

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REFRACTOMETRÍA Y  
LA TÉCNICA DE SULFITO DE SODIO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA PLASMÁTICA EN  
BECERRAS HOLSTEIN**

POR

**GERARDO SÁNCHEZ CHÁVEZ**

**TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

TORREÓN, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REFRACTOMETRÍA Y  
LA TÉCNICA DE SULFITO DE SODIO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA PLASMÁTICA EN  
BECERRAS HOLSTEIN**

**TESIS**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

POR

**GERARDO SÁNCHEZ CHÁVEZ**

ASESOR PRINCIPAL

**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ**

TORREÓN, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESIS**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REFRACTOMETRÍA Y  
LA TÉCNICA DE SULFITO DE SODIO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA PLASMÁTICA EN  
BECERRAS HOLSTEIN**

Tesis Aprobada por el

**PRESIDENTE DEL JURADO**

**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL**

**M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO**



**Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal**

**TORREÓN, COAHUILA, MEXICO**

**JUNIO DE 2010**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESIS**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REFRACTOMETRÍA Y  
LA TÉCNICA DE SULFITO DE SODIO PARA LA  
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA PLASMÁTICA EN  
BECERRAS HOLSTEIN**

**TESIS APROBADA POR EL H. JURADO EXAMINADOR**

*Ramón A. Delgado G.*

M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
PRESIDENTE

*José Guadalupe Rodríguez Martínez*  
M.V.Z. JOSÉ GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ  
VOCAL

*Ma. Guadalupe de la Fuente Salcido*  
M.V.Z. M.C. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO  
VOCAL

*Luis Javier Prado Ortiz*  
M.V.Z. LUIS JAVIER PRADO ORTIZ  
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 2010

## **DEDICATORIAS**

### **A MIS PADRES**

JUAN SÁNCHEZ SANTIAGO Y CATALINA CHÁVEZ LÓPEZ con todo mi cariño, respeto, admiración y amor; por haberme dado la vida por creer siempre en mí. Gracias por haber elegido el mejor camino para mí se que aunque no estuvieron conmigo durante mi crecimiento siempre me estuvieron dando ese apoyo emocionalmente gracias por ser mis padres.

### **A MIS TIOS**

FELIX SÁNCHEZ SANTIAGO Y ANTONIA CHARREZ DE LA CRUZ por haberme aceptado como uno mas de sus hijos pero sobre todo por haberme dado la educación, gracias por cada uno de esos momentos pasados durante mi crecimiento, por haberme inculcado siempre salir adelante y ser alguien en la vida Gracias por que por ustedes soy lo que soy gracias siempre los llevare en mi corazón que dios me los bendiga siempre.

### **A MIS HERMANOS**

IVAN Y CLAUDIA SÁNCHEZ CHARREZ que aunque no sean mis hermanos de sangre pero ustedes saben que los considero como hermanos le doy gracias a dios por habérmelos prestado durante mi crecimiento, gracias por todos esos momentos tan bonitos que vivimos mejores hermanos en el mundo no pude haber pedido gracias ustedes son mi motor para salir adelante y también sin dejar de mencionar mis otros hermanos gracias por esos bonitos recuerdos.

### **A TODA LA FAMILIA CHARREZ**

Primeramente a mis primos de la familia CHARREZ ALDO IVÁN, NAYELI, EDGAR, MARTHA, ADRIANA GRACIAS POR hacerme sentir como parte de su familia por haberme dado ese cariño en mi etapa de la infancia les deseo lo mejor y ojala cumplan sus sueños los quiero mucho,

A los tíos MIGUEL, HILARIO, ALEJANDRO, ROGELIO, MELITONA, AMALIA, ELEUTERIA, GABINA, MARCELINA, HILARIO, MIGUEL les doy gracias por aquellos consejos que en su momento me dieron por ese apoyo emocionalmente e incondicional que me brindaron por confiar en mi persona gracias.

A la memoria de mis tíos AGUSTIN CHÁRREZ DE LA CRUZ Y BLAS MUSIÑO CARRILLO por esos consejos, regaños y sobre todo esos momentos felices que estuvieron conmigo gracias por haberme enseñado lo mejor de la vida mil gracias por todo de verdad esto se los dedico con todo mi corazón estén donde estén.

Al señor TONY y familia por estar siempre pendiente de mi vida y por esos consejos gracias por ese cariño tan bonito que tienen hacia mi persona

### **A MIS AMIGOS**

A mis compañeros y amigos de la generación 2004-2009 de la carrera M.V.Z gracias por todos esos momentos y recuerdos durante nuestro aprendizaje, aunque se alejen y tal vez algunos de nosotros no nos volvamos a ver jamás, se quedan conmigo en los recuerdos, gracias por no solo ser mis amigos si no que ser como mis hermanos

A mis amigo Carlos Miguel Velásquez y Maria C. Navarro gracias por apoyarme incondicionalmente, gracias por escucharme cuando mas lo necesitaba y darme un consejo.

A ti Elvira que gracias a tus palabras a tu apoyo y esos momentos tan lindos que vivimos que fueron mi fortaleza y mis ganas de salir adelante y ser alguien en la vida gracias te deseo lo mejor en la vida

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco primeramente a DIOS por darme la vida para permitirme realizar este sueño de estudiar la carrera de Medico Veterinario Zootecnista

Mi más sincero agradecimiento al M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ, por brindarme la oportunidad para cumplir un sueño mas; agradezco su valioso tiempo, paciencia y sobre todo por ser un gran ejemplo a durante mi aprendizaje.

Al M.V.Z. JOSE GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, M.V.Z. M.C. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO y al M.V.Z. LUIS JAVIER PRADO ORTIZ que con su apreciable ayuda logre finalizar este trabajo que representa el final de una etapa y el inicio de una vida profesional.

Al M.V.Z. GERARDO SÁNCHEZ RAMÍREZ por su valioso tiempo y apoyo para la realización del trabajo de campo.

Al M. C. A. RAFAEL ÁVILA CISNEROS por su apoyo invaluable para la interpretación de resultados y realización de graficas

Sin faltar agradecer a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Regional Laguna por su cobijo a lo largo de toda mi carrera.

**ALMA TERRA MATER**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	2
2.1 Importancia del calostro bovino .....	2
2.2 Características físico-químico del calostro.....	3
2.3 Aspectos a evaluar en la administración del calostro a las becerras .....	6
2.3.1 Calidad.....	6
2.3.2 Cantidad .....	7
2.3.3 Tiempo .....	8
2.4 Avances tecnológicos que previenen la falla en la transferencia de inmunoglobulinas de la madre al ternero .....	8
2.4.1 Prueba de calostrometría .....	8
2.4.2 Almacenamiento del calostro .....	9
2.4.3 Pasterización del calostro .....	10
2.5 Transferencia de inmunoglobulinas al ternero .....	11
2.6 Falla de la transferencia de inmunoglobulinas.....	14
2.7 Factores asociados al ternero que determinan la falla en la transferencia de inmunoglobulinas.....	15
2.8 Factores asociados a la vaca que determinan la falla en la transferencia de inmunoglobulinas.....	16
2.9 Técnicas de determinación de inmunoglobulinas séricas en los terneros ...	18
2.9.1 Prueba de precipitación del sulfito de sodio .....	18
2.9.2 Prueba de refractometría .....	19
III. JUSTIFICACIÓN .....	21
IV. HIPÓTESIS.....	21
V. OBJETIVOS.....	21
5.1 Objetivo general.....	21
5.2 Objetivos Específicos.....	21
VI. MATERIALES Y METODOS .....	22
6.1 Materiales y reactivos.....	22
6.2 Lugar de estudio .....	22
VII. RESULTADOS.....	25
VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN.....	29
IX. REFERENCIAS .....	31

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Características y composición química del calostro y leche de ganado Holstein	5
<b>Cuadro 2.</b> Contenido de anticuerpos en leche de acuerdo al número de partos en ganado lechero	17
<b>Cuadro 3.</b> Resultados de proteínas totales tomados por refractometría y cantidad de inmunoglobulinas del suero por medio de la prueba de precipitación del sulfito de sodio	25
<b>Cuadro 4.</b> Variaciones representativas entre la prueba de refractometría y la técnica de sulfito de sodio usando la ecuación de regresión $y = a + bx$	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Permeabilidad de la mucosa intestinal en las primeras horas de vida del neonato	13
<b>Figura 2.</b> La pared celular y los espacios intersticiales se cierran tempranamente, 10 a 12 horas después del nacimiento, así que las inmunoglobulinas ya no pueden penetrar sin que sean primeramente divididos en aminoácidos, Cuando ya han sido partidas las globulinas pierden su efecto de protección	13
<b>Figura 3.</b> Eficiencia en la absorción de inmunoglobulinas	16
<b>Figura 4.</b> Preparación del sulfito de sodio en diferentes porcentajes	24
<b>Figura 5.</b> Precipitación del sulfito de sodio en diferentes porcentajes	25
<b>Figura 6.</b> Proporción de becerras que presentaron distintos niveles de inmunoglobulinas con la prueba de precipitación del sulfito de sodio	27
<b>Figura 7.</b> Variación entre la refractometría y le técnica de sulfito de sodio para la determinación de proteína plasmática en becerras Holstein usando la ecuación de regresión lineal	28

## RESUMEN

La falla de la transferencia pasiva se presenta muy frecuentemente en becerras y es una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en estos animales por esa razón es muy importante medir el grado de FTP para manejar correctamente a los becerros jóvenes. Tomando en cuenta que la mayoría de las explotaciones lecheras de la Comarca Lagunera utilizan un refractómetro para estimar la FTP la finalidad de este estudio fue medir las concentraciones séricas de proteínas totales mediante refractometría e inmunoglobulinas con la prueba de precipitación del sulfito de sodio para saber la variación que existe entre la proteína total y las inmunoglobulinas y así estimar correctamente la FTP. Se analizaron 36 sueros de becerras de 1 a 2 días de edad, procedentes de 4 establos de la Comarca Lagunera. Los resultados de refractometría y la prueba del sulfito de sodio se compararon y la variación entre estas dos fue de 82%, lo que indica que entre el refractómetro y la prueba del sulfito de sodio hay una buena atabilidad para saber correctamente la FTP. Los valores de proteína con la técnica de refractometría fueron de entre 4.5 a 8.8. g/100 mL y con la prueba del sulfito de sodio, se detectaron valores superiores a los 15 mg Ig/mL en 64%, entre 5 y 15 mg Ig/mL 22% y < 5 mg Ig/mL en 14%

**Palabras clave:** falla de la transferencia pasiva (FTP), Inmunoglobulinas (Ig), calostro, becerras, agammaglobulinémicos

## I. INTRODUCCIÓN

La importancia de una adecuada crianza de terneras radica no solamente en la disminución de la morbilidad y mortalidad a causa de enfermedades, sino en el economizar en recursos erogados por tratamientos, pérdidas por falta de desarrollo y retraso de la producción (**García et al., 2006**). La transferencia de inmunidad pasiva a través del calostro materno es fundamental para la salud y supervivencia del becerro en las primeras semanas de vida (**Quiroz et al., 1998**). Se denomina calostro a la primera secreción de la glándula mamaria de la vaca, después del parto, siendo éste el único alimento que dispone el ternero en sus primeros días de vida por sus propiedades nutritivas, laxantes y de defensa, por su alto contenido en inmunoglobulinas, (IgG, IgM, e IgA). La IgG representa del 75% a un 80 % del total y se divide entre 2 subclases, IgG1 e IgG2 (**Gulliksen et al., 2008, Jaster, 2005, Quiroz et al., 1998, Ross et al., 1995, Mero et al., 1997, Pritchett et al., 1994, Pritchett et al., 1991**). El calostro es una fuente importante de nutrientes, crecimiento y antimicrobial para el neonato (**Hammer et al., 2004, Gulliksen et al., 2008, Johnson et al., 2007**).

