

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS



Transferencia de inmunidad en becerras Holstein lactantes suplementadas con
Bacillus subtilis PB6

Por:

JANETH HERNANDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Marzo 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Transferencia de inmunidad en becerros Holstein lactantes suplementadas con
Bacillus subtilis PB6

Por:

JANETH HERNANDEZ

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:

 MVZ. ALEJANDRO ERNESTO CABRAE MARTELL Presidente	 DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS Vocal
 MC. BLANCA PATRICIA PEÑA REVUELTA Vocal	 DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ Vocal Suplente
 MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal	

Torreón, Coahuila, México
Marzo 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Transferencia de inmunidad de becerras Holstein lactantes suplementadas con
Bacillus subtilis PB6

Por:

JANETH HERNANDEZ

TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS
Asesor Principal



DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ
Coasesor



MC. BLANCA PATRICIA PEÑA REVUELTA
Coasesor



MC. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Marzo 2020



AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme el regalo de la vida, por ser la fortaleza en mi camino y bendecirme día con día.

A mis padres, por darme una vida, que, aunque no pudieron estar a mi lado y apoyarme como quisieron, aprendí lo que es el trabajo y esforzarse por lo que uno anhela y quiere.

A mi Alma Terra Mater, aquel lugar que se convirtió en mi hogar y que me vio crecer a través de los años y ahora emprender mi vuelo. ¡Por siempre Buitre!

A mi asesor, al Dr. Ramiro González Avalos por su tiempo, dedicación y entrega a la enseñanza e investigación, por motivarnos y enseñarnos con su ejemplo a prepararnos día con día.

A mis académicos, quienes fueron parte fundamental de mi formación profesional, gracias por todos los conocimientos y experiencias compartidas.

A mis amigos, a quienes quiero y aprecio mucho, tienen un lugar importante en mi corazón. Gracias por todos los momentos compartidos, por permitirme ser parte de sus vidas y alegrar la mía. Daniela Perea, Mariana Escobar, Teresa Hernández, Anahí Bruno, Mariel Prince, David Godines, Isis Jara, Cecilia Esquivel, Oscar Gómez.

A la familia Perea Escobar, por su gran apoyo y amor, por abrirme las puertas y recibirme en su hogar, por ser como una segunda familia para mí. Los quiero mucho, ¡gracias por todo!

DEDICATORIAS

A mis madres, Paty y Elvira Hernández, a las mujeres responsables de la persona en la que me he convertido, quienes me han guiado y educado para llegar a ser una mujer de bien. Quienes me han apoyado y alentado para seguir mis sueños y nunca rendirme creyendo en mí a cada paso del camino. Por amarme incondicionalmente, porque sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

A mi hermana, Susan Hernandez, a quien amo con todo mi corazón. Porque todo en esta vida es mejor gracias a que te tengo a ti. Siempre me inspiraste a querer ser mejor persona y a trabajar duro para que nada nos faltara, porque este logro también es tuyo. Sabes que siempre contarás conmigo.

A mi hermano, Armando Hernández, porque a pesar de lo difícil que ha sido el camino, sigues luchando para tener una mejor vida y sé que lo lograrás. Gracias por siempre estar y apoyarme cuando lo he necesitado.

A mis abuelitos, quienes son los pilares de la casa. Han sido un gran apoyo durante toda mi vida; gran ejemplo e inspiración de lo que es trabajar para su familia.

A mi esposo, Santiago Rodríguez, por todo el cariño y el amor sincero. Por creer en mis sueños y ser un apoyo importante para poder lograrlos. Por animarme a superarme y no dejarme desistir. ¡Gracias!

A mi hijo, a quien aún no tengo la dicha de conocer y es el mayor motivo de mi esfuerzo por lograr este proyecto final. Porque sé que serás la inspiración de muchas cosas más.

RESUMEN

La crianza de reemplazos es fundamental en cualquier sistema de producción, ya que las becerras son las que sustituirán en un determinado tiempo a las vacas que poco a poco dejan la explotación. Los probióticos pueden formar parte de la composición de distintos tipos de productos, entre los que se incluyen alimentos medicamentados y complementos de la dieta. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la transferencia de inmunidad en becerras Holstein alimentadas con leche entera adicionada con *Bacillus subtilis* PB6. Se utilizaron 60 animales recién nacidos, de manera aleatoria se incluyeron en 1 de 3 tratamientos. Los tratamientos quedaron como sigue: T1=testigo, T2= 10g/becerra/día. La primera toma dentro de los 20 min posteriores al nacimiento, T3= 10 g/becerra/día. La primera toma entre las 12 y 24 h posteriores al nacimiento. En todos los tratamientos se suministraron 432L de leche entera pasteurizada dividida en dos tomas/día 07:00 y 15:00 respectivamente, durante 60 días, la adición del *Bacillus subtilis* PB6 se realizó en la tina de leche al momento de la alimentación de las mismas. La primera toma de calostro (2 L•toma) se suministró dentro de las 2 h después del nacimiento, posteriormente se les proporcionó una segunda 6 h posteriores a la primera. Las variables para evaluar la transferencia de inmunidad se consideró la proteína sérica. Se concluyó que en las variables evaluadas no se observó diferencia estadística $P < 0.05$. En relación a la transferencia de inmunidad se observó un incremento en los tratamientos donde se suministró *Bacillus subtilis* PB6.

Palabras claves: Calostro, Inmunoglobulinas, Leche, Neonato, Probióticos.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
INDICE DE CUADROS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	2
1.2. Hipótesis	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Calostro bovino	3
2.2. Inmunoglobulinas en el calostro	5
2.3. Transferencia de inmunidad	6
2.4. Fallas en la transferencia de inmunidad	7
2.5. Colonización gastrointestinal	9
2.6. Probióticos	12
3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
5. CONCLUSIONES	20
6. LITERATURA CITADA	21

INDICE DE CUADROS

- Cuadro 1. Cuadro 1. Características y composición química del calostro y 4
leche de ganado Holstein.
- Cuadro 2. Efecto del número de parto de la vaca sobre la concentración de 6
inmunoglobulinas.

