

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS EN BECERRAS Y SU
IMPACTO EN LA TRANSFERENCIA DE INMUNIDAD PASIVA, MEDIANTE EL
USO DEL REFRACTÓMETRO Y CALOSTRODENSÍMETRO**

T E S I S P R O F E S I O N A L
PARA OBTENER EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A
P.M.V.Z. AZUL LUCERO CORTE FRAGOSO

DIRECTOR DE TESIS:
MVZ. EPA. MEC. GABRIEL GERARDO AGUIRRE ESPÍNDOLA

ASESOR:
MC. FELÍCITAS VÁZQUEZ FLORES

TECAMACHALCO, PUEBLA 2015

HOJA DE FIRMAS

P.M.V.Z. AZUL LUCERO CORTE FRAGOSO

TESISTA

MVZ. EPA. MEC. GABRIEL GERARDO AGUIRRE ESPÍNDOLA

DIRECTOR DE TESIS

MC. FELÍCITAS VÁZQUEZ FLORES

ASESOR DE TESIS:

MVZ. JOSE ANTONIO DÍAZ REYNA

SINODAL DE TESIS

MVZ. MC. MIGUEL ÁNGEL ZAMBRANO GONZALEZ

SINODAL DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia y amigos por el apoyo que me brindaron en el transcurso de este proceso incluso cuando las exigencias de mi profesión hicieron que el tiempo que les dedicara fuera escaso, en especial agradezco a mis asesores de tesis por la atención y apoyo que me brindaron siendo consciente que sin ellos esto no hubiera sido posible.

ABREVIATURAS

Ig: Inmunoglobulinas

SG: Gravedad específica

ADCC: Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

BCR: Receptores de anticuerpos B

NH₂: Extremo amino o funciones amina

H: Cadenas pesadas de las inmunoglobulinas

L: Cadenas ligeras de las inmunoglobulinas

KDa: Kilo Dalton

Fab: Fragmentos de unión de antígenos

Fc: Fragmentos cristalizables

FcR: Receptores de fragmentos cristalizables

VI, VH: Dominios variables

CL, CH: Dominios constantes

CHO: Grupo carbohidrato

COOH: Extremo carboxilo

CDRI, CDR2, CDR3: Regiones hipervariables de la cadena ligera

C_H1, C_H2, C_H3: Dominios constantes

C3b: Elemento para la opsonización por fagocitosis

FTP: Fallo de la transferencia pasiva de inmunidad

mg: Miligramos

dL: Decilitro

ml: Mililitro

INDICE GENERAL

	PAGINA
Agradecimientos	III
Abreviaturas	IV
Índice	V
Resumen	VII
1. Introducción	8
2. Antecedentes	10
2.1. Inmunoglobulinas y sus características estructurales.	10
2.2. Estructura primaria de las inmunoglobulinas	10
2.3. Estructura secundaria de las inmunoglobulinas	12
2.4. Estructura terciaria de las inmunoglobulinas	12
2.5. Tipos de inmunoglobulina	13
2.6. IgG	14
2.7. IgM	16
2.8. IgA	17
2.9. IgE	18
2.10. IgD	19
2.11. Clases o isotipos, subclases, alotipos e idiotipos de Igs	20
2.12. Inmunoglobulinas en bovinos	22
2.13. Funciones de inmunoglobulinas	23

3. Inmunidad pasiva	25
3.1. Composición de Igs en calostro y leche.	26
3.2. Leucocitos, linfocitos y otras células	28
3.3. Citoquinas	29
4. Absorción intestinal de Igs	30
4.1. Antecedentes inmunológicos	32
4.2. Comportamiento de inmunoglobulinas	33
5. Fallo de la transferencia pasiva de inmunidad	37
6. Justificación	38
7. Hipótesis	39
8. Objetivos generales	39
9. Objetivos específicos	39
10. Metodología	40
11. Resultados	42
12. Discusión	44
13. Conclusiones	46
14. Referencias bibliográficas	47
15. Anexos	53

RESUMEN

Los becerros al nacer no presentan defensas inmunológicas debido al tipo de placenta cotiledonaria (epiteliocorial) la cual impide el paso de anticuerpos maternos a través de la placenta, dándole así el nombre de agamaglobulinémicos siendo a través del calostro como se proporciona una inmunidad pasiva por lo que resulta muy importante la cantidad, calidad y el tiempo de suministro del calostro durante las primeras horas de vida (no más de 6 horas), debido a que aún existe una permeabilidad de la pared intestinal para la absorción de anticuerpos, la cual se pierde con el tiempo (24 horas después del nacimiento). La agamaglobulinemia es la principal causa de morbilidad y mortalidad en estos animales. Por lo que, cuando no existe una transferencia de inmunidad calostrada apropiada se presentan diferentes grados de hipogamaglobulinemia. En este trabajo, se determinaron las concentraciones de proteínas plasmáticas en el suero sanguíneo de 33 becerros por medio de refractometría. Además se determinó la densidad del calostro mediante el calostrodensímetro y se relacionó directamente con su concentración de inmunoglobulinas. El 26% de individuos no alcanzaron los niveles adecuados de proteínas plasmáticas a las 24 horas, pero los alcanzaron a las 48 horas. Cuando los becerros consumen al menos 2 litros de calostro de buena calidad entre las 4 y 6 horas de nacidos, alcanzan niveles séricos de más de 5.0 g/100 ml. Estos resultados muestran que es importante evaluar la calidad del calostro que consumen los becerros, así como los niveles séricos de proteínas plasmáticas, para tratar de garantizar una buena protección inmunológica contra problemas septicémicos e infecciosos.

1. INTRODUCCIÓN

Al momento del nacimiento los becerros no presentan defensas inmunológicas maternas, debido al tipo de placenta cotiledonaria (epiteliocorial) que presentan. Esta condición impide el paso de anticuerpos maternos a través de la placenta (Tizard, 2009) y es a través del calostro como se proporciona una inmunidad pasiva (Martínez, 2003; Bouda, 1994). Es por esta razón que resulta muy importante la cantidad, calidad y tiempo de suministro del calostro para garantizar una adecuada protección a la cría durante las primeras horas de vida, este tiempo no debiera ampliarse de 6 horas, debido a que aún existe una permeabilidad de la pared intestinal para la absorción de anticuerpos, la cual se pierde con el tiempo, éste ha sido calculado en promedio 24 horas después del nacimiento. El suministro de calostro de buena calidad en los terneros, se recomienda en relación al 10% del peso corporal, repartido en dos o tres tomas con una mamila limpia (Wittum, 1995; Lorenz, 2011; Boyd y Greene, 1994; McGee *et al.*, 2006) los becerros que reciben cantidades adecuadas de calostro de buena calidad y absorben suficientes inmunoglobulinas, presentarán una adecuada protección pasiva, en contra de las principales enfermedades infecciosas del medio, en comparación con los que presentan insuficientes inmunoglobulinas o menor protección inmunológica (Elizondo y Heinrich, 2009; Boyd, 1972).

La calidad del calostro tiene relación directa con la concentración de inmunoglobulinas (Ig), ya que a mayor concentración de Ig, la calidad del calostro será mejor (Quiroz *et al.*, 2001; Klims *et al.*, 1996). En el calostro de todos los rumiantes las Ig más abundantes son la IgG (30mg/100ml), seguida de la IgM (5mg/100ml) y la IgA (3mg/100ml) (Bouda, 1994; Besser, 1998; Murphy *et al.*, 2005; Rea *et al.*, 1999; Martínez, 1998; Medina, 1996). También se ha establecido una relación entre la densidad del calostro y su concentración de Ig, por tanto, la densidad constituye un indicativo de la calidad del calostro (Mc Gee, 2006; Klimes *et al.*, 1996; USDA, 2007; Mc Martin *et al.*, 2006).