El intestino delgado del ternero recién nacido posee la capacidad de absorber moléculas grandes intactas, como las inmunoglobulinas y otras proteínas, solamente durante las primeras 24 horas de vida, transcurrido este tiempo, se da lo que se conoce como el cierre intestinal (**Elizondo, 2007a**). La FTI de la vaca a sus crías, vía calostrada, puede originarse por tres factores: a) factores inherentes a la vaca, b) factores inherentes a la cría, y c) factores propios del ambiente (**García et al., 2006**). Esta se refleja principalmente con bajas concentraciones de inmunoglobulinas en el suero IgG <10.0 mg/mL (**Swan et al., 2007**).

Es muy importante medir el grado de transferencia de inmunidad pasiva para manejar correctamente a los becerros jóvenes (**Quigley, 2001**). Existen varias pruebas para la determinación de inmunoglobulinas séricas en los terneros tales como; la de turbidimetría con sulfato de zinc y sodio, prueba de refractometría, prueba del glutaraldehído, prueba de electroforesis y prueba de la gamma-

glutamyl transpeptidasa (**Aricama et al., 2004, Medina, 1994, Quiroz et al., 1998, García et al., 2006**). El siguiente trabajo se realizó con la finalidad de conocer la relación que existe entre la proteína total e inmunoglobulinas mediante dos técnicas; la prueba del sulfito de sodio y la refractometría para determinar la falla de la transferencia pasiva en becerros de 0 a 48 horas de edad.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Importancia del calostro bovino

El calostro es la primera secreción de la ubre tras el parto en las hembras de los mamíferos lo que proporciona protección al sistema inmunológico del recién nacido por inmunidad pasiva (**Tsioulpas et al., 2007, Klobasa et al., 1998, Trujillo et al., 2007, Mero et al., 1997, Pritchett et al., 1994**). Es una fuente importante de nutrientes, crecimiento y antimicrobial para el neonato (**Hammer et al., 2004, Gulliksen et al., 2008, Johnson et al., 2007**). Resulta de una mezcla de secreciones lácteas y de constituyentes del suero sanguíneo, de inmunoglobulinas (IG) y otras proteínas séricas que se acumulan en la ubre antes del parto (**Domínguez, 2007**). A partir de la quinta semana preparto las inmunoglobulinas IgG1 e IgG2 son transportadas desde la sangre de la madre hacia la ubre por medio de un mecanismo de transporte muy específico. Este mecanismo mueve grandes cantidades de IgG (particularmente IgG1) desde la sangre hacia la ubre que es favorecida por la concentración de estrógenos y progesterona presentes en los últimos meses de gestación. Por consecuencia, la concentración de Ig en el suero sanguíneo de la madre disminuye de una forma precipitosa, comenzando alrededor de 2 a 3 semanas antes del parto. Las vacas requieren varias semanas para volver a sintetizar las inmunoglobulinas perdidas. Las IgM y la IgA son sintetizadas por los plásmidos en las glándulas mamarias (**Mero et al., 1997, Elizondo, 2007b, Medina, 1994**). El calostro es especialmente rico en inmunoglobulinas y cumple diversas funciones, entre las que destacan además del aporte de inmunoglobulinas, el aporte de energía y favorecer la eliminación de los

meconios (**Jaster, 2005, Gulliksen et al., 2008, Argüello et al., 1998, Elizondo, 2007a, Elizondo et al., 2008**).

Los anticuerpos o inmunoglobulinas son proteínas que se encuentran en el torrente sanguíneo, componentes del sistema inmunológico cuya función es neutralizar, opsonizar y ayudar a destruir bacterias, así como otras partículas extrañas que hayan invadido el cuerpo, el suministro de calostro, por lo tanto, es esencial en las primeras horas de vida, pues el nivel de inmunoglobulinas séricas en el neonato es un factor que determina la resistencia del mismo a enfermedades infecciosas (durante las primeras semanas y los primeros meses de vida) (**Aricada et al., 2004, Elizondo, 2007a, Blum et al., 1997, Campbell et al., 2007, Guy et al., 1994b, Johnson et al., 2007**). No sólo proporciona una inmunidad pasiva para el ternero recién nacido, si no también tiene efectos importantes sobre el desarrollo del intestino del neonato circunferencia, superficie, altura de las vellosidades y la altura / profundidad de las criptas en el duodeno son mayores para los terneros alimentados con calostro en comparación con aquellos terneros y cerdos que son privados del calostro (**Hammer et al., 2004, Hammon y Blum, 1997, Jensen et al., 2001**). La ingesta de calostro también tiene efectos sistémicos sobre el metabolismo y el estado endocrino de los recién nacidos (**Hammon y Blum, 1998, Rauprich et al., 2000**). Además la alimentación del neonato con calostro en cantidades altas durante 7 días estimula el crecimiento del tracto gastrointestinal y las actividades de la enzima digestivas del tracto gastrointestinal y páncreas comparados con una alimentación de solo 3 días de calostro como es usualmente (**Blattler et al., 2001, Prosser et al., 2004**). Los niveles de vitamina A y E se incrementan en el plasma de neonatos terneros después de la ingestión de calostro en las primeras horas de vida ya que una ingestión demasiada tardía puede traer como consecuencias la deficiencia de estas (**Blum et al., 1997, Rajaraman et al., 1997**).

## **2.2 Características físico-químico del calostro**

La cantidad, composición y características físico-químicas del calostro pueden variar por diversos factores, entre otros se cuentan variaciones individuales,

duración de la gestación y el período seco, intervalo entre partos, abortos, número de lactancias, raza del ganado, alimentación en el periodo preparto y edad de la vaca (**Tsioulpas et al., 2007**). Es extremadamente rico en inmunoglobulinas. La principal inmunoglobulina G del calostro es la IgG1 y estas son las que proporcionan inmunidad pasiva al ternero hasta que él desarrolle la propia (**Gulliksen et al., 2008, Jaster, 2005, Quiroz et al., 1998, Ross et al., 1995, Mero et al., 1997, Pritchett et al., 1994, Pritchett et al., 1991**). Las concentraciones de inmunoglobulinas en el calostro bovino son de IgM, (3.7–6.1 g/l), IgA (3.2–6.2 g/l), IgG1 (52–87 g/l) e IgG2. (1.6–2.1 g/l). Contiene cantidades altas de grasas, carbohidratos, proteínas, y péptidos; vitaminas liposolubles y varias enzimas, citocinas, poliaminas, caseína, todas estas sustancias son importantes para el crecimiento celular y salvo la lactosa, los niveles de estos compuestos rápidamente disminuyen durante los primeros 3 días de lactación (**Leyan et al., 2004, Hadorn et al., 1997, Godden et al., 2006, Blattler et al., 2001, Hammon y Blum, 1998, Quigley et al., 1995a, Roffler et al., 2003, Mero et al., 1997, Rauprich et al., 2000**). Además contiene minerales tales como (Ca), (Mg), (P), (Na), (K), (Fe), (Zn), (Cu) y (Mn) (**Kume y Tanabe, 1993**). Concentraciones altas de oligosacáridos (**Tsioulpas et al., 2007, Nakamura et al., 2003**). Nucleótidos (**Kehoe et al., 2007**). También contiene más de 10 inmunocélulas maternas viables por mililitro, incluyendo linfocitos T y B, neutrófilos, macrófagos (**Michael, 1980**). Factores de crecimiento insulínico (IGF-I y IGF-II) que estimulan el crecimiento celular aunque el IGF-I está en mayor concentración en el calostro bovino y biológicamente es más potente que IGF-II; así la concentración de IGF-I en el calostro bovino es de 200–2,000 µg/l considerando que la leche normal contiene <10 µg/l (**Roffler et al., 2003, Kehoe et al., 2007, Mero et al., 1997, Sauter et al., 2003, Rauprich et al., 2000**). Contiene hormonas como la insulina 1 a 50 ng/mg. (**Elizondo, 2007a, Arya et al., 1991, Bastian et al., 2001, Guy et al., 1994a, Hammon et al., 1999, Johnson et al., 2007, Mero et al., 1997**). La Prolactina y el cortisol que estimula la glucogénesis en el neonato para mantener una homeostasis de glucosa (**Hammon et al., 2003, Shutt y Fell, 1985**). También el calostro bovino cuenta con grandes cantidades de inhibidor de tripsina que

protege a las inmunoglobulinas y a otras proteínas del calostro para que las moléculas lleguen intactas al intestinos y puedan ser absorbidas y transfieran inmunidad al neonato ya que las inmunoglobulinas son muy sensibles a la tripsina (Quigley *et al.*, 1995a, Quigley *et al.*, 1995b, Santoro *et al.*, 2004).

**Cuadro 1.** Características y composición química del calostro y leche de ganado Holstein (Elizondo, 2007a, Domínguez, 2007).

Variable	Calostro (ordeño post-parto)			Leche
	1	2	3	
Gravedad específica	1,056	1,045	1,035	1,032
Sólidos totales, %	23,9	17,9	14,1	12,5
Grasa, %	6,7	5,4	3,9	3,6
Sólidos no grasos, %	16,7	12,2	9,8	8,6
Proteína total, %	14,0	8,4	5,1	3,2
Caseína, %	4,8	4,3	3,8	2,5
Albúmina, %	0,9	1,1	0,9	0,5
Inmunoglobulinas, %	6,0	4,2	2,4	0,09
IgG, g/dl	3,2	2,5	1,5	0,06
Nitrógeno no prot., %	8,0	7,0	8,3	4,9
Lactosa, %	2,7	3,9	4,4	4,9
Calcio, %	0,26	0,15	0,15	0,13
Potasio, %	0,14	0,13	0,14	0,15
Sodio, %	0,14	0,13	0,14	0,15
Vit A, µg/dl	295	190	113	34
Vit E, µg/g de grasa	84	76	56	15
Riboflavina, µg/ml	4,83	2,71	1,85	1,47
Colina, mg/ml	0,70	0,34	0,23	0,13

Aunque el enfoque principal del calostro ha estado en las inmunoglobulinas como el factor de antimicrobial contra los patógenos virus y bacterias para el neonato (Prosser *et al.*, 2004). Se ha reconocido recientemente otros factores de antimicrobiales estos incluyen proteínas como lactoferrina (provoca la carencia de hierro en las bacterias que son exigentes en este factor para su desarrollo), lactoperoxidasa (es indispensable para potenciar la actividad colibacilar de los anticuerpos calostrales) y lisozima (actúa sobre el peptidoglicano de la pared celular de las bacterias) (Yoshida *et al.*, 2000, Kume y Tanabe, 1993, Mero *et*

*al.*, 1997). Así como oligosacáridos (Nakamura *et al.*, 2003, Bezkorovainy, 1967). La lactoferrina ha mostrado poseer actividad inhibitoria contra *E. coli* del serotipo O.111: B4: H2 (Reiter *et al.*, 1975). Mientras que la lactosa es la principal fuente de energía para el neonato el calostro bovino contiene además sialoligosacáridos considerados como un factor antimicrobial que actúa contra rotavirus, reovirus, *Helicobacter pylori* y también neutraliza las toxinas de *Vibrio cholera*, además promueven el crecimiento de bifidobacterias en el tracto intestinal del neonato (Nakamura, Kawase *et al.* 2003).