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Promedio de proteína sérica (g•dL) en becerras suplementadas con *Bacillus subtilis* PB6 dentro de las 24-48 h de vida. 17
- Figura 2. Promedio de proteína sérica (g•dL) en becerras suplementadas con *Bacillus subtilis* PB6 dentro de las 96-120 h de vida. 18

1. INTRODUCCIÓN

Los productos lácteos representan una industria significativa en todo el mundo. Más del 99% de esta leche es producida por rumiantes y como muchos herbívoros, estos animales dependen únicamente de sus comunidades microbianas del tracto gastrointestinal (TGI) para la conversión de las dietas de los sustratos de plantas en nutrientes accesibles (Dill-McFarland *et al.*, 2017). La eficiencia de la vaca está influenciada por el buen desarrollo en su crianza, madurez y competencia inmunitaria, desarrollo digestivo, entre otros (Castro, 2014; Meale *et al.*, 2017).

En la industria lechera se han estimado grandes pérdidas por la alta mortalidad de becerras debido a la inmadurez del sistema inmune y la baja productividad por un mal calostreado (Gruse *et al.*, 2016). Parte del problema es que los métodos para evaluar la salud en becerras lecheras antes del destete no están bien definidos (Castro, 2014). Las enfermedades entéricas siguen representando una gran proporción de morbilidad y mortalidad entre las becerras lecheras durante sus primeras semanas de vida. Después de las primeras 48 horas de vida hasta el destete, aproximadamente el 10% de las terneras mueren (Harris, 2016).

El tracto gastrointestinal de los rumiantes tiene el desafío de proteger al huésped de los contenidos lumínicos y patógenos, al tiempo que respalda la absorción y el metabolismo de los nutrientes para el crecimiento y mantenimiento (Meale *et al.*, 2017). Los becerros neonatales se enfrentan a una variedad de factores estresantes. Es necesario promover un balance temprano entre el animal, su entorno y los agentes etiológicos para minimizar la probabilidad de episodios de enfermedad. En esta etapa, el intestino tiene un papel central no solo en la

asimilación de nutrientes, pero también previniendo un contacto directo entre patógenos y el cuerpo interno como mediador por la colonización microbiana comensal (Castro *et al.*, 2016a).

Los problemas digestivos son comunes en becerros entre el nacimiento y el destete (Castro, 2014). La diarrea es uno de los problemas de salud más frecuentes en becerros lecheros jóvenes (Castro *et al.*, 2016a). La diarrea neonatal puede tener lugar en terneros de 3 a 21 días de edad y el inicio y la duración de un episodio de diarrea dependerá de la cantidad de patógenos involucrados y la condición inmune del animal (Castro, 2014).

El TGI de los becerros en los primeros años de vida sufre algunos de los cambios microbianos y estructurales más rápidos documentados en la naturaleza, y estas adaptaciones en la función del TGI hacen que la cría sea susceptible a enfermedades y desordenes gastrointestinales (Meale *et al.*, 2017). El uso de suplementos con microorganismos para mejorar la salud intestinal puede ayudar bastante a la prevención de enfermedades (Castro, 2014). Los probióticos son una alternativa prometedora para mejorar la productividad y salud de los animales (Fodistch *et al.*, 2015).

1.1. Objetivos

Evaluar la transferencia de inmunidad en becerras suplementadas con *Bacillus subtilis* PB6.

1.2. Hipótesis

Al suplementar becerras con *Bacillus subtilis* PB6 se incrementa la transferencia de inmunidad.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Calostro bovino

El calostro bovino consiste en una mezcla de secreciones lácteas y constituyentes del suero sanguíneo, más notablemente inmunoglobulinas (Igs) y otras proteínas séricas, que se acumulan en la glándula mamaria durante el periodo seco previo al parto (Godden, 2008). El calostro es la secreción de la glándula mamaria en las primeras 24 horas después del parto; es una fuente importante de inmunidad y nutrición para el recién nacido (Jaster, 2008; Biemann *et al.*, 2010). La composición total de sólidos del calostro es del 21 al 27%, en comparación con la leche entera (12 a 13%) (Jaster, 2008). Es una sustancia multicomponente y multifuncional que contiene nutrientes esenciales (lípidos, proteínas, lactosa, aminoácidos libres) y sustancias biológicamente activas: Igs, anticuerpos, polipéptidos polienriquecidos, lactoferrina, glucoproteínas, lactoalbúminas, citosinas, interferones y linfocinas; factores de crecimiento y vitaminas y minerales (Shapovalov *et al.*, 2019).

En el becerro recién nacido, los requisitos dietéticos se cumplen con la absorción de calostro que se digiere en el abomaso y el TGI posterior proporciona energía, nutrientes esenciales, al igual que moléculas inmunitarias (Meale *et al.*, 2017). El calostro es una excelente fuente de nutrientes, pero también es una fuente esencial de antimicrobianos, factores inmuno estimulantes, y factores de crecimiento que protegen contra infecciones que promueven la proliferación de células epiteliales y maduración del TGI (Ahangarani *et al.*, 2019).

El calostro contiene altos niveles de inmunoglobulinas, que juegan un papel importante en el establecimiento de la inmunidad pasiva en el becerro joven, y

juegan un papel importante a nivel intestinal localizado. La ingesta de inmunoglobulina (Ig) depende de la ingesta de calostro y su concentración de Ig. (Jaster, 2005). La medición de las proteínas totales (PT) en la sangre es una medida indirecta de la concentración de inmunoglobulina G (IgG) y puede determinarse por refractometría (Bielmann *et al.*, 2010). La calidad del calostro la determina la concentración de anticuerpos y la ausencia de bacterias patógenas (González *et al.*, 2019).