Algunas de las causas que provocan que el calostro no sea ingerido en un tiempo adecuado son la presencia de becerros débiles al nacimiento o prematuros, vacas con bajo instinto materno, alteración en la conformación de los pezones y problemas de estrés por manipulaciones excesivas del becerro durante el parto o partos distócicos (Bouda, 1994; Medina, 1994). Entre las causas de disminución en la concentración de Ig calostrales se encuentran el tiempo de secado de la vaca, la presencia de mastitis, el

número de ordeños posparto, las infecciones sistémicas de la madre, los problemas metabólicos y deficiencias de proteínas y minerales en la ración alimenticia (USDA, 2007; Chigerwe *et al.*, 2008; Godden *et al.*, 2009; Chigerwe *et al.*, 2009).

El volumen de calostro que consumen los becerros tiene relación directa con la transferencia de inmunidad pasiva, ya que un consumo deficiente resulta en una hipogamaglobulinemia (Medina, 1994; Quigley y Martin, 1995; Sultan y Hamed, 1995; Weaver *et al.*, 2000), que predispone a los becerros a diversas infecciones, como la onfalitis, onfaloflebitis, artritis séptica, septicemias, neumonías y enteritis que causan diarrea (Chigerwe, *et al.*, 2008).

Las pérdidas económicas que se generan como consecuencia de la morbilidad y mortalidad en estos animales son cuantiosas (Murphy, *et al.*, 2005, Rea, *et al.*, 1999), por esta razón es importante que se conozcan las características, el manejo del calostro y las técnicas de como evaluar una adecuada inmunidad pasiva en los becerros.

Se han descrito distintas técnicas para conocer la concentración de Ig presentes en el calostro y en sangre, en forma directa o indirecta. La calidad del calostro se evalúa de diferentes formas, como son la densidad específica con el calostrodensímetro, medición de proteínas por el método de Biuret o gamaglobulinas por electroforesis en el suero de calostro, determinación de proteínas totales en el suero de los becerros por refractometría o turbidez del sulfato de zinc; prueba de ELISA e inmunodifusión. A través de la combinación de algunas de estas técnicas es posible conocer la eficiencia o la falla parcial o total de la transferencia de Ig a los becerros (Bouda J. 1994, Medina CM. 1994, Mc Martin, *et al.*, 2006, Quigley, *et al.*, 1995).

2. ANTECEDENTES

2.1. INMUNOGLOBULINAS Y SUS CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES.

Las inmunoglobulinas (Ig) o anticuerpos, base de la inmunidad humoral, son glucoproteínas producidas por las células plasmáticas como respuesta a un inmunógeno, con capacidad de reacción específica frente a esa molécula que indujo sus síntesis (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

Las inmunoglobulinas se concentran principalmente en el suero de los animales, y en otros fluidos corporales (como la leche y la saliva), aunque escasamente en las mucosas. Se presentan cuatro clases principales de inmunoglobulinas en todos los animales domésticos (IgG, IgM, IgA e IgE). Existe además una quinta clase (IgD), restringida a algunas especies de mamíferos y peces (Pastoret, 1998).

Como principales funciones biológicas de las Ig figuran la activación del complemento por vía clásica, la aglutinación de partículas, la protección de mucosas, la neutralización, la opsonización como mecanismo de fagocitosis, y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), o también pueden encontrarse unidas a linfocitos B, en cuyo caso se denominan receptores de linfocitos B (BCR) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

2.2. ESTRUCTURA PRIMARIA DE LAS INMUNOGLOBULINAS.

El modelo estructural básico, es una sucesión de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos, representando cuatro cadenas peptídicas iguales dos a dos (Figura 1) cadenas pesadas H, y cadenas ligeras o L. Cada una de las 2 cadenas ligeras se encuentran unidas a su correspondiente cadena pesada por medio de un enlace disulfuro (covalente), lo mismo que las 2 cadenas pesadas entre sí, además de por otra serie de fuerzas no covalentes, de menor entidad. Las cadenas ligeras se encuentran alineadas con sus respectivas cadenas en los extremos NH_2 de tal modo que el conjunto de la molécula de Ig adopta la morfología de la letra "Y". La región donde se localiza el puente de disulfuro que une las dos cadenas pesadas se denomina región de bisagra y gracias a ella las moléculas de Ig disponen de cierta flexibilidad, pudiendo adaptarse a los determinantes antigénicos (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

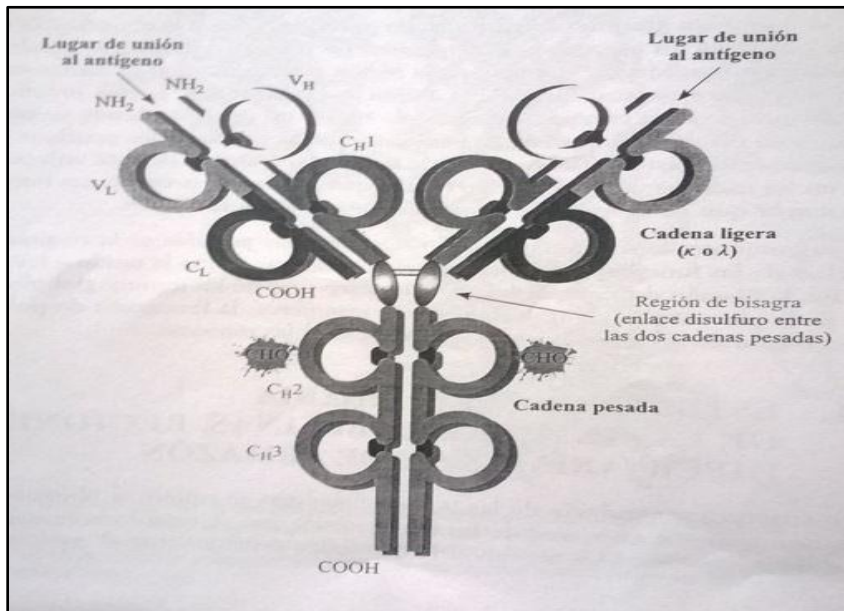


Figura 1. Estructura primaria de una inmunoglobulina (IgG): cadenas ligeras y pesadas con sus dominios variables (V_L, V_H), constantes (C_L, C_H1) región de bisagra, CHO, grupo carbohidrato NH₂, extremo amino; COOH, extremo carboxilo, las rayas gruesas negras representan enlaces disulfuros intercatenarios en cada uno de los dominios que integran la estructura de la inmunoglobulina.

Al fragmentar la molécula de la Ig, se observan 3 porciones, cada una de ellas con un peso molecular de 50 KDa, que pueden así mismo separarse mediante la técnica de electroforesis (Figura 1) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

- Dos subunidades idénticas, con capacidad para unirse a determinantes antigénicos específicos, pero sin capacidad para precipitarlos, que se conocen como Fab (fragmentos de unión de antígenos).
- La tercera subunidad obtenida, sin posibilidad de unión a los determinantes antigénicos, pero cristalizable una vez purificada recibe la denominación de Fc (fragmento cristalizable). Esta fracción Fc es capaz de llevar a cabo diversas funciones biológicas características de las inmunoglobulinas entre ellas, la unión al complemento y a receptores específicos (denominados receptores Fc o FcR) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

2.3. ESTRUCTURA SECUNDARIA DE LAS INMUNOGLOBULINAS.

La estructura secundaria de las Ig hace referencia al pliegue de la estructura primaria, en virtud de las interacciones que se establecen entre los aminoácidos próximos, lo que define el concepto de dominio dentro de la molécula de Ig. Estos dominios presentan una estructura característica, las láminas plegadas β , común a todas las moléculas incluidas en la súper familia de las Igs (Pastoret, 1998).

2.4. ESTRUCTURAS TERCIARIAS Y CUATERNARIAS DE LAS INMUNOGLOBULINAS.

La estructura terciaria de las Igs, corresponde a la forma tridimensional de la estructura secundaria, consecuencia de los enlaces que establecen entre si aquellos aminoácidos que en la estructura primaria se encuentran muy alejados, pero que después del plegamiento se sitúa muy próximos. Es esta estructura terciaria, globular, la que permite la aproximación de las regiones hipervariables de las cadenas ligeras y pesadas llegando a conformar un espacio tridimensional en el que encajan específica y extremadamente los determinantes antigénicos que habrán de unirse a estas regiones hipervariables de la molécula del anticuerpo, mediante los enlaces no covalentes (Figura 2) (Presciltt,2004).