## **2.3 Aspectos a evaluar en la administración del calostro a las becerras**

### **2.3.1 Calidad**

Está bien documentado que el calostro de buena calidad (es decir, que contienen altos niveles de inmunoglobulinas) administrados en las primeras horas de vida pueden disminuir la susceptibilidad de las enfermedades su morbilidad y mortalidad (Jones *et al.*, 2004, Gulliksen *et al.*, 2008, Jaster, 2005, Kehoe *et al.*, 2007, Quigley *et al.*, 2002, Wolfgang *et al.*, 1993). La calidad del calostro tiene relación con la concentración de inmunoglobulinas, es decir a mayor concentración de Ig será mayor la calidad del calostro, entre las causas de disminución de concentración de inmunoglobulinas calostrales y del calostro producido se encuentran el efecto del número de ordeños posparto, las infecciones sistémicas de la madre, acidosis metabólica y las deficiencias de proteínas y de minerales como el selenio en la ración alimenticia, número de lactancias, y estrés calórico (Quiroz *et al.*, 1998, Maunsell *et al.*, 1998, Aguade, 1996).

Para que sea un calostro de calidad se debe de recopilar cuidadosamente y con todas las medidas de higiene y solo se debe de recoger el primer ordeño después del parto, antes de congelar el calostro se debe de tomar la gravedad específica por otra parte el calostro de las vaquillas es de menor calidad (Arthington *et al.*, 2000a, Jones *et al.*, 1987). Para ser clasificado como un calostro de buena calidad las recomendaciones internacionales fijan como una concentración mínima

de 50g de IgG/L. **(Gulliksen et al., 2008)**. La relación entre gravedad específica del calostro y las inmunoglobulinas es similar en vacas Holstein, sin embargo, en vacas Jersey contienen una mayor concentración de inmunoglobulinas por lo tanto es de mejor calidad **(Jaster, 2005, Quigley y Martin, 1994b)**. Para seleccionar el mejor calostro (altas concentraciones de Ig) hay que medir la gravedad específica mediante un calostrómetro de campo **(Mechor y Grohn, 1991)**.

### **2.3.2 Cantidad**

La cantidad recomendada a administrar deberá representar al menos el 6% de su peso corporal **(Medina, 1994)**. Con lo que falta de transferencia pasiva en el ganado vacuno lechero podría ser minimizado al aportar grandes volúmenes (3 a 4 L), de calostro frescos o refrigerados en las primeras 24 h de vida **(Hopkins y Quigley, 1997, Maunsell et al., 1998)**. La cantidad de calostro consumido tiene relación directa con la transferencia de inmunidad pasiva ya que un consumo deficiente significaría dosis bajas de inmunoglobulinas calostrales **(Quiroz et al., 1998)**. Cuando el volumen de la IgG es constante, se absorben una mayor cantidad, por ejemplo, un 1L de calostro que contiene 100 mg de IgG/mL se absorbe con mayor eficiencia que 2 L de calostro que contiene 50 mg de IgG/mL **(Hammer et al., 2004, Hopkins y Quigley, 1997)**.

Además de ofrecer inmunidad el calostro también es fuente de energía ya que los terneros requieren de aproximadamente 110 g de inmunoglobulinas para una adecuada inmunidad pasiva **(Bush et al., 1981, Pritchett et al., 1994)**. Cuando los calostro maternos son deficientes se puede administrar reemplazo de calostro pero debe contener un mínimo de 100 g de IgG, es la dosis mínima recomendada para que en el diagnóstico de inmunoglobulinas G en suero sea >10 mg/mL, además debe contener nutrientes que proporcionen fuentes de proteínas, energía, vitaminas y minerales similar a los niveles que se encuentran en el calostro maternal bovino **(Swan et al., 2007)**.

El reemplazo de calostro demuestran ser una fuente eficaz principalmente por la reducción de transmisión de enfermedades infecciosas incluso del *Mycobacterium*

*avium* ssp. *paratuberculosis* (Swan et al., 2007). La toma oportuna de una cantidad suficiente de calostro, rico en inmunoglobulinas es esencial para que alcancen las concentraciones adecuadas de inmunoglobulina en suero (Elizondo, 2007b). Si los terneros no reciben bien la cantidad suficiente de calostro caen en una hipogammaglobulinemia (Kamada et al., 2007).

### 2.3.3 Tiempo

Preferentemente se le debe alimentar al ternero con un calostro de buena calidad en los primeros 30 minutos de vida después del nacimiento por medio de chupón o por medio de una sonda esofágica y ofrecer una segunda toma entre las 8 a 12 horas de edad (Elizondo, 2007b, Hammer et al., 2004). La mayor concentración de inmunoglobulinas de calostro en el suero de los terneros se encuentra a los pocos días de nacida y se presenta una disminución paulatina en los niveles de inmunoglobulinas durante las primeras semanas de edad, se ha indicado que la vida media de la principal Ig del suero, la IgG, es de 17 a 21 días (Aguade, 1996).

## 2.4 Avances tecnológicos que previenen la falla en la transferencia de inmunoglobulinas de la madre al ternero

### 2.4.1 Prueba de calostrometría

En 1980 se describe una prueba con un hidrometro para estimar las concentraciones de inmunoglobulina en el calostro bovino por medio de la gravedad específica del calostro entero, el hidrometro es calibrado en las concentraciones de inmunoglobulinas a intervalos de 5 mg/mL de 0 a 180 mg/mL (Pritchett et al., 1994, Nocek et al., 1984). La prueba de la calostrometría se basa en la alta correlación que existe entre la gravedad específica del calostro y el contenido total de inmunoglobulinas, la proteína total y los sólidos totales en el mismo, a mayor densidad del calostro, mayor concentración de anticuerpos y viceversa, la prueba se realiza por medio de un calostrómetro, que es un lactodensímetro especialmente diseñado para medir la gravedad específica del calostro de la vaca y por lo tanto conocer el contenido de inmunoglobulinas, IgG, IgM e IgA (Medina, 1994).

Para la realización de la prueba se siguen los siguientes pasos:

- a) Se colecta una muestra de calostro de primer ordeño en un recipiente que tenga 35 a 40 centímetros de altura, por ejemplo, una probeta de 500mL.
- b) El calostrómetro se pone a flotar en la muestra separando la espuma de la superficie para evitar falsas lecturas.
- c) Se leen escalas cualitativas (en colores) y la cuantitativa en miligramos mililitros del calostrómetro en un punto de la columna que emerge del calostro y se anotan las lecturas.
- d) El calostrómetro se lava con agua caliente, se seca y se guarda

Se destinaron tres regiones de calidad:

- Pobre: color rojo, con una gravedad específica menor a 1.035, y con una concentración de inmunoglobulinas < de 22 mg/mL de calostro.
- Mediocre: color amarillo, con una gravedad de 1.035 a 1.047, y con una concentración de inmunoglobulinas de 22 a 50 mg/mL de calostro.
- Excelente: color verde con gravedad específica 1.047 a 1.075 y concentraciones de anticuerpos de 50 a 123 mg/mL de calostro. **(Medina, 1994, Pritchett *et al.*, 1994, Nocek *et al.*, 1984, Elizondo, 2007b).**

#### **2.4.2 Almacenamiento del calostro**

El almacenamiento de calostro a temperaturas del medio ambiente, con o sin los aditivos químicos, ha producido cambios en las características físicas, pérdidas de nutrientes, y los problemas ocasionales de aceptabilidad en los terneros **(Carlson y Muller, 1976)**. El calostro puede ser refrigerado a 4 °C por una semana sin que pierda su calidad por otra parte se puede congelar a menos 20 °C el calostro así retiene un máximo de nutriente e inmunoglobulinas hasta por una año y no sufre cambios de pH, acidez, contenido de grasas, sólidos totales, nitrógeno total, nitrógeno no proteico y vitamina A **(Foley y Otterby, 1979, Yu *et al.*, 1975,**

**Klobasa et al., 1998**). El calostro almacenado, cuando se va a suministrar a las terneras, se puede descongelar ya sea en agua tibia 45 a 50 °C o en un horno de microondas cuidadosamente sin sobrecalentarlo ya que esto podría degradar las inmunoglobulinas y otras proteínas dando como resultado un calostro de baja calidad (**Elizondo, 2007b**). La estrategia sugerida para prevenir la proliferación bacteriana en el calostro puede incluir la congelación, refrigeración y el uso de agentes preservativos como el sorbate de potasio en el calostro fresco refrigerado (**McMartin et al., 2006**).

Un estudio de las industrias lácteas comerciales, informó que el 82% de las muestras del calostro recogido supero las 100.000 ufc/mL, lo que sugiere que la alimentación con calostro contaminados es una ocurrencia común en la lechería comercial las explotaciones agrícolas (**Godden et al., 2006, McMartin et al., 2006**). El calostro fresco además puede contaminarse con patógenos como (*Salmonella spp.*, *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis*, *Escherichia coli*, *Mycoplasma spp* , *Staphylococcus aureus*, Diarrea viral bovina y leucemia bovina,, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.* y el agente causal de la enfermedad de Johne's Aumentando el riesgo de transmisión de la enfermedad al neonato (**Reiter et al., 1975, Ferrer y Piper, 1981, Campbell et al., 2007, Godden et al., 2006, Johnson et al., 2007, McMartin et al., 2006, Trujillo et al., 2007, Swan et al., 2007**)

#### **2.4.3 Pasterización del calostro**

Las bacterias pueden afectar la salud de las terneras de varias maneras: en primer lugar compiten por los sitios de absorción de las inmunoglobulinas. En la explotación se a sugerido la pasteurización del calostro como una posible medida de control para reducir o eliminar la transferencia de patógenos a los neonato, con éxito se ha inactivado el virus del inmunodeficiente bovino con un tratamiento del calostro de 30 minutos a 47 °C también se logro la destrucción total de *Mycobacterium avium ssp. parartuberculosis* en el calostro bovino después de un tratamiento de pasterización de 65.5 °C durante 30 minutos, además no se encontró ningún *Mycoplasma bovis*, *L. monocytogenes* E. coli 0157:H7 y

*Salmonella enteritidis* viable después de un tratamiento al calostro bovino a 30 minutos a 60 °C (Trujillo *et al.*, 2007). Sin embargo, la pasteurización del calostro a 72 °C durante 15 minutos es método de flujo continuo de pasteurización HTST reduce de un 25 a 30% en la concentración de IgG (mg/mL) en el calostro lo que es inaceptable como características de alimentación para el ternero (Godden *et al.*, 2006, Johnson *et al.*, 2007, McMartin *et al.*, 2006). Ya que desnaturaliza las inmunoglobulinas porque son termolábiles. Por el contrario no observaron diferencias en la concentración de IgG calostrual tras una pasteurización a 55 °C durante 30 minutos (Castro *et al.*, 2005). Está demostrado que en el calostro caprino un tratamiento de 60 minutos a 56 °C inactiva el virus de artritis encefalitis caprino, con éxito también (Trujillo *et al.*, 2007). Las inmunoglobulinas proporcionan la protección adecuada que puede variar con la exposición a organismos infecciosos debido al, el estrés, el medio ambiente, la temperatura (Jaster, 2005, Quigley y Martin, 1994a).