La adquisición de calostro de alta calidad es un factor importante que influye en la salud de los becerros neonatales. El factor más importante que influye en la salud de los becerros y la producción futura es asegurar una ingesta adecuada de calostro de alta calidad lo antes posible después del nacimiento (Bielmann *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Características y composición química del calostro y leche de ganado Holstein (tomado de Elizondo-Salazar, 2007).

Variable	Calostro			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 nos 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
Igs %	6.0	4.2	2.4	0.09
IgG g/dl	3.2	2.5	1.5	0.06
Nitrógeno no proteico %	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	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

2.2. Inmunoglobulinas en el calostro

Hay 3 tipos de Igs en el calostro del ganado lechero: IgG, inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina A (IgA) (Jaster, 2005). El origen de las inmunoglobulinas es diverso, la mayor cantidad de IgG es transferida desde el suero sanguíneo materno; sin embargo, en el caso de la IgA, el 60% se sintetiza localmente, mientras que las IgM proviene del suero materno y de la glándula mamaria (Beltrán, 2011). Aunque el calostro contiene varios tipos de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM), la IgG constituye aproximadamente el 85% de las Igs en el calostro; IgA e IgM 5% y 7%, respectivamente (Beam *et al.*, 2009; Godden, 2008).

Hay 2 isotipos de IgG: IgG1 e IgG2. Estas Igs trabajan juntas para proporcionar al becerro inmunidad pasiva hasta que se desarrolle la propia inmunidad activa del becerro (Jaster, 2005). El transporte de las Igs desde el suero hasta la glándula mamaria comienza varias semanas antes del parto y alcanza un pico de 1 a 3 días antes del parto en la vaca (Weaver *et al.*, 2000). La Ig ingerida por el becerro es absorbida por las células epiteliales del intestino delgado y pasa a los espacios linfáticos y luego a la circulación sanguínea a través del conducto torácico. Este mecanismo de transferencia comienza a disminuir aproximadamente 12 a 23 horas después del nacimiento y cesa en promedio a las 24 horas (Jaster, 2005).

La IgA es el anticuerpo más abundante en las secreciones de la mucosa. Para mantener una interacción pacífica bacteriana, la mucosa intestinal libera proteínas antimicrobianas e IgA, un isotipo de anticuerpo especializado en la protección de la mucosa. Para evitar reacciones inflamatorias potencialmente catastróficas, las IgA no solo restringen el paso de microbios y otros antígenos a la

superficie de la mucosa, sino que también modula el muestreo de antígenos y la calidad de la respuesta inmune local, además de su conocida capacidad para neutralizar toxinas y algunos patógenos (Gutzeit *et al.*, 2014).

El número de lactancia, la raza de la vaca y la duración del periodo sin lactancia influye en el volumen y la concentración de Ig del calostro (Jaster, 2005). El número de parto de la madre se ha asociado con el contenido de Igs en el calostro. Diversos estudios han mostrado que el calostro de las novillas de primer parto presenta una concentración de Igs considerablemente menor que el de vacas con más lactancias y que a su vez, dicha concentración se incrementa conforme aumenta el número de partos (Elizondo-Salazar, 2015).

Cuadro 2. Efecto del número de parto de la vaca sobre la concentración de inmunoglobulinas (tomado de Elizondo-Salazar, 2015).

Número de parto	N	Igs(mg/ml)
1	133	69.5
2	113	78.5
3	100	84.5
4	85	98.4
≥5	106	90.7

2.3. Transferencia de inmunidad

La placenta sindesmocorial de la vaca forma un sincitio entre el endometrio materno y el trofoectodermo fetal, separando los suministros de sangre materna y fetal y evitando la transmisión de inmunoglobulinas en el útero (Weaver *et al.*, 2000). El neonato bovino nace agammaglobulinémico y depende de la ingesta de Ig calostrual para obtener una inmunidad pasiva adecuada (Elizondo-Salazar *et al.*, 2010). El TGI de un becerro está diseñado para permitir temporalmente la absorción

de moléculas grandes, incluidas las inmunoglobulinas, durante las primeras 12 a 24 horas de vida (Godden, 2008).

Las Igs transferidas de la vaca a la becerro a través del calostro son todas las dotaciones inmunes de la descendencia al nacer (Castro, 2014). Para que exista una transferencia eficiente de inmunidad a través del calostro es necesario realizar manejos donde se controlen los siguientes factores: calidad del calostro, volumen ofrecido, y tiempo transcurrido entre el nacimiento y la primera toma (González *et al.*, 2017). Aunque todos los componentes inmunes esenciales están presentes en neonatos al nacimiento, mucho de los componentes no son funcionales hasta que los becerros tienen al menos de 2 a 4 semanas de edad y pueden continuar desarrollándose hasta la pubertad (Castro, 2014).

Las becerros recién nacidas tienen una menor concentración de leucocitos intestinales, principalmente de células T y células mieloides, en comparación con aquellas de mayor edad, de modo que los animales de menor edad son más susceptibles en su sistema inmuno-digestivo (Fries *et al.*, 2011b).

Existen cuatro factores que contribuyen a una exitosa transferencia de inmunidad pasiva: suministrar calostro con una alta concentración de Igs (>50 g/l), ofrecer un adecuado volumen de calostro, brindarlo en las primeras dos horas de vida, y minimizar la contaminación bacteriana del mismo (Elizondo-Salazar, 2015).

2.4. Fallas en la transferencia de inmunidad

Una adquisición de inmunidad pasiva inadecuada puede ocurrir cuando el recién nacido se ve imposibilitado de absorber una cantidad satisfactoria de Igs. Esta condición, conocida como falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP),

ha sido relacionada con una serie de consecuencias negativas en los parámetros productivos del animal (Elizondo-Salazar, 2015). La FTIP de Ig calostrál se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad por enfermedades neonatales (Elizondo-Salazar *et al.*, 2010).