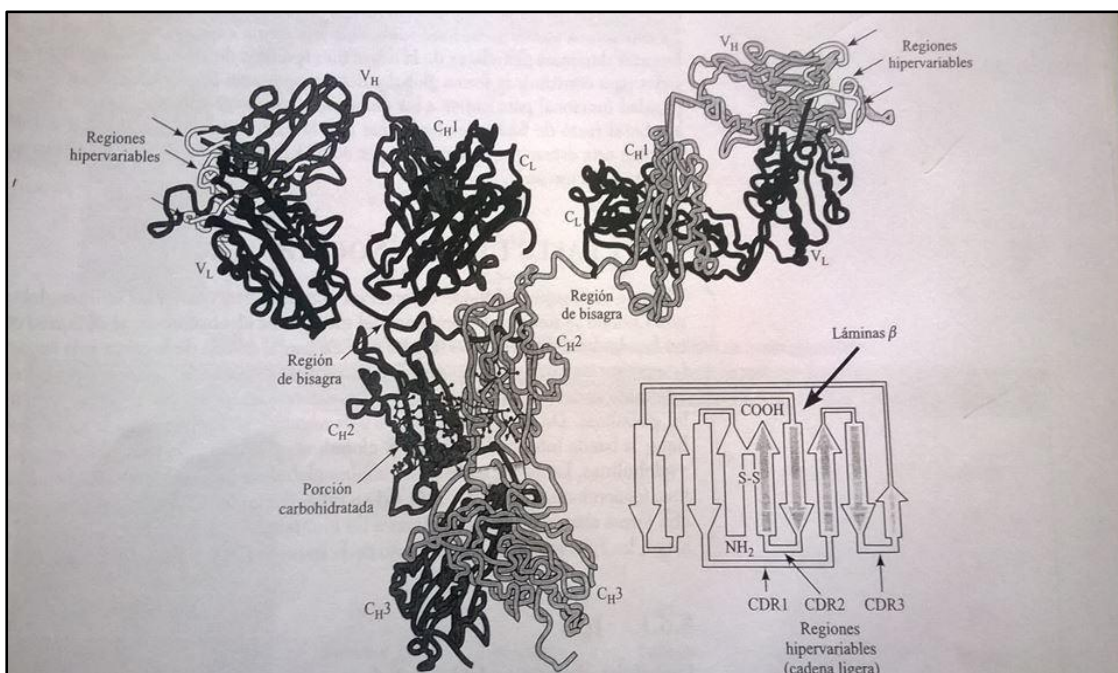


Figura 2. Estructura terciaria de una Ig obtenida mediante análisis cristalográfico con rayos X, además de observarse la estructura tridimensional de cada uno de los dominios globulares de las cadenas ligeras y pesadas, la región de la bisagra y la porción carbohidratada de la molécula, amplía la disposición en láminas β del dominio variable de una cadena ligera (VI), el enlace disulfuro que uniendo dos moléculas de cistina, estabilizan este dominio, así como la localización de las regiones hipervariables o determinantes de complementariedad (CDR1, CDR2 y CDR3) en este dominio variable de la cadena ligera.

La estructura cuaternaria hace referencia a la forma en que se combinan los diferentes dominios globulares de la estructura terciaria de las cadenas ligeras y pesadas para constituir la forma global y definitiva de una Ig, con capacidad funcional para unirse a los determinantes antigénicos específicos y llevar a cabo el resto de funciones biológicas que la caracterizan (Presciltt,2004).

2.5. TIPOS DE INMUNOGLOBULINAS

El suero es el principal fluido corporal en el que se concentran las Ig, cuando se someten las proteínas del suero a una electroforesis se obtiene cuatro bandas bien diferenciadas. La banda dotada de la carga más negativa y que por lo tanto, migra más cerca del polo positivo consta de una única proteína, la albumina sérica, mientras que

las 3 bandas restantes contienen varias proteínas, las globulinas. De estas 3 bandas, la más negativa está integrada por las α -globulinas, la banda intermedia, por las β -globulinas y la de carga más positiva por las γ -globulinas. La mayor parte de las Igs se corresponden a la última (concretamente IgA, IgG, IgD e IgE). Por lo tanto el término γ -globulinas es otra forma alternativa de denominar las Igs o anticuerpos. Sin embargo las IgM migran en el conjunto de la fracción β -globulínica (Figura 3) (Presciltt, 2004).

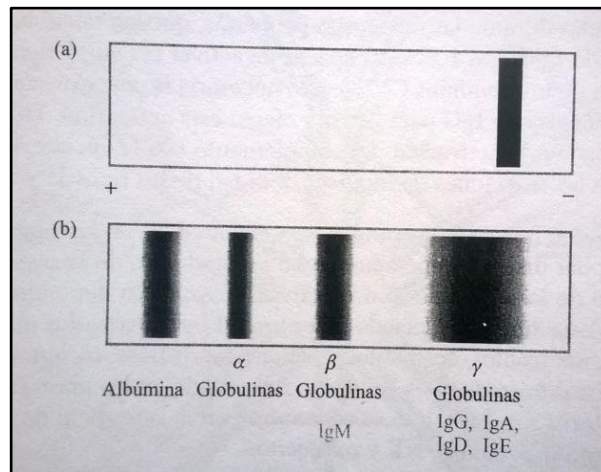


Figura 3. Electroforesis de las proteínas séricas de un animal, migración de la Albumina, las α -globulinas, las β -globulinas y las γ -globulinas. En el panel (a) se muestra el lugar donde se aplica el suero, y en el (b) el resultado de la electroforesis. Las IgM Migran entre el conjunto de las β -globulinas migra entre el conjunto de las γ .globulinas.

2.6. IgG.

Las células plasmáticas del bazo, de los ganglios linfáticos y de la medula ósea, son las responsables de la producción y secreción de las IgG, que pasan posteriormente al torrente sanguíneo, para convertirse en Ig de mayor concentración en sangre (Cuadro 1). Su estructura responde al modelo básico, es decir consta de dos cadenas ligeras idénticas de tipo κ o λ y de dos cadenas pesadas idénticas de tipo γ , en la que se diferencian tres dominios constantes CH1, CH2 Y CH3. La región de la bisagra se sitúa entre los dominios CH1 Y CH2 (Figura 1 y Cuadro 2) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

Cuadro 1: Concentración de Ig en el suero (en mg/ml) de los principales animales domésticos

Especie	IgG	IgM	IgA
Bovino	17-27	2,5-4	0,1-0,5
Ovino	17-20	1,5-2,5	0,1-0,5
Équidos	10-15	1-2	0,6-3,5
Cerdos	17-29	1-5	0,5-5
Perros	10-20	0,7-2,7	0,2-1,5
Gatos	4-20	0,3-1,5	0,3-1,5
Gallinas	3-7	1,2-2,5	0,3-0,6

Adaptado de manual de inmunología veterinaria, 2006

Cuadro 2: Características principales de las diferentes clases o isotipos de Ig.

