\*\* diferențe distinct semnificative (P<0,01)

\* diferențe semnificative (P<0,05)

sau al întregului organism. Suplimentarea hranei cu seleniu sau administrarea lui parenterală determină o creștere a concentrației în lapte, unde acest oligomineral se găsește în proporție de 70–75% în fracțiunea proteică, restul fiind prezent ca selenit, selenat sau selenometionină (A. Lionide et al., 2008).

Conținutul în zinc al alimentelor poate fi influențat favorabil de natura solului și a tratamentelor aplicate lui. Laptele de mamă are un conținut variabil în zinc după femeie și perioada de lactație, situându-se în jur de 0,4 mg/100 ml (3-5 mg/l). Cel de vacă este puțin mai bogat decât cel de mamă, în schimb, unele preparate de lapte matern par să aibă un conținut în zinc relativ scăzut. În laptele colostrăl, zincul este aproximativ de 4 ori mai concentrat (20 mg/l). Zincul din lapte urmează o dinamică activă asemănătoare cu cel din ser, concentrația sa scade treptat într-un experiment de depleție, ajungând de la 7 mg/l la 3,2 ppm, după 6 săptămâni. În acest fel concentrația zincului din lapte reflectă aportul de zinc alimentar. Recent s-a descoperit în laptele de femeie un ligand care fixează zincul și care lipsește din laptele de vacă.

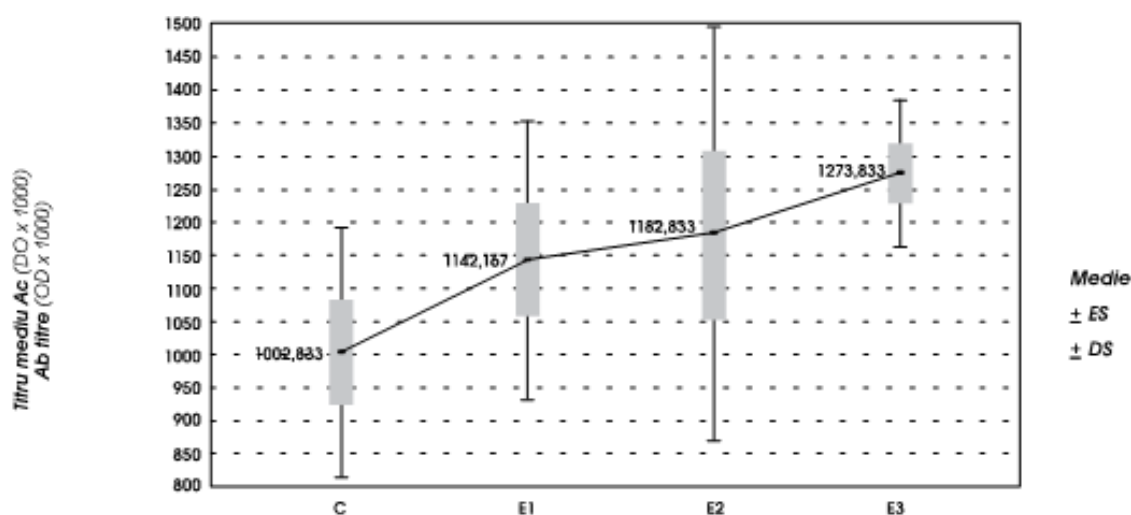


Figura 1. Titrul mediu al anticorpilor postvaccinali anti-virus Aujeszky la vacile de lapte suplimentate cu Bioplex-Zn și Sel -Plex (prelucrare test ANOVA)

Răspunsul imun umoral postvaccinal anti-virus Aujeszky a fost mai intens în cazul loturilor suplimentate cu Bioplex Zn și/sau Sel Plex, și în special cazul lotului E<sub>3</sub> (care a primit ambele suplimente minerale), comparativ cu lotul C (de control). Titrurile de anticorpi, înregistrate ca valori medii ale densităților optice corespunzătoare, au fost: 1142,16 în cazul lotului E<sub>1</sub>, mai mare cu 14,00% (P>0,05) comparativ cu lotul C (1002,83); 1182,83 pentru lotul E<sub>2</sub>, mai mare cu 18,00%, comparativ cu lotul C (P>0,05) și 1273,83 în cazul lotului E<sub>3</sub>, mai mare cu 27,00% (P<0,05), comparativ cu lotul C.