Determinar la concentración de proteína sérica total (PST) por medio de refractometría, es una de las formas más prácticas a nivel de campo para determinar aquellos animales con un FTIP, ya que los mayores constituyentes de las PST en los primeros días de vida del animal son las Igs provenientes del calostro (Elizondo-Salazar, 2015). Se considera que un ternero sufre una falla en la transferencia pasiva (FTP) si la concentración de IgG en suero es inferior a 10mg/ml o los niveles de proteína en suero son inferiores a 5.2 a 5.5 g/dl; cuando se muestrean entre 24 y 48 horas de edad (Bielmann *et al.*, 2010; Godden, 2008). La FTIP en becerras afecta la productividad a largo plazo - los niveles bajos de IgG se han asociado con una disminución en la producción de leche de primera y segunda lactancia y una mayor tasa de eliminación durante la primera lactancia (Beam *et al.*, 2009).

A pesar de los beneficios para la salud y la nutrición del becerro, el calostro es una fuente potencial de exposición temprana a los patógenos microbianos. Algunos estudios han informado que altas concentraciones de bacterias en el calostro pueden estar asociadas con una disminución en la absorción de inmunoglobulinas, lo que contribuye a una FTP (Godden *et al.*, 2012). Bacterias que causan enfermedades, incluidas *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP), *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* pueden ser transferidos a los recién nacidos a través de calostro y secreciones de leche (Elizondo-Salazar *et al.*, 2010).

La pasteurización es una medida posible para reducir la transferencia de patógenos potenciales. Sin embargo, algunos componentes del calostro son termolábiles. Se observó una disminución de la IgG sérica, la concentración de lactoferrina y la función de neutrófilos, lo que podría comprometer el estado inmunológico, en terneros alimentados con calostro bovino pasteurizado (Elizondo-Salazar *et al.*, 2010). Estudios recientes con calostro mostraron que las poblaciones bacterianas podrían reducirse drásticamente sin afectar los niveles de IgG y la viscosidad al calentar a una temperatura más baja que la utilizada para la pasteurización de la leche (Elizondo-Salazar y Heinrichs, 2009).

2.5. Colonización gastrointestinal

La composición de la microbiota intestinal varía debido a muchos factores ambientales y del huésped. En la cría intensiva del ganado, particularmente cuando los becerros destetados se colocan en sistemas de cría intensivos sin sus madres, la adquisición natural de microbiota autóctona se reduce drásticamente, lo que altera el ambiente intestinal y facilita el asentamiento de los patógenos (Frizzo *et al.*, 2010).

El desarrollo de poblaciones microbianas en el tracto gastrointestinal de la becerro recién nacida comienza poco después del nacimiento y mientras los patógenos autóctonos del ecosistema intestinal pueden vivir en armonía con el huésped durante este proceso, pueden volverse patógenos en determinadas circunstancias (Castro, 2014). Comunidades complejas y diversas de bacterias establecen relaciones mutualistas y simbióticas con el intestino después del nacimiento (Gutzeit *et al.*, 2014). Estas observaciones pueden tener relevancia

significativa para la respuesta de la becerro a la microflora comensal y a los patógenos entéricos (Fries *et al.*, 2011a).

El sistema inmunitario intestinal responde a la colonización bacteriana mediante la adquisición de hiporeactividad contra comensales y una preparación activa contra los patógenos. El equilibrio homeostático resultante implica una convivencia constante entre la microbiota y los linfocitos con la intermediación de las células epiteliales y dendríticas. Esta convivencia provoca la producción masiva de IgA, un anticuerpo no inflamatorio especializado en la protección de la mucosa (Gutzeit *et al.*, 2014).

En rumiantes, la mayor parte de la descomposición de la dieta ocurre en el rumen, un alargado compartimento anterior donde una comunidad diversa de bacterias y hongos principalmente fermentan material lignocelulósico derivado de plantas y otros sustratos en ácidos orgánicos de cadena corta (AOCC). Sumado a la nutrición, la microbiota del TGI también juega un papel importante en el desarrollo del hospedero. Por ejemplo, la microbiota nativa impacta al sistema inmune actuando como una barrera contra patógenos invasores al igual que promoviendo la proliferación de células inmunes. Además, los AOCC son necesarios para la formación papilar del rumen, y estos compuestos se derivan predominantemente por fermentación microbiana en el TGI. Tal desarrollo es crítico para el éxito del huésped después del destete (Dill-McFarland *et al.*, 2017).

Mientras se cree que el TGI es estéril en el útero, las bacterias se pueden detectar en las heces de los becerros tan pronto como 12 horas después del nacimiento, y se encuentran constantemente en el TGI antes del destete. Los anaerobios facultativos como *Streptococcus* y *Enterococcus* son colonizadores

tempranos que sirven para convertir el TGI en un ambiente completamente anaeróbico. Las bacterias estrictamente anaeróbicas establecen y dominan la comunidad en los primeros días después del nacimiento. Por el contrario, los hongos anaerobios y las arqueas metanogénicas no aparecen en el rumen hasta aproximadamente una semana después del nacimiento. Por lo tanto, la colonización del TGI de los becerros comienza muy temprano en la vida, tal vez incluso durante el proceso de parto como en otros mamíferos, pero es un proceso dinámico con una fluctuación considerable durante la historia temprana de la vida del animal (Dill-McFarland *et al.*, 2017).

Algunas observaciones indican que la microbiota anaeróbica del rumen alcanza rápidamente concentraciones de hasta 10^9 células/ml, por lo que se vuelve predominante el día 2 después del nacimiento. Las bacterias que son esenciales para la función de un rumen maduro pueden ser detectadas tan pronto como 1 día después del nacimiento, mucho antes de que el rumen este activo o incluso antes de que ocurra la ingestión de material vegetal. Además, en becerros alimentados solo con leche, todos los principales tipos de microorganismo del rumen y una amplia gama estable de funciones metabólicas microbianas se han identificado antes de introducir alimentos sólidos, lo que sugiere que la comunidad microbiana del rumen del bovino joven puede no ser rudimentaria como se creía (Castro *et al.*, 2016b).