## 2.5 Transferencia de inmunoglobulinas al ternero

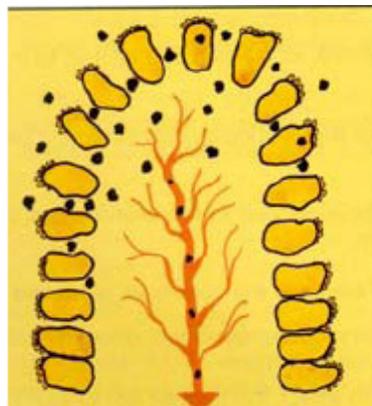
La adquisición de inmunoglobulinas por parte del becerro se denomina “inmunidad pasiva” esta se adquiere con la transferencia de inmunoglobulinas a través del calostro materno, esto fundamental para la salud y supervivencia del neonato en las primeras horas de vida, en contraste, la formación de anticuerpos endógenos se conoce como “inmunización activa” que lleva a la “inmunidad activa” (Nardone *et al.*, 1997, Quiroz *et al.*, 1998, Quigley *et al.*, 1998, Maunsell *et al.*, 1998, Nocek *et al.*, 1984). Los terneros nacen prácticamente privados de inmunoglobulinas sanguíneas lo que se conoce como agammaglobulinemicos, pero también nacen hipoglucemicos o sin energía y depende directamente de la absorción de calostro que es rico en energía y de inmunoglobulinas calostrales especialmente de IgG1 que es las mas importante para la inmunidad pasiva (Hammon *et al.*, 2003, Hopkins y Quigley, 1997, Jones *et al.*, 1987, Quigley *et al.*, 2002, Brignole y Stott, 1980, Aguade, 1996). Al ingerir el calostro con las inmunoglobulinas, se produce la transferencia pasiva, y se adquiere la inmunidad pasiva, las inmunoglobulinas calostrales se absorben en el intestino delgado por

micropinocitosis a través de las células columnares de tipo fetal en el intestino del becerro, se produce en forma no selectiva. La habilidad de los enterocitos de absorber moléculas grandes por medio de endocitosis es particularmente importante para el neonatos (lechones, corderos, terneros y potros) (**Jensen et al., 2001**). En el intestino delgado, las inmunoglobulinas G pasan a través del epitelio mediante un proceso de transcitosis. La superficie apical de los enterocitos del intestino delgado expresa un receptor al cual se unirán las inmunoglobulinas G. Los complejos IgG-receptor se interiorizan mediante endocitosis, formando como vesículas transcitóticas en el aparato de Golgi. Estas vesículas son transportadas a la superficie basolateral de la célula, donde se fusionan con la membrana plasmática. Por último, el receptor y las IgG se disocian y las IgG que son liberadas pasan a los capilares linfáticos e intestinales. Las IgG se unen con los receptores en la zona apical de la célula pero la liberación tiene lugar en la superficie basolateral, lo cual se cree que se produce en respuesta a cambios de pH entre dos superficies celulares; la zona apical es relativamente más ácida y la basolateral neutra (**Kruse, 1983, Dunlop y Henri, 2004**). De esa manera son transportadas hasta los vasos linfáticos y a continuación en la circulación de la sangre a través de la conducto torácico (mecanismo de transferencia pasiva) (**Jaster, 2005**). En función de esto, las inmunoglobulinas A del tipo secretor (IgAS) son detectadas en la circulación del becerro de menos de una semana de vida, después de lo cual los niveles disminuyen ya que son transportadas a las secreciones epiteliales del tracto gastrointestinal (**Medina, 1994**). Este proceso es muy rápido de tal forma que se pueden detectar inmunoglobulinas en el conducto linfático torácico en 80 – 120 minutos de haber ingerido el calostro. En 24 horas las células epiteliales de tipo fetal, han sido reemplazadas en su totalidad por células incapaces de absorber inmunoglobulinas. En promedio las IgG dejan de absorberse a las 72 horas después del nacimiento, las IgM a las 16 horas y las IgA a las 22 horas (**Singer, 2001, Medina, 1994**).

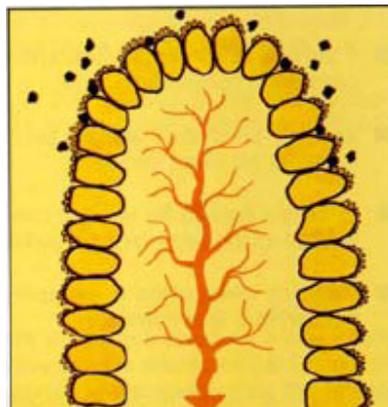
El calostro debe ser ingerido antes de la llegada de bacterias patógenas al epitelio intestinal, de lo contrario la *E. coli* se adhiere a las células epiteliales del intestino,

inhibiendo la absorción y la adherencia de anticuerpos del calostro (**Medina, 1994**).

El cierre del intestino se produce en el momento en que las macromoléculas no se absorben intactas a través del epitelio intestinal. Además el cierre también ocurre más rápidamente en aquellos animales a los que se les a proporcionado calostro de forma temprana (Figura 1 y 2) (**Dunlop y Henri, 2004**).



**Figura 1.** Permeabilidad de la mucosa intestinal en las primeras horas de vida del neonato (**Singer, 2001**).



**Figura 2.** La pared celular y los espacios intersticiales se cierran tempranamente, 10 a 12 horas después del nacimiento, así que las inmunoglobulinas ya no pueden penetrar sin que sean primeramente divididos en aminoácidos, Cuando ya han sido partidas, las globulinas pierden su efecto de protección (**Singer, 2001**).

## 2.6 Falla de la transferencia de inmunoglobulinas

El bovino es una especie con placenta epiteliochorial esta circunstancia impide que las inmunoglobulinas sean traspasadas al feto durante la gestación, como ocurre en otras especies por lo tanto los neonatos requieren asistencia inmune pasiva a través del calostro materno inmediatamente después del nacimiento, la falla de transferencia de inmunoglobulinas es el término dado para referirse a una deficiencia en el paso de estas de la madre al becerro **(Nocek et al., 1984, Quiroz et al., 1998, Quigley y Martin, 1994b, Quigley et al., 1995a)**.

Prácticamente no hay inmunoglobulinas presente en el suero al nacimiento reflejándose el fracaso de la transferencia pasiva en una baja concentración de inmunoglobulinas que está asociado directamente con la morbilidad y mortalidad de los terneros **(Hadorn et al., 1997, Arya et al., 1991, Blattler et al., 2001, Franklin et al., 2003, Guy et al., 1994b, Hammer et al., 2004)**. Esto predispone a los animales a que diversas infecciones como la onfalitis, onfaloflebitis, artritis séptica, septicemia **(Rajaraman et al., 1997, Quiroz et al., 1998)**. Neumonías y enteritis que cursan con diarrea **(Quiroz et al., 1998, Mechor y Grohn, 1991, Ross et al., 1995, Aguade, 1996, Kamada et al., 2007)**. Y con ello la transferencia de inmunoglobulinas representa para los neonatos una garantía de viabilidad en el medio, por lo tanto la falla en la transferencia pasiva de anticuerpos se refleja directamente en la generación de pérdidas económicas por muerte y enfermedades de los terneros **(Kamada et al., 2007)**. Esta se refleja principalmente con bajas concentraciones de inmunoglobulinas en el suero IgG <10.0 mg/mL teniendo un impacto negativo sobre la salud del ternero y se agrava cuando existen <5 mg/mL, por el contrario existe una transferencia adecuada cuando existen 15 mg/mL o niveles superiores **(Swan et al., 2007)**. Las concentraciones bajas de inmunoglobulinas en sangres están directamente relacionadas a la morbilidad, mortalidad y el fracaso de la transferencia pasiva del ternero **(Arthington et al., 2000b, Quigley y Martin, 1994a, Kehoe et al., 2007, Quigley et al., 1998, wolfgang et al., 1993)**. Los becerros con baja titulación de anticuerpos deben protegerse de la exposición a agentes patógenos **(Medina,**

**1994).** La falla de la transferencia pasiva tienen además, comparativamente, con aquellos en la cual no existe la falla de la transferencia una ganancia media diaria menor, una mayor mortalidad postnatal, una reducción en la primera producción láctea y un aumento de las tasas de mortalidad **(Dunlop y Henri, 2004).**

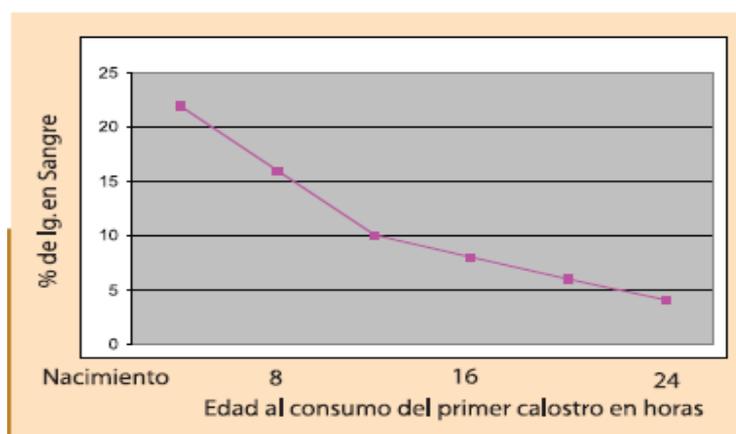
En el caso del ganado caprino, se ha evaluado cual es la concentración sérica de anticuerpos tras la ingestión de los calostros necesaria para evitar el síndrome de fallo de la transferencia de la inmunidad pasiva, estimándose entre 800 y 1200 mg/dl **(Argüello et al., 1998).**

## **2.7 Factores asociados al ternero que determinan la falla en la transferencia de inmunoglobulinas**

El amamantamiento tardío de pequeños volúmenes de calostro, es la causa más importante de la falla de la transferencia de inmunoglobulinas en los sistemas de amamantamiento naturales **(Medina, 1994).** Además de una toma oportuna de calostro, la concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo depende también de la cantidad de inmunoglobulinas consumidas, la cual depende del volumen de calostro consumido, la concentración de inmunoglobulinas en el calostro y la eficiencia de absorción de inmunoglobulinas en el intestino **(Maunsell et al., 1998, Elizondo, 2007b).** También el tiempo transcurrido del nacimiento a la primera toma de calostro del ternero es un factor importante en la falla en la transferencia de inmunoglobulinas **(Pritchett et al., 1991, Aguade, 1996).**

Hay tres causas por las cuales fracasa la transferencia adecuada del calostro; en primera instancia, éste puede ser insuficiente o de mala calidad y tiempo de servicio **(Campbell et al., 2007, Arthington et al., 2000b).** También puede existir suficiente calostro, pero la ingestión por el recién nacido es inadecuada ya que las terneras son capaces de absorber inmunoglobulinas del calostro por un periodo limitado después del nacimiento, y la tercera causa, independiente de las anteriores, es la falla en la absorción intestinal **(Aricada et al., 2004, Elizondo, 2007a, Brignole y Stott, 1980, Kamada et al., 2007).** El intestino delgado de la ternera recién nacida posee el mecanismo de pinocitosis por medio de la cual la mucosa intestinal absorbe moléculas grandes intactas, como inmunoglobulinas y

otras proteínas, solamente durante las primeras 24 a 36 horas de vida transcurrido este tiempo, se da lo que se conoce como cierre intestinal (Figura 3) , por esta razón, alcanzar un consumo temprano y adecuado de un calostro de alta calidad, es el factor independiente más importante de manejo que determina la salud y sobrevivencia de las terneras (**Jones et al., 1987, Jones et al., 2004, Elizondo, 2007a, Arthington et al., 2000a, Hammer et al., 2004, Quiroz et al., 1998, Kamada et al., 2007**). Por otra parte la capacidad de los teneros de absorción intestinal es más bajo cuando son alimentados con sustituto de leche que aquellos alimentados con calostro (**Blattler et al., 2001**).