	IgG	IgM	IgA	IgE	IgD
Coeficiente de sedimentación.	7s	17.8 s	11s	8s	7s
Peso molecular KDa.	180	900	360	190-200	170-180
Tipo de cadena pesada.	γ	μ	α	ϵ	δ
Valencia (n°de lugares de unión antígeno).	2	10(12)	4	2	2
Contenido de carbohidratos.	3%	12%	8%	12%	13%
Vida media.	3 semanas	2 semanas	1 semana	2-3 días	2-3 días
Activación del complemento por vía clásica.	Si	Si	No	No	No
Hipersensibilidad.	Tipos II y III (excepcion al tipo I)	Tipos II y III	—	Tipo I	—

Adaptado de manual de inmunología veterinaria, 2006

Las IgG son las inmunoglobulinas de menor tamaño por lo que pueden salir sin dificultad del torrente sanguíneo y alcanzar rápidamente las zonas inflamadas, en las que el aumento de la permeabilidad vascular permite la participación de estos anticuerpos en la defensa orgánica (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

Las IgG participan activamente en las reacciones de aglutinación y precipitación, favorecen la neutralización de toxinas, bacterias, virus y funcionan como potentes opsoninas, durante el fenómeno de la fagocitosis, junto con algunas moléculas del complemento, como C3b. pueden actuar sensibilizando los mastocitos en las reacciones de hipersensibilidad de tipo 1, aunque con mucha menor importancia que las IgE. Las IgG son las únicas Ig capaces de atravesar la placenta, sin embargo, en el caso de los bovinos no es posible por el tipo de placenta que presentan (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

2.7. IgM

Su producción corre a cargo de las células plasmáticas del bazo, de los ganglios linfáticos y de la medula ósea, es la segunda inmunoglobulina en importancia en el torrente sanguíneo, después de la IgG. (Cuadro 1). Se puede detectar en la superficie de los linfocitos B, en forma monomérica, como receptor antigénico, sin embargo su forma soluble es un pentámero, es decir se forma por la unión de 5 monómeros estabilizados mediante puentes de disulfuro. Las IgM son las inmunoglobulinas de mayor tamaño, por lo que se quedan retenidas en el torrente sanguíneo y no participan en la defensa orgánica extra vascular, aunque se piensa que desempeña un papel ofensivo esencial en casos de septicemias. Posee una importancia limitada en la defensa de las superficies de las mucosas muy por debajo de la IgA (Presciltt *et al*, 2004).

Las IgM son las primeras inmunoglobulinas que se sintetizan en los animales, en tres sentidos distintos: son las primeras en la filogenia (apareciendo temprano en la escala evolutiva), en la ontogenia (detectándose incluso en los fetos antes de que se produzca la conmutación de clase) y en la respuesta inmune (Figura 4) (Presciltt,2004).

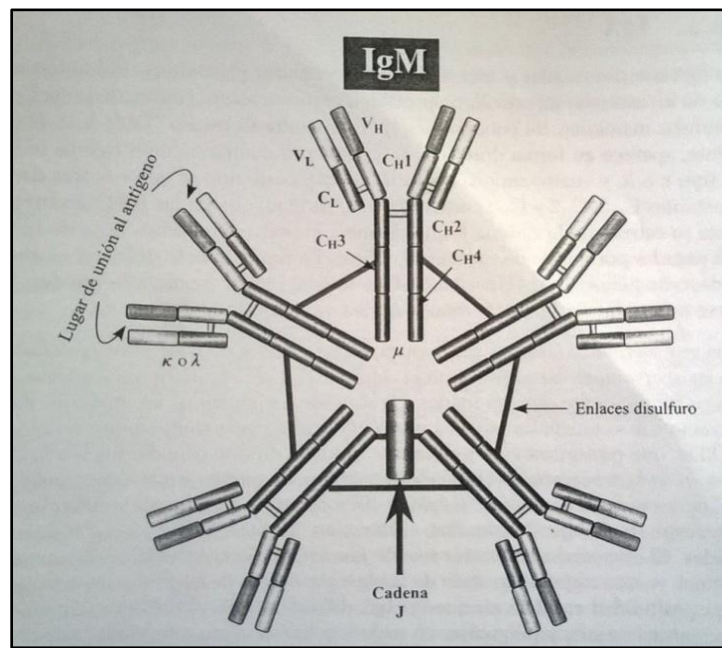


Figura 4. Estructura de la IgM.

2.8. IgA

Son producidas y secretadas por las células plasmáticas del tejido conectivo de las mucosas intestinal, respiratoria, genitourinaria ocular, de la piel, de las glándulas mamarias. Su concentración en la sangre es escasa, habitualmente aparece de forma dimérica. Una vez secretadas, las IgA son transportadas a través de las células epiteliales hacia las secreciones externas (como el calostro, la leche, la saliva, las lágrimas, el sudor) o simplemente quedan fijadas a la superficie epitelial de las mucosas. En este trayecto son llevadas por una molécula denominada componente secretor, de 71 kDa, que posteriormente permanece unido al dímero para dar lugar a la formación de la IgA secretora (SIgA). Bajo esta forma constituye una protección esencial de las mucosas animales y defiende de la invasión microbiana a las vías respiratorias, genitourinarias, el intestino, los ojos, la piel y las glándulas mamarias. El componente secretor reviste una importancia especial en la mucosa intestinal, ya que evita la digestión de la IgA por acción de proteasas intestinales. Las IgA no son capaces de activar el complemento por vía clásica ni de comportarse como opsoninas, participan en la aglutinación de partículas antigénicas y neutralizan toxinas, bacterias y virus (Figura 5) (Presciltt, 2004).

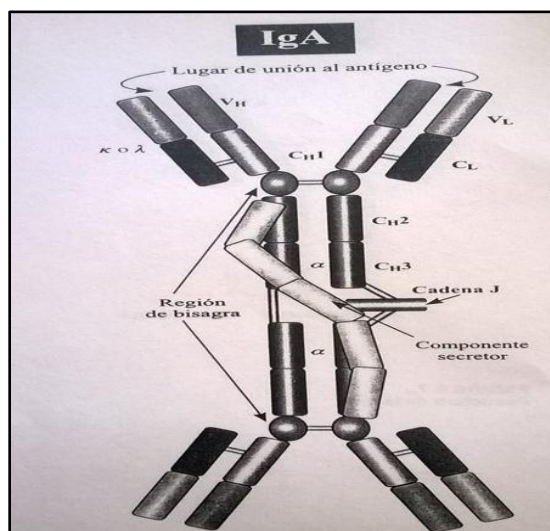


Figura 5. Estructura de la IgA.

2.9. IgE

Las IgE son producidas y secretadas por las células plasmáticas del tejido conjuntivo de la dermis. Su estructura es típicamente monomérica, su concentración sérica es muy baja. Las IgE actúan como moléculas transductores de señales. Para ello, deben unirse como mínimo dos moléculas a receptores específicos ($Fc\epsilon R1$ y $Fc\epsilon R2$), situados en la superficie de los mastocitos, basófilos, eosinófilos y células de Langerhans (un tipo de células dendríticas de la epidermis). Una vez unidas con gran afinidad a estos receptores y por medio del establecimiento de una reacción cruzada entre las dos moléculas de IgE con una molécula del alérgeno en cuestión, dan inicio a las reacciones de hipersensibilidad de tipo I, con la liberación de las aminas vaso activas contenidas en los gránulos de mastocitos y basófilos. También pueden unirse, con una afinidad mucho menor, a receptores situados en los linfocitos B y en los monocitos. Las IgE son además las inmunoglobulinas típicas de la respuesta inmune frente a los parásitos macroscópicos, del tipo de los helmintos, en cuyo caso su concentración sérica se eleva potencialmente. No son capaces de activar el complemento, ni funcionan como opsoninas, ni promueven reacciones de aglutinación (Figura 6). Las IgE resultan mucho más termolábiles que el resto de las inmunoglobulinas (Presciltt, 2004).