Una vez que el sustrato fermentable, especialmente el almidón, es consumido por el becerro, la fermentación microbiana se desarrolla progresivamente y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) resultantes estimulan directamente el crecimiento y la función del epitelio ruminal (Castro *et al.*, 2016b).

Algunos organismos comensales tales como Bifidobacterias y especies de Lactobacilos han sido ligadas a incrementar la resistencia a infecciones patógenas y enfermedades diarreicas, por ejemplo, compitiendo por nutrientes y sitios de fijación en el epitelio intestinal, produciendo bacteriocinas, incrementando la producción de AGCC que disminuyen el pH intestinal y estimulan el sistema inmune (Castro, 2014).

Los AGCC eventualmente proporcionarían la mayor proporción de requerimientos energéticos del animal haciendo que el becerro sea energéticamente independiente de una fuente de leche externa, ya sea de leche de vaca o sustituto de leche. La suficiencia de fermentación, el tamaño adecuado del rumen y la capacidad de absorción total no se logran hasta después de aproximadamente 4 a 6 semanas, por lo que el becerro depende principalmente de la leche como fuente de nutrientes durante las primeras 1 a 4 semanas de vida (Castro *et al.*, 2016b).

Las comunidades microbianas en el TGI de un becerro joven son esenciales para el desarrollo anatómico y fisiológico que permite una transición de la leche a la alimentación sólida (Guzman *et al.*, 2015). Después de la colonización TGI, la microbiota de becerros aún debe sufrir una transformación considerable a medida que los animales son destetados (6 a 12 semanas) y se desarrollan hasta la madurez reproductiva (1 año) (Dill-McFarland *et al.*, 2017).

2.6. Probióticos

Durante las últimas décadas, los aditivos microbianos (probióticos) se han utilizado ampliamente en la nutrición de rumiantes para mejorar el crecimiento, la

lactancia y la salud debido a sus efectos sobre la ingesta de materia seca (MS), el pH del rumen y la digestibilidad de nutrientes (Galvao *et al.*, 2005). La importancia de los probióticos en cuanto a su uso en la alimentación de los animales de granja, se basa en las propiedades que se les atribuye para mejorar la eficiencia de la conversión alimenticia y como promotores de crecimiento (Peña *et al.*, 2019).

Los probióticos son microorganismos vivos que proporcionan efectos beneficiosos para los huéspedes cuando se administran en cantidades adecuadas. El uso de microorganismos autóctonos con capacidad probiótica proporciona una alternativa eficiente para el tratamiento y prevención de algunas enfermedades de los animales (Frizzo *et al.*, 2010). Los probióticos son preparaciones seleccionadas de microbios beneficiosos, principalmente especies de lactobacilos, estreptococos y bacilos. Se cree que influyen en la flora intestinal mediante la exclusión competitiva y la actividad antagonista de las bacterias patógenas para el huésped (Melegy *et al.*, 2011).

El uso de probióticos es una alternativa potencial al uso de antimicrobianos en la alimentación del ganado (Foditsch *et al.*, 2015). Se ha demostrado que los probióticos no producen resistencia a los medicamentos, ni residuos de medicamentos cuando se alimentan directamente a humanos y animales. Exhiben beneficios potenciales al mejorar el equilibrio microbiano intestinal, promoviendo la digestión intestinal y aumentando el rendimiento del crecimiento animal. Datos recientes también han indicado que algunos probióticos son inmunomoduladores eficientes, que modifican la respuesta inmune de las células T- ayudantes (Th1 y Th2) y, por lo tanto, mejoran la función inmune del huésped (Sun *et al.*, 2010).

A diferencia de las bacterias del ácido láctico, las especies de *Bacillus* no se encuentran normalmente en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, se ha informado que *Bacillus subtilis* tiene la capacidad favorable de mantener el equilibrio de la microflora en el TGI y aumentar el rendimiento del animal cuando se administra por vía oral en cantidades adecuadas (Sun *et al.*, 2010). Se ha mostrado previamente que la cepa *Bacillus subtilis* PB6 es efectiva contra *Clostridium perfringens* in vitro y también se ha mostrado su eficiencia en la reducción de los recuentos de *Clostridium perfringens* in vivo. Se cree que la actividad anti-clostridial de *Bacillus subtilis* PB6 se debe a la producción de una bacteriocina (Wee-Ming y Hai-Meng, 2008).

Los probióticos, como suplementos preventivos en los alimentos, constituyen una respuesta a la tendencia mundial de promover alimentos saludables naturales y con una mejor calidad nutricional (Frizzo *et al.*, 2010).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó del 10 de noviembre del 2018 al 25 de febrero del 2019 en un establo ubicado en el municipio de Matamoros en el estado de Coahuila; se encuentra localizado en la región semi-desértica del norte de México a una altura de 1170 msnm, entre los paralelos 28° 11' y 28° 11' de latitud norte y los meridianos 105° 28' y 105° 28' de longitud oeste (INEGI, 2009).

Se utilizó el calostro de primer ordeño de vacas primíparas y múltiparas de la raza Holstein Friesian dentro de las primeras 24 h después del parto. Inmediatamente después de la colecta, se determinará la densidad de este producto, utilizando un calostrómetro (Biogenics Inc., Mapleton, Or., USA ®), a una temperatura de 22°C al momento de la medición. El calostro se colocó en bolsas de plástico Ziploc ® de 26,8 x 27,3 cm (2 L por bolsa) y se congeló a -20°C hasta el suministro a las becerras.