**Figura 3.** Eficiencia en la absorción de inmunoglobulinas (**Domínguez, 2007**).

Sin embargo, recientemente se ha sugerido que la contaminación bacteriana juega también un papel importante (**Elizondo et al., 2008, Johnson et al., 2007**). También la presencia de bacterias en el intestino delgado en el momento de la llegada calostro puede indirectamente interferir con la absorción sistémica moléculas de inmunoglobulinas, daño a la salud del ternero, y contribuyendo así a el fracaso de la transferencia pasiva (**Godden et al., 2006**).

## **2.8 Factores asociados a la vaca que determinan la falla en la transferencia de inmunoglobulinas**

Una conformación y posición deficientes de ubres en la vaca lechera tiene influencia negativa sobre la habilidad de la cría para mamar y abastecerse de calostro directamente de las ubres maternas (**Medina, 1994**).

La transmisión de inmunoglobulinas hacia el calostro termina al momento del parto por lo tanto el calostro ordenado inmediatamente después del parto contiene la mayor concentración de gammaglobulinas, en comparación con los calostros que se obtienen a diferentes ordeños postparto, es importante recalcar como la concentración de inmunoglobulinas, proteínas y péptidos disminuye rápidamente después del inicio de la lactancia. Igualmente, la concentración de Ig disminuye significativamente en los ordeños subsecuentes (**Elizondo, 2007a, Yrew, 2001, Maunsell et al., 1998, Rauprich et al., 2000, Nocek et al., 1984**). El numero de parto o lactancia determina en forma importante el volumen de calostro producido este efecto consiste en una cantidad superior total de calostro en las vaquillas de primer parto en relación a las de mas partos, las vacas después de su tercera lactancia tienden a tener una mayor concentración de inmunoglobulinas calostrales (Cuadro 2) (**Aricada et al., 2004, Gulliksen et al., 2008, Jaster, 2005**).

La presencia materna puede influir sobre la eficiencia en la absorción de inmunoglobulinas, la presencia del becerro con su madre durante cuando menos 24 horas incrementa la concentración de inmunoglobulinas séricas (**Medina, 1994**). También a mastitis subclínica preparto por *Staphylococcus aureus* tiene un impacto negativo sobre la concentración del volumen de calostro producido y de las concentraciones de inmunoglobulinas en el calostro bovino y también reduce la calidad además la gravedad especifica es más baja (**Keys et al., 1980, Maunsell et al., 1998**).

**Cuadro 2.** Contenido de anticuerpos en leche de acuerdo al número de partos en ganado lechero (**Domínguez, 2007**).

Número de partos	Porcentaje de anticuerpos
Primero	5.9
Segundo	6.3
Tercero	8.2
Más de cuatro	7.5

## **2.9 Técnicas de determinación de inmunoglobulinas séricas en los terneros**

Existen varias pruebas para la determinación de inmunoglobulinas séricas en los terneros tales como; la de turbidimetría con sulfato de zinc y sodio, prueba de refractometría, prueba del glutaraldehido, prueba de electroforesis y prueba de la gamma-glutamyl transpeptidasa (**Aricada et al., 2004, Medina, 1994, Quiroz et al., 1998, García et al., 2006**).

### **2.9.1 Prueba de precipitación del sulfito de sodio**

La prueba de precipitación de sulfito de sodio, es efectiva y rápida, mediante ésta es posible tamizar un elevado número de crías en un mínimo tiempo, y con un equipo básico, lo cual hace posible su utilización en condiciones de campo (**García et al., 2006, Medina, 1994**). La de sulfito de sodio es útil cuando se usa en animales de 24 horas a tres semanas de edad.

Para su realización, se preparan tres soluciones de sulfito de sodio al 14%, 16% y 18% con agua destilada. Se colocan 1.9 mL de cada solución en tres tubos de ensayo (3-5 mL) y se añade 0.1 mL del suero del becerro a cada uno de los tubos, mezclando perfectamente el contenido.

Se basa en la precipitación de las inmunoglobulinas del suero por las sales del sulfito de sodio, con una confiabilidad aproximada del 93%. En caso de titulación de inmunoglobulinas se observará turbidez en forma inmediata y la formación de un precipitado al cabo de 30 a 60 minutos. (**García et al., 2006, Medina, 1994**).

Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

Precipitación en los tubos con 14, 16 y 18 = 15 mg Ig/ mL de suero, lo que indica que estos animales han absorbido cantidades adecuadas y sus posibilidades de supervivencia son altas bajo condiciones adecuadas de manejo; estos terneros difícilmente desarrollan enfermedad ya que responden favorablemente al tratamiento; su expectativa de mortalidad es aproximadamente del 3% (**García et al., 2006, Medina, 1994**).

Precipitación en los tubos con 16 y 18% = 5 – 15 mg Ig/mL de suero, indica que las terneras han absorbido inmunoglobulinas aunque en cantidades insuficientes. Aproximadamente el 10% de los animales morirán a consecuencia de enfermedades neonatales como la diarrea aunque el tratamiento médico puede salvar algunos de ellos. **(García et al., 2006, Medina, 1994).**

Precipitación en el tubo con 18% o ninguna precipitación. < 5 mg Ig/mL de suero, señalan que los terneros no han absorbido inmunoglobulinas y al estar expuestos a organismos patógenos sucumbirán con relativa facilidad, la expectativa es de 25% de mortalidad a consecuencia de septicemias causadas por patógenos, no obstante de recibir tratamiento médico **(García et al., 2006, Medina, 1994).**

### **2.9.2 Prueba de refractometría**

Mide la proteína total y constituye un método indirecto para la estimación de inmunoglobulina en el suero. Esta prueba es eficaz cuando se utiliza en el becerro no deshidratado, mayor de 24 horas y menor de tres semanas de edad **(Medina, 1994).**

La prueba se realiza de la siguiente manera:

- 1.- Se mantiene el instrumento en posición horizontal.
- 2.- Procedimiento para la carga:
  - a. Con la placa protectora colocada sobre el prisma de medición se pone una gota de suero o plasma en la porción expuesta, lo más cerca posible de la placa, para que el líquido caiga por acción capilar en el espacio que queda entre los prismas.
  - b. Otro procedimiento es mover la placa sobre el cuerpo del instrumento para exponer tanto el prisma como la placa protectora, colocando la muestra de suero sobre el prisma de medición. Inmediatamente se cierra la placa protectora sobre el prisma de medición para reducir la evaporación.
  - c. Para sostener el instrumento y hacer la lectura se presiona la cubierta de plástico con suavidad pero firmemente; así se disemina el volumen mínimo

de la muestra en una capa delgada y uniforme sobre el prisma, se expone a una luz brillante.

- d. El contraste óptimo entre la luz y el límite oscuro se obtiene manteniendo el instrumento en la inclinación adecuada respecto a la fuente luminosa.
- e. Se pone la escala observada en un foco claro moviendo el ocular.
- f. La lectura se hace en el punto donde la línea divisoria entre los campos oscuros y luminosos cruza la escala adecuada (**Máxime, 1991**).

3.- Se lee la titulación de la proteína total a partir de la escala del refractómetro graduada en g/l y sus resultados se interpretan de la siguiente manera:

- Proteína total, 5 g/100 mL de sangre: este tipo de becerros no han absorbido inmunoglobulinas y al estar expuestos a organismos patógenos sucumbirán con relativa facilidad. En este grupo de animales cuando menos 25% muere a consecuencia de septicemias causadas por patógenos *E. coli* a pesar de recibir tratamiento.
- Proteína total entre 5 y 6 g/ 100 mL de sangre: este tipo de animales han absorbido inmunoglobulinas aunque en cantidades insuficientes. Aproximadamente 10% de los animales con esta titulación de proteína mueren a consecuencia de diarrea neonatal. Es decir el tratamiento médico adecuado puede salvar a mayor número de animales que en el grupo anterior.
- Proteína total, 6 g/ 100 mL de sangre: estos animales han absorbido cantidades adecuadas de inmunoglobulinas; sus posibilidades de supervivencia son altas bajo condiciones adecuadas de manejo. Estos becerros difícilmente desarrollan enfermedad, ya que responden favorablemente al tratamiento. La mortalidad en este grupo es de aproximadamente 3 % (**Medina, 1994**).

La deshidratación en el becerro produce lecturas elevadas falsas, como en el caso del becerro hipogamaglobulinémico deshidratado que muestra resultados de mayor de 6 g / 100 mL (**Medina, 1994**).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Tomando en cuenta que la mayoría de los establos lecheros de la región lagunera utilizan la técnica de refractometría en becerros de 1 a 2 días de edad para estimar la falla de la transferencia de inmunidad pasiva, la finalidad de la presente investigación es comparar ésta técnica con la prueba de sulfito de sodio para estimar la cantidad de inmunoglobulinas, a partir del total de proteínas con el refractómetro de campo, que son absorbidas por las becerros e inferir el grado de inmunidad adquirida por medio del calostro.

### **IV. HIPÓTESIS**

Los valores de proteínas plasmáticas analizados mediante la refractometría son proporcionales a los niveles de inmunoglobulinas detectados con la prueba de sulfito de sodio en suero de becerros.

### **V. OBJETIVOS**

#### **5.1 Objetivo general**

a. Determinar los niveles de proteína plasmática en suero de becerros recién nacidas para evaluar la transferencia de la inmunidad pasiva de la vaca a la cría.

#### **5.2 Objetivos Específicos**

a. Medir los niveles de proteína plasmática en suero de becerros de 1 a 2 días de edad, utilizando la técnica de refractometría.

b. Medir los niveles de inmunoglobulinas en suero de becerros de 1 a 2 días de edad, utilizando la técnica de sulfito de sodio.

c. Comparar y correlacionar los resultados obtenidos con ambas técnicas.

## VI. MATERIALES Y METODOS

### 6.1 Materiales y reactivos

- Tubos de ensayo (al alto vacío) de 3 a 5 mL
- Agujas vacutainer
- Adaptador para agujas
- Jeringas de 5 a 10 mL
- Refractómetro
- Frascos con tapón
- Agua destilada
- Tubos Eppendorf
- Centrifuga
- Gradilla
- Pipeta Pasteur
- Pipeta graduada de 10 mL
- Probeta
- Sulfito de sodio al 14, 16 y 18%

### 6.2 Lugar de estudio

**Fase de campo:** Se obtuvieron 36 muestras de sangre sin anticoagulante mediante punción en la vena yugular, de becerros de 1 a 2 días de edad y se recuperaron en tubos de ensayo al alto vacío. El suero se separó del coágulo y se practicó inmediatamente la prueba de refractometría, con un refractómetro. Previamente las becerros habían sido alimentadas con calostro de primera calidad una hora después del nacimiento, subsecuentemente después se les administró calostro a las 8 a 12 horas de nacidas. Con la placa protectora, del refractómetro, colocada sobre el prisma de medición se puso una gota de suero en la porción expuesta del refractómetro, para hacer la lectura se presionó la cubierta de plástico con suavidad pero firmemente para diseminar el volumen mínimo de la muestra en una capa delgada y uniforme sobre el prisma, y se expuso a la luz. La lectura se realizó en el punto donde la línea divisoria entre los campos, oscuro y

luminoso y se interpretaron los resultados. Se prosiguió a trasladar las muestras en refrigeración, para la fase de laboratorio.

El estudio se llevó a cabo en 4 establos lecheros de la Comarca Lagunera, comprendida entre los estados de Durango y Coahuila, la cual se localiza en la parte central de la porción norte de México. Se encuentra entre los meridianos 101 40 y 104 45 de longitud Oeste, y los paralelos 25 05 y 26 54 de Latitud Norte. La altitud de esta región sobre el nivel del mar es de 1140 mts. La precipitación pluvial promedio anual oscila entre los 200 y los 250 mm<sup>3</sup>. El clima de la región se clasifica como seco extremo.