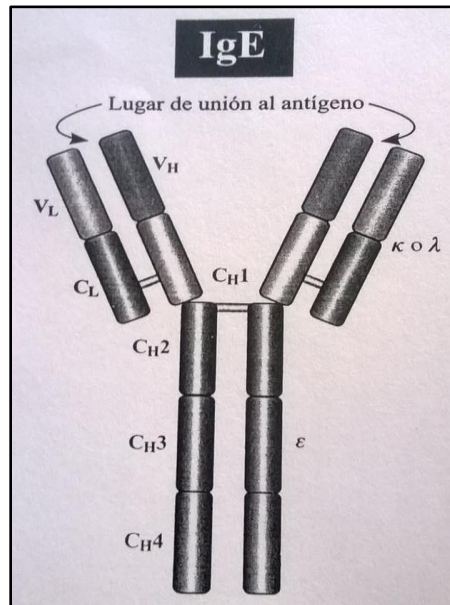


Figura 6. Estructura de la IgE

2.10. IgD

Son la única clase que no ha sido detectada en todos los mamíferos, ya que solo han sido identificadas en bovinos, ovinos, cerdos, primates, roedores y perros. Se trata de un monómero. (Figura 7 y Cuadro 2). Son secretadas en cantidades mínimas (su porcentaje relativo en el suero se estima en el 0.2%), por lo que se comportan fundamentalmente como receptores situados en la superficie de los linfocitos B, es decir, BCR. En este caso constan de dos dominios adicionales en sus cadenas pesadas: un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático, ambos de menor tamaño que el resto de los que componen las cadenas pesada. Los receptores de las IgD se denominan Fc δ R. Se han descrito células plasmáticas responsables de la producción de esta Ig en el tejido conjuntivo de la mucosa nasal (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

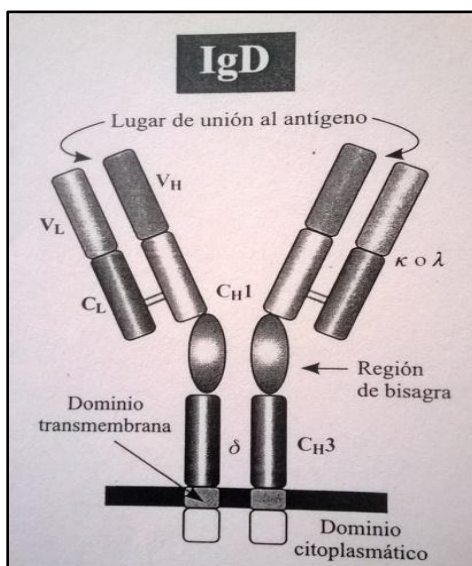


Figura 7. Estructura de la IgD.

2.11. CLASES O ISÓTOPOS, SUBCLASES, ALOTIPOS E IDIOTIPOS DE IGS.

Las diferentes clases de Igs mencionadas, también se conocen como isotipos, en función de la naturaleza de las cadenas pesadas que las componen. Además, dentro de una misma clase pueden establecerse variaciones menores en la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes de las cadenas pesadas, lo que define la aparición de subclases dentro de una misma concreta, estas subclases varían en número dependiendo de la clase de animal que se trate (Cuadro 3). En las Ig también puede establecerse variaciones individuales en la secuencia de aminoácidos. Este segundo grupo de variantes estructurales son los alotipos y se relacionan con cambios en un número muy restringido de aminoácidos (se calcula que no afecta a más de cuatro), asociados con mutaciones, fundamentales en los dominios constantes de las cadenas ligeras o pesadas (Figura 8), también pueden desencadenarse, en menor medida, en las regiones del armazón de los dominios variables de las cadenas ligeras o pesadas. Al conjunto de todas las variantes alotípicas individuales de una Ig se le conocen como alotipo (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

Un tercer tipo de variaciones estructurales son debidas a los cambios producidos en las secuencias de aminoácidos de las regiones hipervariables, tanto de las cadenas ligeras

como de las pesadas estas variantes se conocen como idiotipos y a la suma de todos los idiotipos posibles que caracterizan una Ig determinada se le denomina idiotipo. Estos idiotipos resultan importantes, ya que precisamente en el reconocimiento de idiotipos está basado uno de los mecanismos de regulación de la formación de anticuerpos por parte de un individuo determinado, además la posibilidad de generar anticuerpos anti-idiotipo en individuos diferentes está siendo empleada en la actualidad como estrategia en la síntesis de vacunas de nueva generación denominadas vacunas anti-idiotipo. Así mismo se están utilizando los idiotipos en el tratamiento de tumores producidos por linfocitos B y T (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

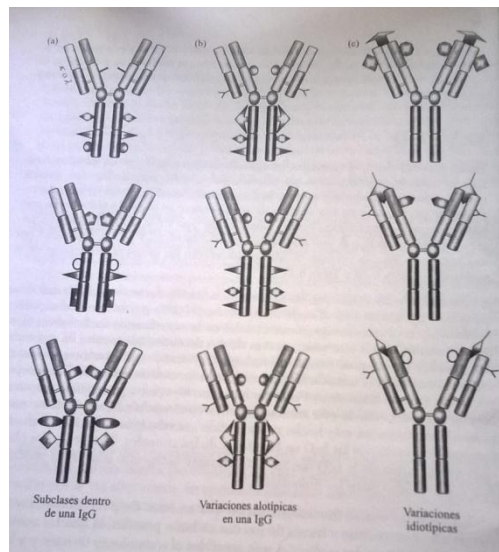


Figura 8: a) subclases relacionadas con variaciones en los dominios constantes de las cadenas pesadas, b) variantes alotípicas relacionadas con los dominios constantes de las cadenas ligeras y pesadas, y c) variantes idiotípicas relacionadas con las regiones hipervariables de las cadenas ligeras y pesadas.

Cuadro 3. Subclases de Ig en los principales mamíferos.

Especie	IgG	IgM	IgA	IgE	IgD
Bovinos	G1, G2, G3	M	A	E	D
Ovinos	G1, G2, G3	M	A1, A2	E	D
Équidos	G1,G2,G3,G4,G5,G6	M	A	E	No se ha descrito
Cerdos	G1,G2,G3,G4	M	A	E1, E2	D
Perros	G1,G2,G3,G4	M	A	E1, E2	D
Gatos	G1,G2,G3,G4	M	A2	E	No se ha descrito
Ratones	G1,G2a,G2b,G3	M	A1, A2	E	D

Adaptado de manual de inmunología veterinaria, 2006

2.12. INMUNOGLOBULINAS EN BOVINOS

En los bovinos se conocen tres subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3) de ellas la predominante es la IgG1, que representa el 50% del total de IgG sérica y es la más abundante en el calostro y en la leche. Por su parte, la subclase de IgG2 presenta un componente hereditario importante, lo que determina que sus concentraciones séricas varíen de forma considerable entre individuos de la misma especie, además resulta característica su región de bisagra, de un tamaño muy reducido. Se han identificado dos alotipos (a, b) relacionados con las cadenas pesadas en las tres subclases mencionadas, así como un alotipo (B1) relacionado con las cadenas ligeras de algunos bovinos, este último con una frecuencia mucho menor. Del resto de las clases la Ig (IgM, IgA, IgE, IgD) no se han descrito subclases (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

2.13. FUNCIONES DE LAS INMUNOGLOBULINAS

Como productos característicos de la respuesta inmune humoral, la misión principal de las inmunoglobulinas consiste en la eliminación de los agentes extraños extracelulares esto se realiza tanto directamente a través de la neutralización, como indirectamente, señalizando o “marcando” los agentes extraños para ser reconocidos por otros elementos de la respuesta inmune. Las inmunoglobulinas pueden actuar a nivel sistémico o protegiendo activamente las diferentes mucosas de los animales mediante la unión cruzada de dos moléculas de IgE a determinados alérgenos y al receptor específico en algunas células, como mastocitos y basófilos, se puede desencadenar una destacada reacción inflamatoria conocida como hipersensibilidad de tipo I o alergia, que determina la desgranulación de los mastocitos o células cebadas (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

- Neutralización: consiste en neutralizar su capacidad infecciosa o sus efectos tóxicos, evitando que se unan con los receptores celulares (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

- Oponización: los agentes extraños recubiertos por inmunoglobulinas son posteriormente reconocidos por receptores de inmunoglobulina situados en la superficie de los macrófagos (o de células fagocíticas, en general), fenómeno denominado Oponización, que se integra dentro del proceso global de fagocitosis (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

- Activación del complemento: pueden llevar a cabo la destrucción de los antígenos, favoreciendo la unión a sus porciones Fc de la proteína C1, es decir, la molécula que da inicio a la activación del complemento por vía clásica. Dentro de este mecanismo de activación del complemento, las inmunoglobulinas participan en las reacciones de hipersensibilidad de los tipos II y III (Figura 9) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

- Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC): otra posibilidad consiste en la unión de las inmunoglobulinas a receptores específicos localizados en la superficie de células diversas (NK, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos B), lo que las convierte en citotóxicas, por lo que adquieren la capacidad de destruir diferentes células

blanco. Se trata de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

- Aglutinación y precipitación: algunas clases de inmunoglobulinas promueven la aglutinación y precipitación de diversos antígenos (Figura 9) (Pastoret, 1998, Presciltt, 2004).