Para evaluar la transferencia de inmunidad en becerras Holstein suplementadas con *Bacillus subtilis* PB6 se seleccionaron 60 becerras de manera aleatoria, las cuales fueron separadas de la madre al nacimiento y alojadas individualmente en jaulas de metal previamente lavadas y desinfectadas. Los tratamientos quedaron como sigue: T1=testigo, T2= 10g/becerra/día. La primera toma se administró a los 20 min posteriores al nacimiento, T3= 10g/becerra/día. La primera toma fue administrada entre las 12 y 24 h posteriores al nacimiento. En todos los tratamientos se suministraron 432 L de leche entera pasteurizada dividida en dos tomas/día 07:00 15:00 respectivamente, durante 60 días, la adición del *Bacillus subtilis* PB6 se realizó en la tina de leche al momento de la alimentación de las mismas. La primera toma de calostro (2 L•toma) se suministró dentro de las 2 h

después del nacimiento, posteriormente se les proporcionó una segunda 6 h posteriores a la primera. Se ofreció agua a libre acceso a partir del segundo día de vida. El concentrado iniciador se suministró diariamente por la mañana y de ser necesario se servía por la tarde.

Entre las 24 a 48 y entre 96 y 120 h de vida, se obtuvieron muestras de sangre de la vena yugular, 6.0 mL de cada becerro en tubos Vacutainer® la cual se dejó coagular a temperatura ambiente hasta la separación del suero. La lectura en un refractómetro (Vet 360, Reichert Inc.®) del suero ($\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$ de proteína sérica) se empleó como variable de la transferencia de inmunidad pasiva hacia las becerros. Se consideró $>5.5 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$, una transferencia exitosa de inmunidad pasiva; 5.0 a 5.4 $\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$, una transferencia medianamente exitosa y $<5.0 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$, una transferencia incompleta de inmunidad pasiva (Quigley, 2001). Cada tratamiento constó de 30 repeticiones considerando a cada becerro como una unidad experimental.

El análisis estadístico para estimar la transferencia de inmunidad se realizó mediante un análisis de varianza y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey. Se empleó el valor de $P < 0.05$ para considerar diferencia estadística. Los análisis se ejecutaron utilizando el paquete estadístico de Olivares-Sáenz (2012).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio (Figuras 1 y 2) nos indican que no existió diferencia estadística significativa $P < 0.05$ entre los tratamientos. Se observó una mayor transferencia de inmunidad en los tratamientos donde se suministró el *Bacillus subtilis* PB6.

La medición de la proteína sérica en suero mediante el refractómetro como estimación de la concentración de inmunoglobulinas en suero es una prueba sencilla para evaluar la transferencia de inmunidad pasiva. McGuirk y Collins (2004), sugieren que una meta sería $\geq 80\%$ de las becerras sometidas a la prueba con él refractómetro alcancen o superen el punto de referencia ($5.5 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$) de proteína sérica.

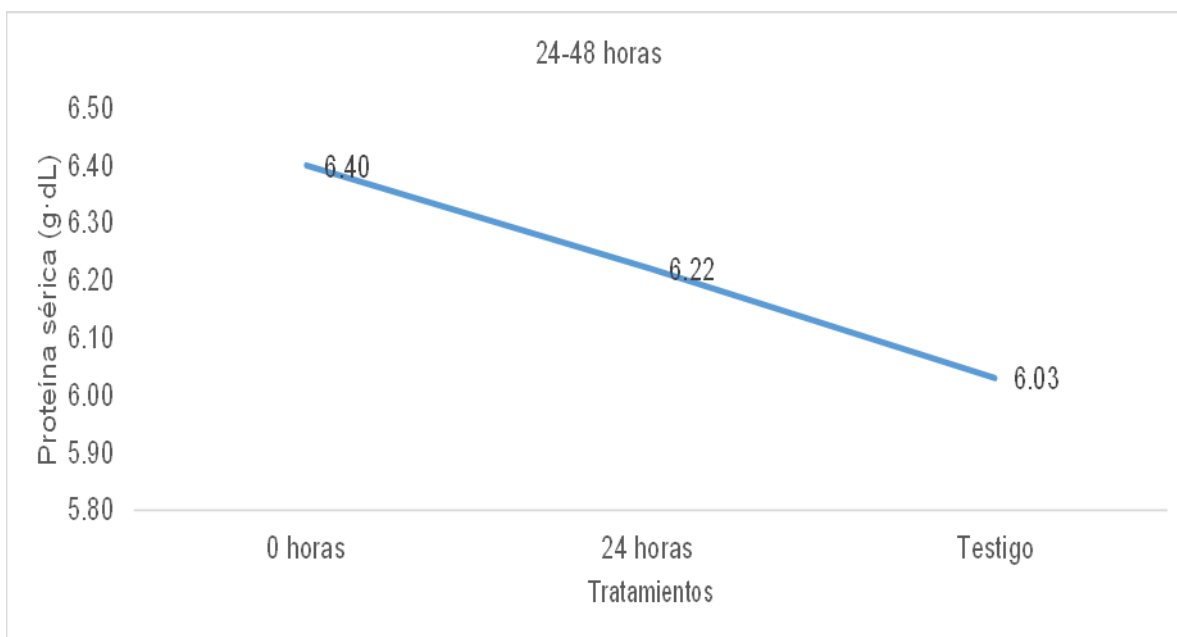


Figura 1. Promedio de proteína sérica ($\text{g}\cdot\text{dL}$) en becerras suplementadas con *Bacillus subtilis* PB6 dentro de las 24-48 h de vida.

Se considera $>5.5 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$, una transferencia exitosa de inmunidad pasiva; 5.0 a $5.4 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$, una transferencia medianamente exitosa y $<5.0 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$, una

transferencia incompleta de inmunidad pasiva (Quigley, 2001). La transferencia de inmunidad pasiva, a través del calostro materno, es primordial para la salud y supervivencia de las beceras en las primeras semanas de vida. Elizondo-Salazar y Heinrichs (2009), mencionan que la alimentación con calostro es un paso crítico para elevar la salud de las beceras debido a la fisiología y metabolismo de la especie bovina.