De asemenea, lotul E<sub>3</sub> a prezentat o creștere a titrului de anticorpi postvaccinali cu 11,52% (P>0,05) mai mare decât lotul E<sub>1</sub> și cu 7,69% (P>0,05) decât lotul E<sub>2</sub>, acesta din urmă înregistrând o mărire cu 3,51% (P>0,05) față de lotul E<sub>1</sub> (fig. 1). Rezultatele indică influența pozitivă a compușilor organici cu zinc și/sau seleniu asupra răspunsului imun umoral, fapt semnalat și de alți cercetători.

## CONCLUZII

◆ Concentrația serică a zincului la vacile de lapte, a căror rație a fost suplimentată cu Bioplex Zn, a crescut față de lotul de control C (75,5 μg/dl) cu 40,83% (P<0,001) în cazul lotului E<sub>1</sub> (106,33 μg/dl) și cu 39,29% (P<0,001) în cazul lotului E<sub>3</sub> (105,17 μg/dl), fapt datorat unei biodisponibilități ridicate.

◆ Selenemia la vacile de lapte, a căror rație a fost suplimentată cu Sel-Plex, a crescut față de lotul de control C (0,0255 ppm) cu 70,2% (P<0,001) în cazul lotului E<sub>2</sub> (0,0433 ppm) și cu 70,0% (P<0,001) în cazul lotului E<sub>3</sub> (0,0425 ppm).

◆ Consecutiv administrării zincului și/sau seleniului organic (Bioplex Zn și/sau Sel Plex) în alimentația vacilor de lapte, s-a observat, comparativ cu lotul C, o creștere a titrului de anticorpi postvaccinali anti-virus Aujeszky cu 14,00% în cazul lotului E<sub>1</sub> (P>0,05), cu 18% în cazul lotului E<sub>2</sub> (P>0,05) și cu 27% în cazul lotului E<sub>3</sub> (P<0,05). De asemenea, lotul E<sub>3</sub> a prezentat o creștere a titrului de anticorpi postvaccinali cu 11,52% (P>0,05) mai mare decât lotul E<sub>1</sub> și cu 7,69% (P>0,05) decât lotul E<sub>2</sub>, acesta din urmă înregistrând o mărire cu 3,51% (P>0,05) față de lotul E<sub>1</sub>.

◆ Rezultatele obținute au evidențiat o biodisponibilitate ridicată a zincului și seleniului de natură organică și efectul pozitiv al acestor microelemente asupra răspunsului imun umoral.

## BIBLIOGRAFIE

1. Azizi, E.S., Klesius, P.H., Frandsen, J.C. - Effects of selenium on polymorphonuclear leucocyte function in goats. *American Journal of Veterinary Research*, 1984, 45, p. 1715-1719.
2. Chesters, J. K. - Zinc. In: B. L. O'Dell, and R. A. Sunde (ed.) - *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*, 1997, p. 185-230, Marcel Dekker Inc., New York.
3. Curcă, D., Pantă, L., Anca, Bogdan - Effect of dietary supplementation with selenium on the effort adaptation capacity of the Romanian Sport Horse. Chișinău, 21-23 octombrie, 2008, *Lucrări științifice*, vol. 19, p. 138-142.
4. Ghergariu, S. - Oligominerale și oligomineraloze. Editura Academiei, București, 1980.
5. Kohrle, J., Brigelius-Flohe, R., Bock, A. et al. - Selenium in Biology: Facts and Medical Perspectives. *Biol. Chem.*, 2000, 381, p. 849-864.
6. Lionide, A., Curcă, D., Samarineanu, M. - Modificările reactivității limfocitare la vacile de lapte consecutiv suplimentării rației cu forme organice de zinc și seleniu. *Lucrări științifice, Seria C, Medicină Veterinară, București*, 2005, vol. XLVIII, p. 212-218.
7. Lionide, A., Curcă, D., Samarineanu et al. - Effect of selenium on humoral immune response in calves. Chișinău, 21-23 oct. 2008, *Lucrări științifice*, 2008, vol. 19, p. 105-108.
8. Mihai, D. - Boli de nutriție și metabolism, ediția II-a, Editura Ceres, București, 1996.
9. Salyer, G.B., Galyean, M.L., Defoor, P.J. et al. - Effects of copper and zinc source on performance and humoral immune response of newly received, lightweight beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 2004, 82, p. 2467-2473.
10. Spears, J. W. - Micronutrients and immune function in cattle, *Proc. Nutr. Soc.* 2000, 59, p. 8.
11. Surai, F. P. - Selenium in nutrition and health. Nottingham University Press, 2006.
12. Underwood, E.J. and Suttle N.F. - Zinc. in: *The Mineral Nutrition of Livestock*. 3<sup>rd</sup>ed., 1999, p. 477-512, CABIPublishing, New York.

Data prezentării - 08.11. 2011