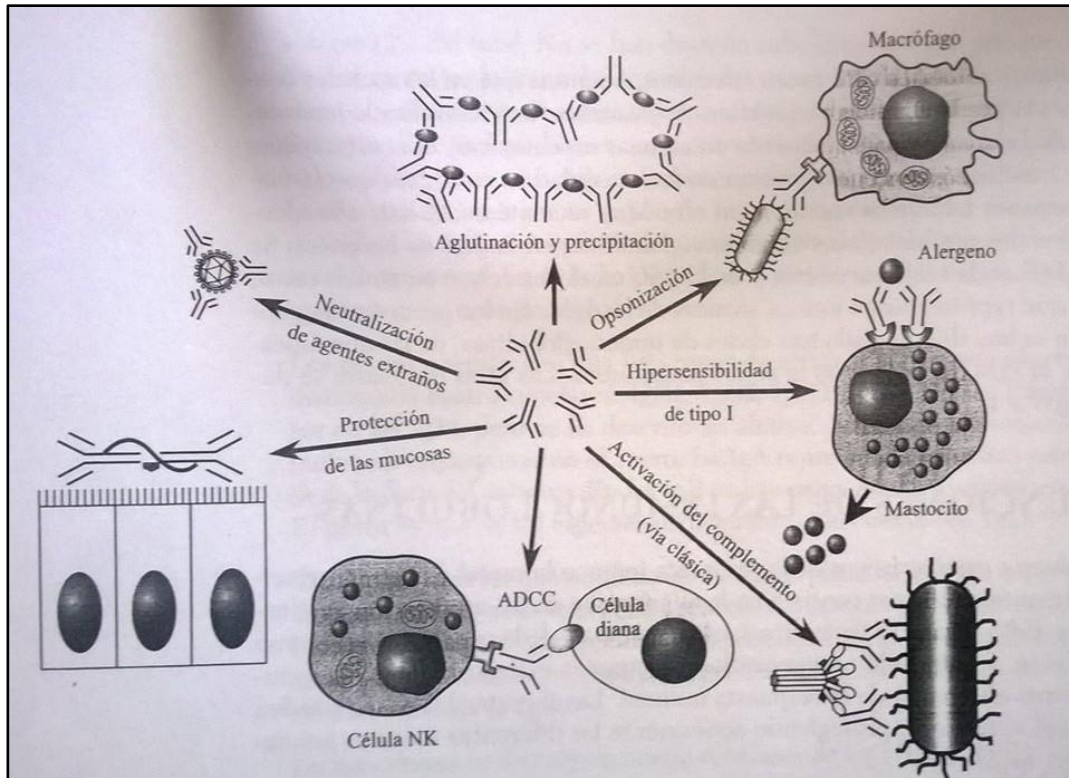


Figura 9. Principales funciones de las inmunoglobulinas

3. INMUNIDAD PASIVA

Los becerros al nacer son agamaglobulinemicos, porque la placenta de la madre no permite el paso de inmunoglobulinas al becerro, y esto se debe por el tipo de placentación de los bovinos, la placentación se clasifica morfológicamente como cotiledonaria ya que el útero está en contacto con los cotiledones de la placenta fetal, los cotiledones son vellosidades coriónicas cóncavas muy irrigadas que al unirse con la carúncula forman los placentomas, las carúnculas son convexas, se distribuyen en 4 hileras, 2 ventrales y 2 dorsales que se encuentran en los cuernos y el cuerpo uterino, existen entre 75 y 120 placentomas. Histológicamente la placenta se clasifica en epiteliocorial, tiene 6 capas histológicas en donde el endometrio uterino intacto se pone en contacto con el corion intacto (Cuadro 4) (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006).

La respuesta inmune puede estar presente en vida fetal, el feto es capaz de producir anticuerpos frente a un estímulo antigénico desde los 90 – 120 días y en el último tercio de la gestación responder a una gran variedad de antígenos, Al ingerir el calostro con las inmunoglobulinas, se produce la transferencia pasiva, y se adquiere la inmunidad pasiva (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006).

Cuadro 4. Eficacia de la transferencia placentaria de inmunoglobulinas en las hembras de las principales especies de animales domésticos en comparación con la especie humana, primates y roedores.

Tipo de placenta / morfología	Núm. de capas	Contacto materno fetal	Especie	Transferencia de IgG.
Epiteliocorial / cotiledonica	6	Epitelio uterino intacto- epitelio del corion fetal	Cerda, vaca, yegua, burra.	no
Sindesmocorial / cotiledonica	5	Tejido conjuntivo epitelio del corion fetal	Oveja, cabra	no
Epiteliocorial / zonal	4	Endotelio de vasos maternos-	Perra, gata	Parcial (5-10% de IgG).

		epitelio del corion fetal		
Hemocorial / discorial	3	Sangre materna-epitelio del corion fetal	Mujer, primate, roedores.	Casi total (90-100% de IgG).

Adaptado de manual de inmunología veterinaria, 2006

3.1. COMPOSICIÓN DE IGS EN CALOSTRO Y LECHE.

Se sabe que la inmunidad pasiva se confiere mayoritariamente por las Igs, células inmunes y varias citoquinas presentes en calostro. El calostro es el alimento que ingieren los neonatos en las primeras 24hr de vida y que contienen las secreciones acumuladas de la glándula mamaria durante las últimas semanas de gestación procedentes de la sangre materna, es rica en linfocitos e inmunoglobulinas, principalmente IgG (65-90% del total), pero también contiene IgM, y en menor proporción IgA e IgE. La composición varía según las especies animales y también según avanza la lactación y se convierte en leche (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006).

Hacia la segunda semana de lactación, los niveles de IgA empiezan a incrementarse y al final de la misma (Cuadro 5). La totalidad de las IgG, la mayor parte de las IgM y casi la mitad de las IgA de calostro en ruminantes proceden del suero de la madre, por el contrario solo el 30% de las IgG y el 10% de las IgA de la leche proceden de esa fuente lo que indica que se producen localmente en la glándula mamaria lo que es un papel fundamental en la protección del tacto intestinal del neonato frente a la colonización de agentes patógenos ambientales (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006).

El ganado vacuno ha sido la especie donde más se ha estudiado la procedencia de las Ig del calostro, la gran mayoría de las IgG son IgG1 procedentes de la circulación materna, se ha propuesto que es debido a un transporte selectivo de la IgG1 por su Unión a receptores Fc-específicos de la membrana plasmática basal de las células secretoras de la glándula mamaria. Estas IgG1 unidas a sus receptores Fc (FcRn) son endocitadas, trasportadas por las células en vesículas, y liberadas en la secreción del lumen. Esta Unión a un receptor se produciría durante la formación de calostro pero no en el resto de la lactación. Parece que los niveles de hormonas lactogénicas

(estrógenos, prolactina y progesterona) al inicio de la secreción del calostro influyen en la expresión de este FcRn celular cuando ya se inicie la producción de leche, la expresión de estos disminuye hasta desaparecer, probablemente influido por la hormona prolactina (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006).

Cuadro 5. Concentraciones de inmunoglobulinas en el calostro y en la leche de las hembras de distintas especies animales (mg/dl).

Especie	Calostro (mg/dl)			leche(mg/dl)		
	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
Vaca	2,400-8,000	100-700	300-1,300	50-750	10-50	10-20
Oveja	4,000-6,000	100-700	400-1,200	60-100	5-10	0-7
Cerda	3,000-7,000	900-1,050	250-320	100-300	300-700	30-90
Yegua	1,500-5,000	500-1,500	100-350	20-50	50-100	5-10
Perra	300-2,200	500-2,000	14-57	10-30	110-620	10-54
Gata	1,800-4,600	150-500	47-58	60-400	240-620	0-10

(Adaptado de Tizard 2004).