**Fase de laboratorio:** En ésta fase se realizaron los análisis en la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Regional Laguna, ubicada en la carretera a Santa Fe y periférico Raúl López Sánchez, en la ciudad de Torreón, Coahuila, para la determinación de inmunoglobulinas en suero con la técnica de sulfito de sodio. El periodo experimental comprendió del 21 de abril de 2010 a 15 de mayo de 2010.

Las muestras de suero se transportaron y mantuvieron a 4 °C durante 18 a 24 horas, se separó el suero del coágulo mediante centrifugación a 2500 rpm, se almacenó el suero en tubos Eppendorf y se congeló hasta su análisis con la técnica de sulfito de sodio.

Para la prueba de sulfito de sodio se prepararon tres soluciones de sulfito de sodio al 14%, 16% y 18% en agua destilada (figura 4)

**Procedimiento:**

- a. Para la preparación del sulfito de sodio en los diferentes porcentajes se utilizó agua destilada para la disolución.
  - 100 mL de agua destilada mas 14 gramos de sulfito de sodio se obtenía la concentración al 14% de sulfito de sodio
  - 100 mL de agua destilada mas 16 gramos de sulfito de sodio se obtenía la concentración al 16% de sulfito de sodio

- 100 mL de agua destilada mas 18 gramos de sulfito de sodio se obtenía la concentración al 18% de sulfito de sodio
- a) Se colocaron 1.9 mL de cada solución en tres tubos de ensayo ( con capacidad de 3 a 5 mL)
- b) Se añadió 0.1 mL de suero problema (por becerro) a cada uno de los tubos
- c) Se mezcló perfectamente el contenido de los tubos



**Figura 4.** Preparación del sulfito de sodio en diferentes porcentajes.

**Interpretación:**

En caso de haber titulación de inmunoglobulinas (Ig) se observará turbidez de forma inmediata y precipitación unos 30 a 60 minutos después de iniciada la prueba.

Si precipita en la solución de sulfito de sodio al 18%, o no hay precipitación los valores serán de < 5 mg Ig/mL

Si precipita en la solución de sulfito de sodio al 16% y al 18%, los valores serán de entre 5 a 15 mg Ig/mL

Si precipita en la solución de sulfito de sodio al 14%, los valores serán > 15 mg Ig/mL

## VII. RESULTADOS

Se trabajaron 36 muestras de sangre de becerras de 1 a 2 días edad de diferentes establos de la Comarca Lagunera habiéndole suministrado calostro previamente. En el Cuadro 3 se muestran los resultados de proteínas totales tomados con refractometría, y cantidad de inmunoglobulinas del suero por medio de la prueba de precipitación del sulfito de sodio.

Los valores de proteína con la técnica de refractometría fueron de entre 4.5 a 8.8. g/100 mL, la interpretación de los resultados de la prueba de precipitación del sulfito de sodio se basó mediante la precipitación, durante 30 a 60 minutos, del sulfito de sodio (figura 5).



**Figura 5.** Precipitación del sulfito de sodio en diferentes porcentajes

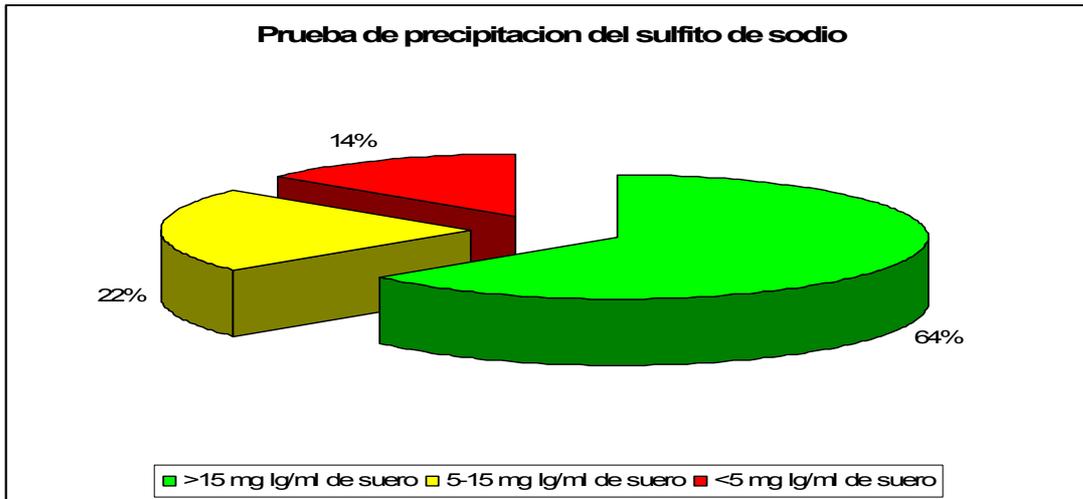
**Cuadro 3.** Resultados de proteínas totales tomados por refractometría, y cantidad de inmunoglobulinas del suero por medio de la prueba de precipitación del sulfito de sodio.

Nº. Animal	Refractometria	precipitación del sulfito de sodio			observaciones
	g/100ml	14%	16%	18%	mg Ig/ml
6471	6.9	+	+	+	>15
3323	6.2	-	+	+	5-15
3337	8	+	+	+	>15
4000	6.8	+	+	+	>15
649	6.4	-	+	+	5-15
6472	6.3	-	+	+	5-15
679	8	+	+	+	>15
6473	6.4		+	+	5-15
2370	8.8	+	+	+	>15
159	6.4	-	+	+	5-15
648	5.5	-	-	+	<5
6476	6.6	+	+	+	>15

Nº. Animal	Refractometria	precipitación del sulfito de sodio			observaciones
	g/100ml	14%	16%	18%	mg Ig/ml
6475	7.8	+	+	+	>15
158	6.4	-	+	+	5-15
3000	6.5	+	+	+	>15
3590	8.3	+	+	+	>15
12	7.5	+	+	+	>15
2000	7.3	+	+	+	>15
3539	7.1	+	+	+	>15
15	5	-	-	+	<5
693	6.6	+	+	+	>15
3583	6.5	+	+	+	>15
3493	6.8	+	+	+	>15
3429	4.5	-	-	+	<5
3585	7.6	+	+	+	>15
2489	7	+	+	+	>15
3379	6.6	+	+	+	>15
3112	6.2	-	+	+	5-15
3763	5	-	-	+	<5
3007	6.5	+	+	+	>15
2370	6.5	+	+	+	>15
4115	6	-	+	+	5-15
1000	7	+	+	+	>15
3607	7	+	+	+	>15
6474	7	+	+	+	>15
2000	4	-	-	+	<5

Como era de esperar, las becerras mostraron variados niveles de Inmunoglobulinas en el suero, determinado con la prueba del sulfito de sodio, detectándose valores superiores a los 15 mg Ig/mL en el 64% del total de muestras analizadas, mientras que en el 22 % se observaron entre 5 y 15 mg Ig/mL y 14% de las muestras tuvieron niveles de < 5 mg Ig /mL (Figura 6)

En el cuadro 4 se muestra la variación que existe entre la proteína total tomada por un refractómetro de campo y la inmunoglobulina determinada por la técnica de sulfito de sodio. La variación entre la técnica de refractometría y la técnica de sulfito de sodio se explica mediante la siguiente ecuación de regresión lineal  $y = a + bx$ ;  $Ig \text{ (mg/mL)} = -7.68 + 3.04 \text{ (proteína sérica total g/100mL tomada por refractómetro)}$ . La  $R = 0.823$  (que es un instrumento de confiabilidad que mide la relación que existe entre la prueba de refractometría y la prueba del sulfito de sodio) que interpretado en porcentajes es 82% lo que indica la variación que existe entre el total de proteína total e inmunoglobulina plasmática

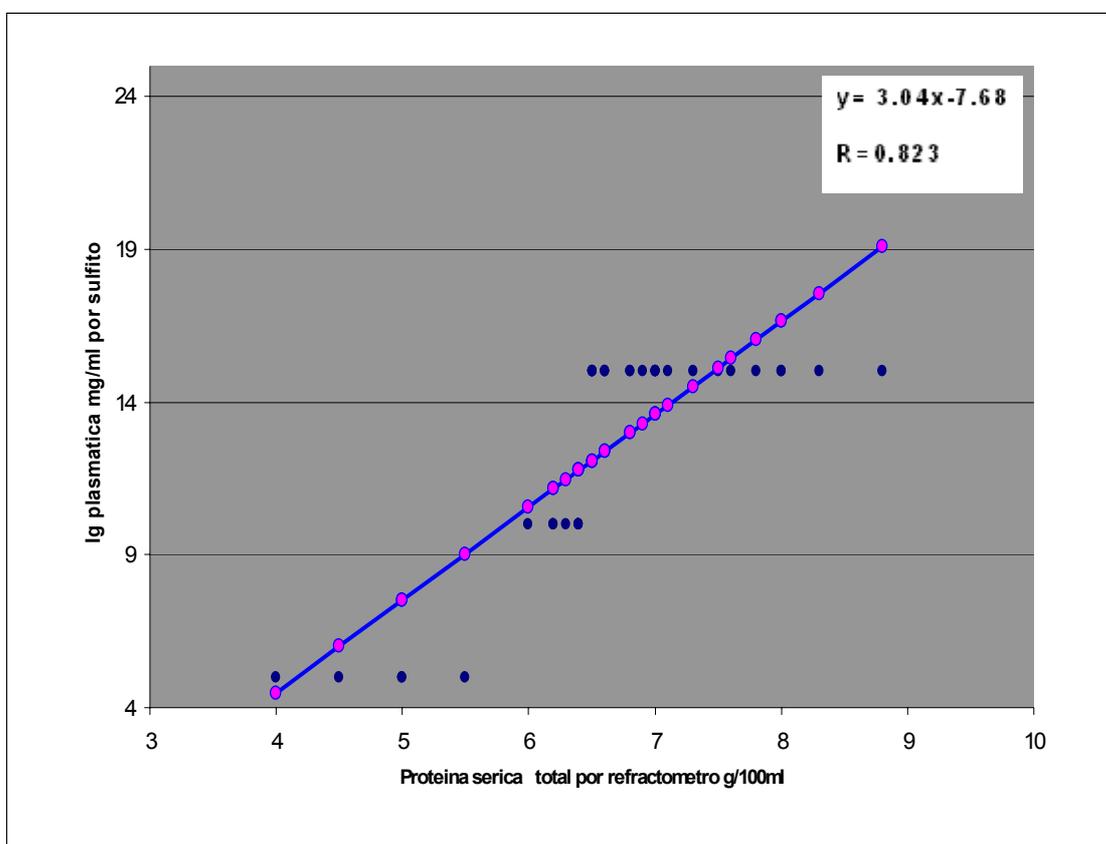


**Figura 6.** Proporción de becerras que presentaron distintos niveles de inmunoglobulinas con la prueba de precipitación del sulfito de sodio.

**Cuadro 4.** Variaciones representativas entre la prueba de refractometría y la técnica de sulfito de sodio usando la ecuación de regresión lineal  $y = a + bx$ .