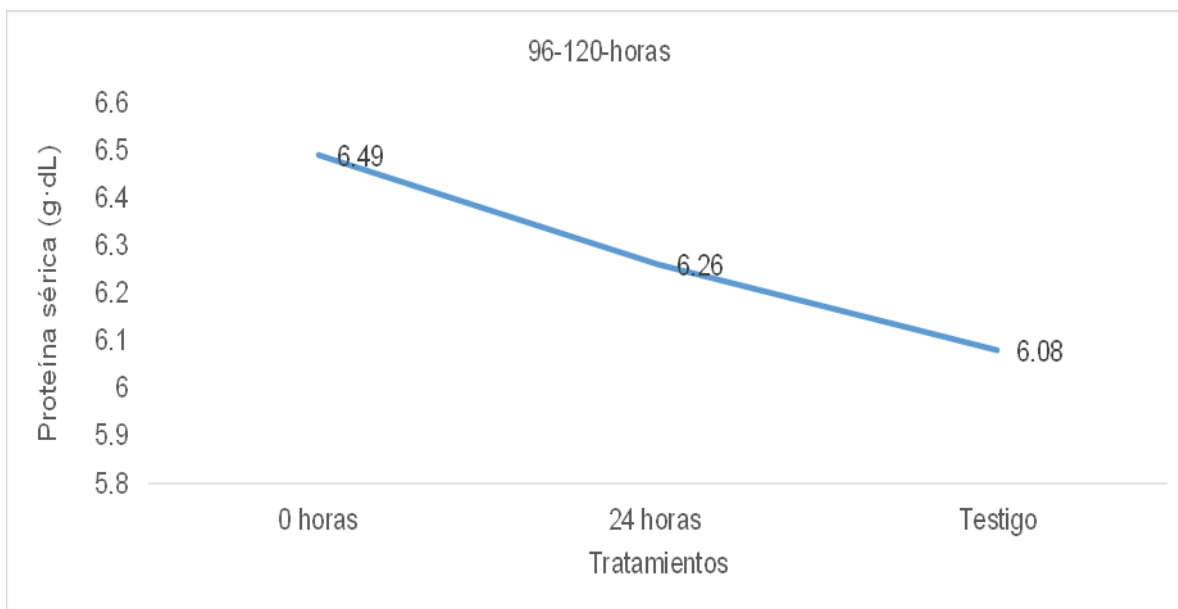


Figura 2. Promedio de proteína sérica (g·dL) en beceras suplementadas con *Bacillus subtilis* PB6 dentro de las 96-120 h de vida.

Para lograr el éxito de la transferencia pasiva de Ig, la becerca debe consumir una concentración suficiente de Ig del calostro de primera calidad y luego ser capaz de absorber con éxito una cantidad suficiente de estas moléculas en su plasma sanguíneo (Godden, 2008).

La falla en la transferencia pasiva (FPT) ha sido vinculada con el incremento de morbilidad, mortalidad y una reducción en la tasa de crecimiento de las beceras. La FPT ocurre cuando la becerca no absorbe una adecuada cantidad de Ig, e incluso

cuando las becerras que recibieron su alimentación temprana, con gran cantidad de calostro y alta concentración de Ig, presentan considerable variabilidad en los niveles de transferencia pasiva (Haines y Godden, 2011).

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye que en las variables evaluadas no se observó diferencia estadística $P < 0.05$ entre los tratamientos. En relación a los animales que fueron suplementados con *Bacillus subtilis* PB6 se observa un incremento notable en la transferencia de inmunidad. Por lo que se recomienda realizar estudios complementarios para determinar el efecto de *Bacillus subtilis* PB6 sobre el desarrollo de las becerras durante la lactancia y producción.

6. LITERATURA CITADA

- Ahangarani, M. A., Bach, A., Bassols, A., Vidal, M., Valent, D., Ruiz-Herrera, S. y Terré, M. 2019. Short communication: Performance, intestinal permeability, and metabolic profile of calves fed a milk replacer suplementes with glutamic acid. *J. of Dairy Sci.* 103(1):1.
- Beam, A. L., Lombard, J. E., Koprak, C. A., Garber, L. P., Winter, A. L., Hicks, J. A. y Schlater J. L. 2009. Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *J. Dairy Sci.* 92(8):3973.
- Beltran, C. N. L. 2011. Inmunidad del becerro recién nacido. Monografía. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Bielmann, V., Gillan, J., Perkins, N.R., Skidmore, A.L., Godden, S. y Leslie, K.E. 2010. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93(8):3713.
- Castro, M. J. 2014. Calf intestinal health: assessment and dietary intervention for its improvement. Tesis Doctorado. University of Illinois. Urbana, Illinois, Estados Unidos de América.
- Castro, J. J., Gomez, A., White, B. A., Mangian, H. J., Loften, J. R. y Drackley, J. K. 2016a. Changes in the intestinal bacterial community, short-chain fatty acid profile, and intestinal development of preweaned Holstein calves. 1. Effects of prebiotic supplementation depend on site and age. *Journal of Dairy Science.* 99(12):9682.
- Castro, J. J., Gomez, A., White, B., Loften, J. R. y Drackley, J. K. 2016b. Changes in the intestinal bacterial community, short-chain fatty acid profile, and intestinal development of preweaned Holstein calves. 2. Effects of gastrointestinal site and age. *Journal of Dairy Science.* 99(12):1.
- Dill-McFarland, K.A., Breaker, J.D. y Suen, G. 2017. Microbial succession in the gastrointestinal tract of dairy cows from 2 weeks to first lactation. *Science Reports.* 7:1.
- Elizondo-Salazar, J. A. 2015. Concentración de inmunoglobulinas totales en calostros de vacas en explotaciones lecheras de Costa Rica. *Agron. Mesoam.* 26(1):30.
- Elizondo-Salazar, J. A. 2015. Caracterización de la transferencia de inmunidad pasiva en terneras de lechería. *Agron. Mesoam.* 26(2):204.