3.2. LEUCOCITOS: LINFOCITOS Y OTRAS CÉLULAS.

La protección de los neonatos mediante el calostro se atribuía solo a la transferencia pasiva de anticuerpos maternos sin considerar el papel de los componentes celulares y humorales presentes en esta secreción, sin embargo en todos los mamíferos, el calostro contiene un millón o más de células por milímetro (en vacas hasta 1×10^6 células /ml) (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006, Greene, 2006, Innes, 2002, Zapata, 2006).

En el calostro se encuentran cuatro tipos de células: linfocitos, neutrófilos, macrófagos y células epiteliales (Cuadro 6). Los linfocitos representan del 24 al 30 % en vacas, la mayoría son linfocitos T del (70-90% en rumiantes), manteniendo un cociente CD4+/CD8+ más bajo que el que existe en sangre (0.83 en vacas). Se piensa que estos linfocitos se originan de los nódulos linfáticos mesentéricos de las madres y que son células seleccionadas, con fenotipos diferentes a los encontrados en la sangre periférica. Así en la secreción mamaria bovina los linfocitos T expresan predominantemente el TCR $\alpha\beta$ mientras que en la sangre periférica predominan los TCR $\gamma\delta$ y tienen diferente nivel de expresión de las moléculas CD en su superficie, en cuanto a los linfocitos B del calostro bovino su papel primario sería la síntesis de IgA dimérica de la secreción mamaria. Los macrófagos y los neutrófilos predominan en la secreción mamaria de la mayoría de las especies, las células polimorfo nucleares del calostro tienen disminuidas sus funciones de migración y fagocitosis por lo que se piensa que su papel principal es la defensa de la glándula mamaria y menos la defensa del neonato (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006, Greene, 2006, Innes, 2002, Zapata, 2006).

Cuadro 6. Composición típica del calostro de vaca.

Fracción inmune	Componentes
Inmunoglobulinas.	IgG; 2,400-8,000 mg/dl IgA;100-700 mg/dl IgM;300-1300 mg/dl
Células (leucocitos).	Linfocitos: 22-25% Linfocitos B: 2,5-3,5% Linfocitos T: 88-89% Células NK: 5-15% Neutrófilos:25-37% Macrófagos; 40-50%
Citoquinas.	IL-2, TNF- α , TGF- β , Factores de crecimiento insulina-like
Componentes solubles.	Factores de complemento

Adaptado de manual de inmunología veterinaria, 2006

3.3. CITOQUINAS.

Las citoquinas se producen como respuesta a una enorme variedad de estímulos siendo su función más importante la respuesta a antígenos que actúan uniéndose a los receptores de linfocitos T o B (TCR o BCR), complejos antígenos- anticuerpo que actúan a través de receptores Fc, súper antígenos a través de TCR y receptores de patrones de reconocimiento (PAMP) como LPS a través de TLRs, en cualquier caso, una vez que se produce y excreta la citoquina, una respuesta celular a la que dará lugar requiere la síntesis de un nuevo ARNm de vida corta, que a su vez estimulara la síntesis de nuevas proteínas (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006, Greene, 2006, Innes, 2002, Zapata, 2006).

Sus funciones son:

- Inmunidad innata
- Presentación de antígenos
- Proliferación y diferenciación de las células de la médula ósea

- Reclutamiento y activación celular
- Expresión de moléculas de adhesión.

En el calostro se han identificado varias citoquinas en forma libre, en bovinos se encuentran IL-2, TNF- α y TGF β y el factor de crecimiento tipo 1 insulina. Estas citoquinas podrían estimular la respuesta inmune en neonatos (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006, Greene, 2006, Innes, 2002, Zapata, 2006).

4. ABSORCIÓN INTESTINAL DE IG.

Las Igs que ingieren los neonatos con el calostro, no son degradadas en el aparato digestivo gracias a dos hechos:

- a) La presencia en el calostro de inhibidores de la tripsina.
- b) El bajo grado de actividad proteolítica en el aparato digestivo.

De esta manera, las proteínas del calostro no se degradan, si no que llegan intactas al intestino delgado, donde, durante las primeras horas de vida, las células intestinales inmaduras son capaces de absorber macromoléculas, incluidas las Ig, mediante la endocitosis son absorbidas y transportadas a través del epitelio intestinal y se lleva a cabo por medio de vacuolas que llegan a los vasos linfáticos y posteriormente a la sangre, 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, se desconoce por qué se interrumpe esta absorción, la desaparición de la permeabilidad intestinal a las inmunoglobulinas calostrales se acelera después de 12 horas de nacido, la tasa de absorción depende de la calidad del calostro (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006, Greene, 2006, Innes, 2002, Zapata, 2006).

También existe cierto paso de linfocitos. Esta capacidad de absorción dura de unas horas a un máximo de 24 horas en rumiantes. La absorción selectiva de Ig parece estar mediada por un receptor Fc especializado de las células epiteliales inmaduras del intestino (FcRn). La absorción intestinal selectiva permite la transferencia pasiva de

altas cantidades de IgG a la circulación sanguínea del neonato (lo que constituye la base de una inmunidad general sistémica fundamental mientras su sistema inmune llega a ser totalmente funcional), pero a la vez, mantiene altos niveles de IgA en la luz intestinal, que es imprescindible para proteger el epitelio intestinal de posibles agentes patógenos que ingiera el neonato por vial oral (del agua, suelo, etc.) y frente a los que necesita una potente inmunidad de mucosas para evitar infecciones. El 60% de las IgA se sintetizan en la glándula mamaria, las IgG proceden del suero de la madre, la IgM procede de ambas partes. Aproximadamente la capacidad de absorción de la IgG es del 90-100 %, de la IgM es del 60-70 % y de la IgA es del 40-50 %, El periodo máximo de absorción de inmunoglobulinas calostrales se produce durante las primeras 4 a 6 horas de vida y disminuye después de unas 12 hrs, alcanzando niveles bajos a las 24 hrs. Esto probablemente se produce porque se sustituyen las células intestinales del recién nacido por otras más maduras que ya no pueden absorber inmunoglobulinas que absorben los neonatos dependen de otros factores, como es la presencia de la madre que favorece una mayor absorción. Después de unas semanas de vida, las IgG de la madre son degradadas por el aparato digestivo más maduro, mientras que la IgA se une al componente libre secretor del intestino formando la IgA secretora SIgA por lo que no puede absorberse y queda en grandes cantidades en el intestino de los animales recién nacidos lo que les protege de las infecciones entéricas, según aumenta la capacidad digestiva del intestino del recién nacido, se degradan las proteínas y solo la SIgA queda intacta. Junto con las inmunoglobulinas se absorben otra serie de proteínas como las globulinas, albúmina, fibrinógeno, vitaminas, minerales y otros constituyentes del calostro como las enzimas gamma glutamina transferasa (Barrington, 2001, Butler, 2006, Claus, 2006, Greene, 2006, Innes, 2002, Zapata, 2006).

4.1. ANTECEDENTES INMUNOLÓGICOS.

La capacidad de absorción de inmunoglobulinas a través de la pared intestinal al momento del nacimiento de las beceras, es del 100%, siendo a las 24 horas de solo el 5% (Figura 9) (Abelardo, Martinez, 2003).

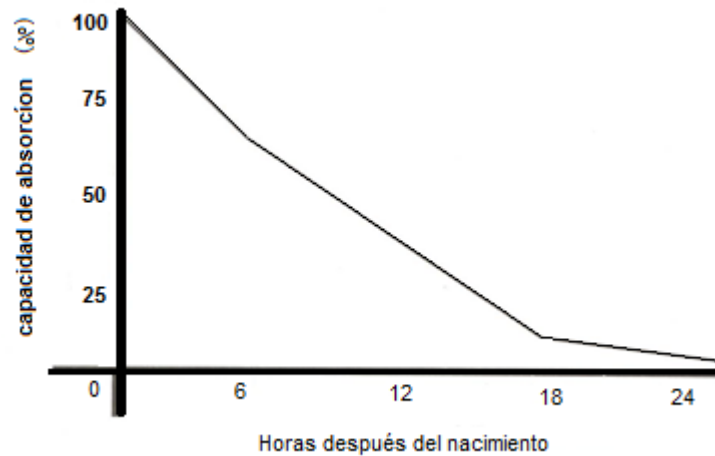


Figura 9. Pérdida de permeabilidad intestinal de las inmunoglobulinas en la becerrecita recién nacida. La IgM deja de absorberse a las 15 horas, la IgA es intermedia (18 horas) y la IgG deja de absorberse entre 18 y 48 horas.