<b>PROTEINA SERICA TOTAL e Ig SERICAS</b>	
Proteína serica total g/100ml	Ig mg/ml
4	4.48
4.5	6.00
5	7.52
5.5	9.04
6	10.56
6.2	11.17
6.4	11.77
6.6	12.38
6.9	13.29
7	13.60
7.3	14.51
7.5	15.12
7.6	15.42
8	16.64
8.3	17.55
8.8	19.07

Si usamos la ecuación, es posible estimar la concentración plasmática de Ig en las beceras con base en la proteína total, cuando se mide con el refractómetro por ejemplo si se mide la proteína total del plasma de una becerra de 1 a 2 días de edad usando un refractómetro de campo y se detecta 6.9. Con base a este estudio, la Ig plasmática estimada con la prueba de precipitación del sulfito de sodio sería  $y = -7.68 + 3.04(6.9) = 13.29$  Ig mg/mL. Usando esta fórmula se puede calcular cualquier cantidad obtenida por el refractómetro en beceras de 1 a 2 días de edad ya que la relación existente entre la proteína total y la Ig es del 82%.



**Figura 7.** Variación entre la refractometría y le técnica de sulfito de sodio para la determinación de proteína plasmática en beceras Holstein usando la ecuación de regresión lineal.

## VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La falla de transferencia pasiva en el ternero neonato se refleja principalmente con bajas concentraciones de inmunoglobulinas en el suero  $<10.0$  mg/mL teniendo un impacto negativo sobre la salud del ternero, que se agrava cuando el contenido de Ig es  $<5$  mg/mL, por el contrario, se considera que existe una transferencia adecuada cuando existen  $>15$  mg/mL o niveles superiores (**Swan et al., 2007**).

En la Comarca Lagunera el uso del refractómetro para determinar la proteínas totales en crías de bovinos se utiliza una media de  $5.5$  g/100 mL para indicar la existencia de falla en la transferencia de inmunidad pasiva. En otras palabras, cuando los becerros tienen niveles de proteína total superiores a  $5.5$  g/100 mL esto significa que están protegidos adecuadamente, pero cuando es menor, la protección es insuficiente como también lo indica Medina (**1994**).

En este estudio, un nivel total de  $5.5$  g/100 mL de proteína tomado con un refractómetro se traduce en una concentración plasmática de Ig de  $9$  mg/mL obtenido con la prueba de precipitación del sulfito de sodio lo cual generalmente se considera bajo para alcanzar una concentración de inmunoglobulinas de  $>10$  mg/mL como lo indican algunos autores, entonces sería necesario lograr una medición de proteína total o mayor de  $6$  mg/mL para indicar una transferencia de inmunidad pasiva exitosa en becerras de 1 a 2 días lo cual difiere con los niveles indicado por Medina (**1994**). Ya que él considera que un nivel mayor de  $6$  mg/mL de proteína total tomado con un refractómetro son de becerros hipogamaglobulinémico deshidratados.

Aunque en este estudio solo se utilizaron becerras de 1 a 2 días de edad parece ser que conforme pasan los días, la relación entre la IgG plasmática y la proteína total en la sangre parece reducirse, por lo que en los becerros de mayor edad, el uso de un refractómetro es menos útil que en los muy jóvenes lo cual no concuerda con lo mencionado por Medina (**1994**). Que indica que la técnica de refractometría es una prueba eficaz cuando se utiliza en becerros con edad mayor a 24 horas y menores de tres semanas.

El cambio en esta relación entre la IgG y la proteína total se puede deber a varios factores: a) una declinación en la concentración de IgG plasmática debida a pérdida de IgG. Dicha pérdida de IgG (vida media) se debe al consumo normal de la IgG en respuesta a la edad, la exposición a patógenos en el ambiente y otros factores, b) un cambio en las concentraciones de proteína. La concentración de proteína en la sangre depende de muchos factores, entre ellos la cantidad de calostro que recibió el animal y la proteína que haya consumido. Conforme aumentan en edad, la cantidad de proteína en la sangre de los becerros es menos dependiente de la cantidad de calostro y más dependiente de la cantidad de proteína consumida durante la alimentación normal **(Quigley, 2001)**.

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el refractómetro es una buena herramienta cuando se usa correctamente para calcular la calidad general del calostro en el programa de alimentación en animales solo de 1 a 2 días de edad esto incrementa las posibilidades de tomar la decisión correcta con respecto al manejo del calostro y a la crianza en general.

En la Figura 7 se muestra la relación existente entre la IgG plasmática y la proteína total medida mediante el refractómetro. La R de esta regresión es de 0.82 lo cual significa que más de la mitad de la variación en la concentración de IgG plasmática se puede explicar mediante la variación en la proteína total, cuando se calcula con el refractómetro en becerras de 1 a 2 días de edad. Por el contrario, aproximadamente el 18% de la variación de la IgG plasmática se debe a algo distinto a la proteína total cuando se utiliza el refractómetro

Por lo que los resultados obtenidos nos indican una relación estrecha entre las variables lo que nos ayuda a decir que hay atabilidad entre la prueba de refractometría y la prueba del sulfito de sodio para determinar proteína plasmática en becerras Holstein de 1 a 2 días.

## IX. REFERENCIAS

- Aguade, P. P. 1996. Niveles de inmunoglobulinas calostrales en becerras lecheras de la región de Tijuana y su efecto en la sobrevivencia y desarrollo de la cría durante la lactancia. *Veterinaria Mexico*, 28, 203-208.
- Andrew, S. M. 2001. Effect of composition of colostrum and transition milk from holstein heifers on specificity rates of antibiotic residue tests. *Dairy Science*, 84, 100-106.
- Aranda, P., Sánchez, L., Perez, M. D., Ena, J. M. y Calvo, M. 1991. Insulin in bovine colostrum and milk: evolution throughout lactation and binding to caseins. *Dairy Science*, 74, 4320-4325.
- Argüello, A., Ginés, R., Capote, J. y López, J. L. 1998. Composición química y características físicas del calostro caprino. *Veterinaria Argentina*, 15, 573-578.
- Aricada, H. J., Bedoya, R., Del Pilar, G. A., Heredia, C., Maldonado, A., Peláez, C. y Ceballos, A. 2004. Competencia inmunológica en la primera semana de vida en terneros mantenidos bajo dos sistemas de producción de leche. *Rev Col Cienc Pec*, Vol. 17:2,, 167\_174.
- Arthington, J. D., Cattell, M. B. y Quigley, J. D. 2000a. Effect of dietary IgG source (colostrum, serum, or milk-derived supplement) on the efficiency of Ig absorption in newborn holstein calves. *Dairy Science*, 83, 1463-1467.
- Arthington, J. D., Cattell, M. B., Quigley, J. D., McCoy, G. C. y Hurley, W. L. 2000b. Passive immunoglobulin transfer in newborn calves fed colostrum or spray-dried serum protein alone or as a supplement to colostrum of varying quality. *Dairy Science*, 83, 2834-2838.
- Bastian, S. E., Dunbar, A. J., Priebe, I. K., Owens, P. C. y Goddard, C. 2001. Measurement of betacellulin levels in bovine serum, colostrum and milk. *Endocrinology* 168, 203-212.

- Bezkorovainy, A. 1967. Physical and chemical properties of bovine milk and colostrum whey M-1 glycoproteins. *Dairy Science*, 50, 1368-1375.
- Blattler, U., Hammon, H. M., Morel, C., Philipona, C., Rauprich, A., Rome, V., Huerou-Luron, I., Guilloteau, P. y Blum, J. W. 2001. Feeding colostrum, Its composition and feeding duration variably modify proliferation and morphology of the intestine and digestive enzyme activities of neonatal calves. *Nutritional Science*, 131, 1256–1263.
- Blum, J. W., Hadorn, U., Sallmann, H. y Schuep, W. 1997. Delaying colostrum intake by one day impairs plasma lipid, essential fatty acid, carotene, retinol and a-tocopherol status in neonatal calves. *Nutritional Sciences*, 127, 2024-2029.
- Brignole, T. J. y Stott, G. H. 1980. Effect of suckling followed by bottle feeding colostrum on immunoglobulin absorption and calf survival. *Dairy Science*, 63, 451-456.
- Bush, R. S., McQueen, R. E. y Nicholson, J. W. G. 1981. Effect of fermentation and formalin preservation on the protein component of bovine colostrum. *Dairy Science*, 64, 1695-1699.
- Campbell, J. M., Russell, L. E., Crenshaw, J. D., Weaver, E. M., Godden, S., Quigley, J. D., Coverdale, J. y Tyler, H. 2007. Impact of irradiation and immunoglobulin g concentration on absorption of protein and immunoglobulin g in calves fed colostrum replacer. *Dairy Science*, 90, 5726-5731.
- Carlson, S. M. A. y Muller, L. D. 1976. Compositional and metabolic evaluation of colostrum preserved by four methods during warm ambient temperatures. *Dairy Science*, 14, 566-571.
- Castro, N., Capote, J. y Argüello, A. 2005. Conservación y manejo del calostro caprino *Producción animal*, 1, 1-8.

- Domínguez, P. U. 2007. Puntos a observar para mejorar la rentabilidad de reemplazos lecheros. *Entorno Ganadero*, 21, 52-59.
- Dunlop, H. R. y Henri, M. C. 2004. *Fisiopatología Veterinaria*. Acribia, Primera Edición, 258-268.
- Elizondo, S. A. J. 2007a. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agronomía mesoamericana*, 18, 271-281.
- Elizondo, S. A. J. 2007b. Importancia y manejo del calostro en el ganado de leche. *Ganado Lechero*, 1-11.
- Elizondo, S. J., Jayarao, B. M. y Heinrichs, A. J. 2008. Colostrum pasteurization: Effect on bacterial count and immunoglobulin G concentration. *Revista electrónica de Veterinaria*, 9, 1-9.
- Ferrer, J. F. y Piper, C. E. 1981. Role of colostrum and milk in the natural transmission of the bovine leukemia virus. *Cancer Research*, 41, 4905-4909.
- Foley, J. A. y Otterby, D. E. 1979. Performance of calves fed colostrum stored by freezing, fermentation, or treatment with lactic or adipic acid. *Dairy Science*, 62, 459-467.
- Franklin, S. T., Amaral-Phillips, D. M., Jackson, J. A. y Campbell, A. A. 2003. Health and performance of holstein calves that suckled or were hand-fed colostrum and were fed one of three physical forms of starter. *Dairy Science*, 86, 2145-2153.
- García, J., Albornoz, O. y Vela, D. 2006. Determinación de inmunoglobulinas séricas de origen calostrual en terneros recién nacidos. *Boletín Técnico 6 serie Zoológica*, 2, 77\_85.
- Godden, S., McMartin, S., Feirtag, J., Stabel, J., Bey, R., Goyal, S., Metzger, L., Fetrow, J., Wells, S. y Chester-Jones, H. 2006. Heat-treatment of bovine

- colostrum. II: effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin g. *Dairy Science*, 89, 3476-3483.
- Gulliksen, S. M., Lie, K. I., Solverod, L. y Osterás, O. 2008. Risk factors associated with colostrum quality in norwegian dairy cows. *Dairy Science*, 91, 704-712.
- Guy, M. A., McFadden, T. B., Cockrell, D. C. y Besser, T. E. 1994a. Effects of unilateral prepartum milking on concentrations of Immunoglobulin G1 and prolactin in colostrum. *Dairy Science*, 77, 3584-3591.
- Guy, M. A., McFadden, T. B., Cockrell, D. C. y Besser, T. E. 1994b. Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. *Dairy Science*, 77, 3002-3007.
- Hadorn, U., Hammon, H., Bruckmaier, R. M. y Blum, J. W. 1997. Delaying colostrum intake by one day has important effects on metabolic traits and on gastrointestinal and metabolic hormones in neonatal calves. *Nutritional Sciences*, 127, 2011-2023.
- Hammer, C. J., Quigley, J. D., Ribeiro, L. y Tyler, H. D. 2004. Characterization of a colostrum replacer and a colostrum supplement containing IgG concentrate and growth factors. *Dairy Science*, 87, 106-111.
- Hammon, H. y Blum, J. M. 1997. Prolonged colostrum feeding enhances xylose absorption in neonatal calves. *Animal Science*, 75, 2915-2919.
- Hammon, H. M. y Blum, J. W. 1998. Metabolic and endocrine traits of neonatal calves are influenced by feeding colostrum for different durations or only milk replace. *Nutritional Science*, 126, 624-632.
- Hammon, H. M., Sauter, S. N., Reist, M., Zbinden, Y., Philipona, C., C., M. y Blum, J. W. 2003. Dexamethasone and colostrum feeding affect hepatic gluconeogenic enzymes differently in neonatal calves. *Animal Science*, 81, 3095-3106.