- Elizondo-Salazar, J. A., Jayarao, B. M. y Heinrichs, A. J. 2010. Effect of heat treatment of bovine colostrum on bacterial counts, viscosity, and immunoglobulin G concentration. *J. Dairy Sci.* 93(3):961.
- Elizondo-Salazar, J. A. y Heinrichs, A. J. 2009. Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy heifers: Effects on growth characteristics and blood parameters. *J. Dairy Sci.* 92(7):3266.
- Elizondo-Salazar, J. A. 2007. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *AGRONOMÍA MESOAMERICANA.* 18(2):273.
- Foditsch, C., Van Vleck, R., Korzune, E., Souza, M., Carvalho, E., Santin, T., Carvalho, R. 2015. Oral Administration of *Faecalibacterium prausnitzii* decreased the incidence of severe diarrhea and related mortality rate and increased weight gain in preweaned dairy heifers. *PLOS ONE.* 10(12):1.
- Fries, P., Popowych, Y. I., Guan, L. L., Beskorwayne, T., Potter, A., Babiuk, L., Griebel, P. J. 2011a. Mucosal dendritic cell subpopulations in the small intestine of newborn calves. *Developmental and Comparative Immunology.* 35:1038.
- Fries, P., Popowych, Y. I., Guan, L. L., Griebel, P. J. 2011b. Age-related changes in the distribution and frequency of myeloid and T cell populations in the small intestine of calves. *Cellular Immunology.* 271:428.
- Frizzo, L. S., Bertozzi, E., Soto, L. P., Sequeira, G. J., Rodriguez, A. R. y Rosmini, M. R. 2010. Studies on translocation, acute oral toxicity and intestinal colonization of potentially probiotic lactic acid bacteria administered during calf rearing. *Livestock Science.* 128: 28.
- Galvao, K. N., Santos, J. E. P., Coscioni, A., Villaseñor, M., Sicho, W. M. y Berge, A. C. B. 2005. Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance of patterns antibiotics resistance in fecal *Escherichia coli*. *Reprod Nutr Dev.* 45:427.
- Godden, S. 2008. Colostrum management for dairy calves. *Vet Clin Food Anim.* 24:19.
- Godden, S. M., Smolenski, D. J., Donahue, M., Oakes, J. M., Bey, R., Wells, S., Sreevatsan, S., Stabel, J. y Fetrow, J. 2012. Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *J. Dairy Sci.* 95(7):4029-4030.
- González, A. R., Reboloso, P. E., González, A. J., Peña, R. B. P., Ávila, C. R. y Rocha, V. L. 2017. Efecto del selenio y vitamina B12 sobre la transferencia

pasiva de inmunidad en becerras recién nacidas Holstein friesland. *AGROFAZ*. 17(1):28.

- González, A. R., Peña, R. B. P., González, A. J. Cantú, B. J. E y Rodríguez, D. N. 2019. Transferencia de inmunidad pasiva, salud y crecimiento de becerros empleando calostro materno pasteurizado vs suplemento. *Agraria*. 16(2):50.
- Gruse, J., Kanitz, E., Weitzel, J. M., Tuchscherer, A., Stefaniak, T., Jawor, P., Wolfram, S., Hammon, H. M. 2016. Quercetin feeding in newborn dairy calves cannot compensate colostrum deprivation: study on metabolic, antioxidative and inflammatory traits. *PLOS ONE*. 11(1):1.
- Gutzeit, C., Magri, G. y Cerutti, A. 2014. Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction. *Immunol Rev*. 260(1):1-2.
- Guzman, C. E., Bereza-Malcolm, L. T., De Groef, B., Franks, A. E. 2015. Presence of selected methanogens, fibrolytic bacteria, and proteobacteria in the gastrointestinal tract of neonatal dairy calves from birth to 72 hours. *PLOS ONE*. 10(7):1.
- Haines, D. M. y Godden, S. M. 2011. Short communication: Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. III. Effect of artificial mothering. *J. Dairy Sci*. 94(3):1536.
- Harris, T. L. 2016. Immunological effects of yeast products on pre-weaned dairy calves. Tesis de doctorado. Texas Tech University. Texas, Estados Unidos de América.
- Jaster, E. H. 2005. Evaluation of quality, quantity, and timing of colostrum feeding on immunoglobulin G1 absorption in Jersey calves. *J. Dairy Sci*. 88(1):296.
- McGuirk, S. M. y Collins, M. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet Clin Food Anim Pract*. 20(3):593-603.
- Meale, S. J., Chaucheyras-Durand, F., Berends, H., Guans, L. L. y Steele, M. A. 2017. From pre-to postweaning: transformation of the young calf's gastrointestinal tract. *J. Dairy Sci*. 100(7):1-2.
- Melegy, T., Khaled, N. F., El-Bana, R. y Abdellatif, H. 2011. Effect of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* PB6 (Clostat) on performance, immunity, gut health and carcass traits in broilers. *Journal of American Science*. 7(12):891.
- Peña, R. B. P., González, A. R., Rocha, V. J. L., González, A. J. y Rodríguez, H. K. 2019. Efecto de la alimentación de becerras Holstein suplementadas con

Bacillus subtilis PB6 en: morbilidad y mortalidad. Ciencia e Innovación. 2(1):248.

- Shapovalov, S., Mikhaylov, S., Andrey, S., Cheresheva, Y., Tsomartova, D., Ivanova, M., Tsomartova, E., Shapovalova, D. y Pavlova, Mariia. 2019. Calf demand provision by mammary gland secretion during the first decade of post-natal development. Heliyon. 5:1.
- Sun, P., Wang, J. Q. y Zhang, H. T. 2010. Effects of Bacillus subtilis natto on performance and immune function of preweaning calves. J. Dairy Sci. 93(12):5851.
- Quigley, J. 2001. Calf Note #39. Using A Refractometer. [En Línea]. [Http://Www.Calfnotes.Com/Pdffiles/Cn039.Pdf](http://www.calfnotes.com/Pdffiles/Cn039.Pdf) [Consulta: 12 de Enero de 2020].
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E. y Barrington, G. M. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. J Vet Intern Med. 14:569.