- Hammon, H. M., Zanker, I. A. y Blum, J. M. 1999. Delayed colostrum feeding affects IGF-I and insulin plasma concentrations in neonatal calves. *Dairy Science*, 83, 85-92.
- Hopkins, B. A. y Quigley, J. D. 1997. Effects of method of colostrum feeding and colostrum supplementation on concentrations of Immunoglobulin G in the serum of neonatal calves. *Dairy Science*, 80, 979-983.
- Jaster, E. H. 2005. Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrum feeding on immunoglobulin g1 absorption in jersey calves. *Dairy Science*, 88, 296-302.
- Jensen, R. A., Elnif, J., Burrin, G. D. y Sangild, T. P. 2001. Development of Intestinal Immunoglobulin Absorption and Enzyme Activities in Neonatal Pigs Is Diet Dependent. *Nutritional Immunology*, 131, 3259–3265,.
- Johnson, J. L., Godden, S. M., Molitor, T., Ames, T. y Hagman, D. 2007. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of Immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *Dairy Science*, 90, 5189-5198.
- Jones, C. M., James, R. E., Quigley, J. D. y McGilliard, M. L. 2004. Influence of pooled colostrum or colostrum replacement on IgG and evaluation of animal plasma in milk replacer. *Dairy Science*, 87, 1806-1814.
- Jones, L. R., Taylor, A. W. y Hines, H. C. 1987. Characteristics of frozen colostrum thawed in a microwave Oven *Dairy Science*, 70, 1941-1945.
- Kamada, H., Nokana, I., Ueda, Y. y Murai, M. 2007. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin g absorption by newborn calves. *Dairy Science*, 90, 5665-5670.

- Kehoe, S. I., Jayarao, B. M. y Heinrichs, A. J. 2007. Survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on pennsylvania dairy farms. *Dairy Science* 90, 4108–4116.
- Keys, J. E., Pearson, R. E. y Weinland, B. T. 1980. Performance of calves fed fermented mastitic milk, colostrum, and fresh whole milk. *Dairy Science*, 63, 1123-1127.
- Klobasa, F., Goel, M. C. y Werhahn, E. 1998. Comparison of freezing and lyophilizing for preservation of colostrum as a source of immunoglobulins for calves. *Animal Science*, 76, 923-926.
- Kruse, E. P. 1983. The importance of colostral immunoglobulins and their absorption from the intestine of the newborn animals. *Animal Science*, 14, 349-353.
- Kume, S. y Tanabe, S. 1993. Effect of parity on colostral mineral concentrations of holstein cows and value of colostrum as a mineral source for newborn calves. *Dairy Science*, 76, 1654-1660.
- Leyan, V., Wittwer, F., Contreras, P. A., Phil, M. y Kruze, J. 2004. Serum and colostrum immunoglobulin concentrations from selenium deficient cows and in the blood of their calves. *Archivo de medicina veterinaria*, N° 2, 155-162.
- Maunsell, F. P., Morin, D. E., Constable, P. D., Hurley, W. L., McCoy, G. C., Kakoma, I. y Isaacson, R. E. 1998. Effects of mastitis on the volume and composition of colostrum produced by holstein cows. *Dairy Science*, 81, 1291-1299.
- Maxime, M. B. 1991. *Manual de patologia clinica en veterinaria*. Limusa, Primera edicion, 131-132.
- McMartin, S., Godden, S., Metzger, L., Feirtag, J., Bey, R., Stabel, J., Goyal, S., Fetrow, J., Wells, S. y Chester-Jones, H. 2006. Heat Treatment of Bovine

- Colostrum. II: Effects of Temperature on Viscosity and Immunoglobulin G Level. *Dairy Science*, 89, 2110-2118.
- Mechor, G. D. y Grohn, Y. T. 1991. Effect of temperature on colostrometer readings for estimation of Immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *Dairy Science*, 74, 3940-3943.
- Medina, C. M. 1994. *Medicina productiva en la crianza de becerros lecheros*. limusa, primera edicion 173-188.
- Mero, A., Miikkulainen, H., Riski, J., Pakkanen, R., Aalto, J. y Takala, T. 1997. Effects of bovine colostrum supplementation on serum IGF-I, IgG, hormone, and saliva IgA during training. *J Appl Physiol*, 83, 1144-1151.
- Michael, K. 1980. Bovine colostrum supports the serum-free proliferation of epithelial cells but not of fibroblasts in long-term culture. *Cell biology*, 84, 808-814.
- Nakamura, T., Kawase, H., Kimura, K., Watanabe, Y., Ohtani, M., Arai, I. y Urashima, T. 2003. Concentrations of sialyloligosaccharides in bovine colostrum and milk during the prepartum and early lactation. *Dairy Science*, 86, 1315-1320.
- Nardone, A., Lacetera, N., Bernabucci, U. y Ronchi, B. 1997. Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. *Dairy Science*, 80, 838-844.
- Nocek, J. E., Braund, D. G. y Warner, R. G. 1984. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on calf gain, health, and serum protein. *Dairy Science*, 67, 319-333.
- Pritchett, L. C., Gay, C. C., Besser, T. E. y Hancock, D. D. 1991. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from holstein cows. *Dairy Science*, 74, 2336-2341.

- Pritchett, L. C., Gay, C. C., Hancock, D. D. y Besser, T. E. 1994. Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G concentrations in holstein colostrum. *Dairy Science*, 77, 1761-1767.
- Prosser, C., Stelwagen, K., Cummins, R., Guerin, P., Gill, N. y Milne, C. 2004. Reduction in heat-induced gastrointestinal hyperpermeability in rats by bovine colostrum and goat milk powders. *Physiological Society*, 96, 650-654.
- Quigley, J. 2001. La edad de los Becerros, la Proteína Total y la Falta de Transferencia de Inmunidad Pasiva *Calf Notes*, 62, 1-4.
- Quigley, J. D., Fike, D. L., Egerton, M. N., Drewry, J. J. y Arthington, J. D. 1998. Effects of a colostrum replacement product derived from serum on Immunoglobulin G absorption by calves. *Dairy Science*, 81, 1936-1939.
- Quigley, J. D., Kost, C. J. y Wolfe, T. M. 2002. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *Dairy Science*, 85, 1243-1248.
- Quigley, J. D. y Martin, K. R. 1994a. Effects of housing and colostrum feeding on the prevalence of selected infectious organisms in feces of jersey calves. *Dairy Science*, 77, 3124-3131.
- Quigley, J. D. y Martin, K. R. 1994b. Immunoglobulin concentration, specific gravity, and nitrogen fractions of colostrum from jersey cattle. *Dairy Science*, 77, 264-269.
- Quigley, J. D., Martin, K. R. y Dowlen, H. H. 1995a. Concentrations of trypsin inhibitor and immunoglobulins in colostrum of jersey cows. *Dairy Science*, 78, 1573-1577.
- Quigley, J. D., Martin, K. R., Dowlen, H. H. y Lamar, K. C. 1995b. Addition of soybean trypsin inhibitor to bovine colostrum: effects on serum immunoglobulin concentrations in jersey calves. *Dairy Science*, 78, 886-892.

- Quiroz, R. G., Bouda, J., Medina, C. M., Núñez, O. L. y Yabuta, O. A. 1998. Impacto sobre la administración y la calidad del calostro sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas en becerros. *Veterinaria Mexico*, 29, 161-167.
- Rajaraman, V., Nonnecke, B. J. y Horst, R. L. 1997. Effects of replacement of native fat in colostrum and milk with coconut oil on fat-soluble vitamins in serum and immune function in calves. *Dairy Science*, 80, 2380-2390.
- Rauprich, A. B., Hammon, H. M. y Blum, J. M. 2000. Influence of feeding different amounts of first colostrum on metabolic, endocrine, and health status and on growth performance in neonatal calves. *Animal Science*, 78, 896-908.
- Reiter, B., Brock, J. H. y Steel, E. D. 1975. Inhibition of *Escherichia coli* by Bovine Colostrum and Post-colostral Milk. *Immunology*, 28, 83-95.
- Roffler, B., Faeh, A., Sauter, S. N., Hammon, H. M., Gallmann, P., Brem, G. y Blum, J. W. 2003. Intestinal Morphology, Epithelial Cell Proliferation, and Absorptive Capacity in Neonatal Calves Fed Milk-Born Insulin-Like Growth Factor-I or a Colostrum Extract. *Dairy Science*, 86, 1797-1806.
- Ross, N., Mahé, S., Benamouzig, R., Sick, H., Rautureau, J. y Tomé, D. 1995. N-labeled immunoglobulins from bovine colostrum are partially resistant to digestion in human intestine. *American Institute of Nutrition.*, 22, 1238-1242.
- Santoro, H. M., Erickson, P. S., Whitehouse, N. L., McLaughlin, A. M., Schwab, C. G. y Quigley, J. D. 2004. Evaluation of a colostrum supplement, with or without trypsin inhibitor, and an egg protein milk replacer for dairy calves. *Dairy Science*, 87, 1739-1746.
- Sauter, S. N., Ontsouka, E., Roffler, B., Zbinden, Y., Philipona, C., Pfaffl, M., Breier, B. H., Blum, J. W. y Hammon, H. M. 2003. Effects of dexamethasone and colostrum intake on the somatotrophic axis in neonatal calves. *Endocrinology and Metabolism*, 285, 252-261.

- Shutt, D. A. y Fell, L. R. 1985. Comparison of total and free cortisol in bovine serum and milk or colostrum. *Dairy Science*, 68, 1832-1834.
- Singer, H. 2001. Importance of The Colostral Milk. *Frontline*, 11, 1-3.
- Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., Fetrow, J. y Chester-Jones, H. 2007. Passive transfer of immunoglobulin g and preweaning health in holstein calves fed a commercial colostrum replacer. *Dairy Science*, 90, 3857-3866.
- Trujillo, A. J., Castro, N., Quevedo, J. M., Arguello, A., Capote, J. y Guamis, B. 2007. Effect of heat and high-pressure treatments on microbiological quality and Immunoglobulin G stability of caprine colostrum. *Dairy Science*, 90, 833-839.
- Tsioulpas, A., Grandison, A. S. y Lewis, M. J. 2007. Changes in physical properties of bovine milk from the colostrum period to early lactation. *Dairy Science*, 90, 5012-5017.
- wolfgang, Z., Walter, M., Guterbock, M. y Holmberg, C. A. 1993. Efficacy of a dried colostrum powder in the prevention of disease in neonatal holstein calves. *Dairy Science*, 76, 831-836.
- Yoshida, S., Wei, Z., Shinmura, Y. y Fukunaga, N. 2000. Separation of lactoferrin-a and -b from bovine colostrum. *Dairy Science*, 83, 2211-2215.
- Yu, Y., Stone, J. B. y Wilson, M. R. 1975. Fermented bovine colostrum for holstein replacement calf rearing. *Dairy Science*, 59, 936-943.