La capacidad para aprovechar el calostro como agente proveedor de inmunidad disminuye rápidamente después del nacimiento y si tomamos en cuenta que el alimento tiene que cruzar el sistema digestivo en las siguientes 18 horas, es evidente que el calostro debe ser ingerido por la becerrecita lo más pronto posible después del nacimiento. Debe quedar claro que todo el calostro que se administre después de este periodo no tendrá ningún valor como medio para proteger a la becerrecita contra enfermedades, sirviéndole sólo como alimento. Aun en el caso de que la becerrecita ingiera calostro dentro de las primeras dos horas de vida, la becerrecita aprovechara sólo parte de la cantidad ingerida, debido a que el proceso digestivo destruye parte de las inmunoglobulinas y a que en poco tiempo disminuye la permeabilidad intestinal. Por esta razón, para que una becerrecita se proteja debidamente, debe ingerir el equivalente al 10% de su peso corporal en calostro, o sea 4 litros para una becerrecita de raza Holstein de 40 kg, en una sola toma. La administración de calostro debe hacerse con la cooperación absoluta de la becerrecita (Abelardo, Martinez, 2003).

Por otra parte la calidad del calostro puede determinarse usando un calostrómetro o lactodensímetro, que es un aparato de cristal con una burbuja marcada con tres áreas, roja, amarilla y verde. Después de ordeñar y haber colectado el calostro en un balde, se sumerge el calostrómetro y si se hunde hasta la zona roja, no debe utilizarse para transferencia de inmunidad a beceras recién nacidas. El calostrómetro debe flotar hasta la zona verde. Las graduaciones a escala son de 0 a 120, en donde de 0 a 40 corresponde a la zona roja, de 40 a 80 a la zona amarilla y de 80 a 120 a la zona verde. Un calostro de buena calidad debe contener al menos la escala de 80. Este número equivale aproximadamente a 60 u 80 gramos de inmunoglobulinas por litro de calostro y es el mínimo aceptable. Las graduaciones y colores de los calostrómetros pueden variar según el fabricante (Abelardo, Martínez, 2003).

La lactancia o período neonatal se define como aquella época en que la beceras necesita tomar leche materna (actualmente sustitutos de leche) para su supervivencia. Durante este período, la beceras prácticamente muestra un estómago funcional (abomaso) y los otros tres funcionan parcialmente. Por otra parte el período neonatal abarca, por razones de tipo inmunológico, los primeros 56 días de vida (Abelardo, Martínez, 2003).

4.2. COMPORTAMIENTO DE LAS INMUNOGLOBULINAS.

La beceras adquiere mediante el calostro un tipo de defensas orgánicas (anticuerpos) llamadas inmunoglobulinas que la protegerán de las enfermedades del período neonatal. Estas inmunoglobulinas son principalmente la IgA, IgG e IgM, que presentan moléculas de distintos tamaños (diferente peso molecular), característica que determina su distribución en el organismo y su actividad inmuno-fisiológica (Abelardo, Martínez, 2003).

La IgA presenta un peso molecular de aproximadamente 360 KDa y básicamente su actividad consiste en proteger las mucosas o epitelios del organismo. Su función es eliminar agentes infecciosos de la cubierta interna del aparato respiratorio, pared del tubo digestivo, urinario, reproductor y membranas externas de los ojos. Las razones de esta distribución obedecen a que la IgA bovina presenta una molécula combinada llamada "pieza secretoria" que difiere de otras especies, además la IgA bovina no presenta actividad protectora local significativa en la pared intestinal cuando se ingiere después del primer día de vida. Por otro lado la IgA bovina (Figura 10) está presente

sólo en el calostro del primer ordeño y dura en la sangre de la becerro únicamente la primera semana de vida, siendo su vida media de 2,5 días. Asimismo, la becerro no es capaz de producir esta inmunoglobulina (producción endógena) en cantidades suficientes, sino hasta el día 56 de vida. Por esta razón los bovinos recién nacidos son selectivamente deficientes en IgA durante los primeros dos meses de edad, lo cual genera que sean sumamente susceptibles a trastornos digestivos y respiratorios durante toda la etapa de lactancia, lo cual constituye una diferencia muy marcada con respecto a otras especies afines (Abelardo, Martínez, 2003).

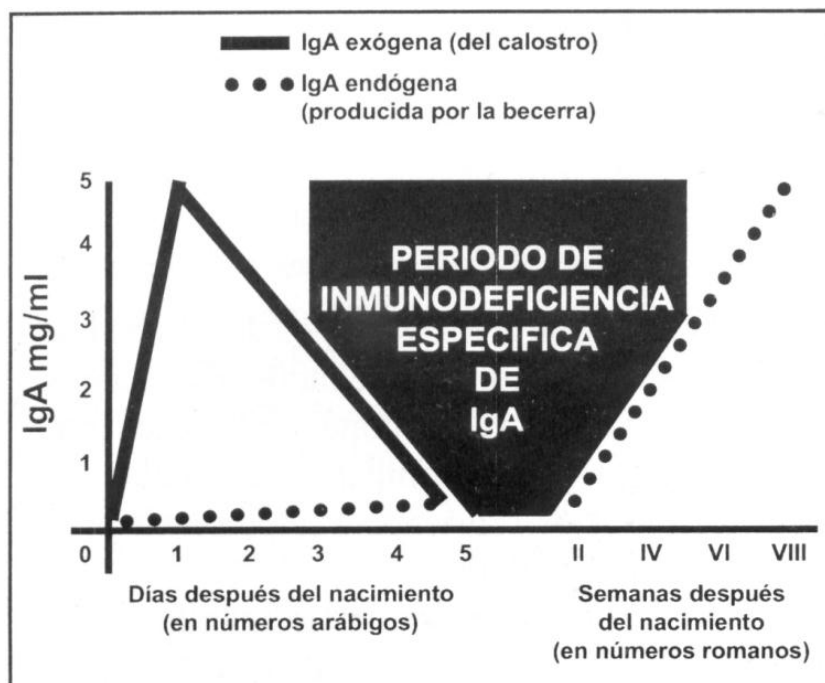


Figura 10. Niveles de inmunoglobulina A (IgA) después del nacimiento. Como la vida media de la IgA es de 2.5 días, para el día 3 la becerro tendrá menos de la mitad de los anticuerpos obtenidos en el calostro y para el día 5 tendrá menos del 5%. La becerro no podrá sintetizar niveles similares a los recibidos de su madre hasta el día 56 de vida.

La inmunoglobulina IgG presenta un peso molecular de 180 KDa lo que le permite penetrar a lugares donde la IgA y la IgM no llegan por su mayor tamaño. Existen dos subclases de IgG, la IgG1 y la IgG2, en el calostro predomina la IgG2. Esta inmunoglobulina penetra fácilmente al espacio intersticial, o sea los espacios entre célula y célula del organismo. Por tanto es la inmunoglobulina de los tejidos,

constituyendo la primera línea de defensa durante el periodo neonatal. La IgG está presente en cantidades abundantes en el calostro del primer ordeño. Los anticuerpos así adquiridos duran en la sangre de la becerro 35 días; es decir la IgG tiene una vida media de 17.5 días. La IgG endógena, la empieza a producir la cría en cantidades significativas desde el día 13 de vida aunque no alcanza cantidades inmunológicamente suficientes hasta el día 35 (Figura 11) (Abelardo, Martínez, 2003).

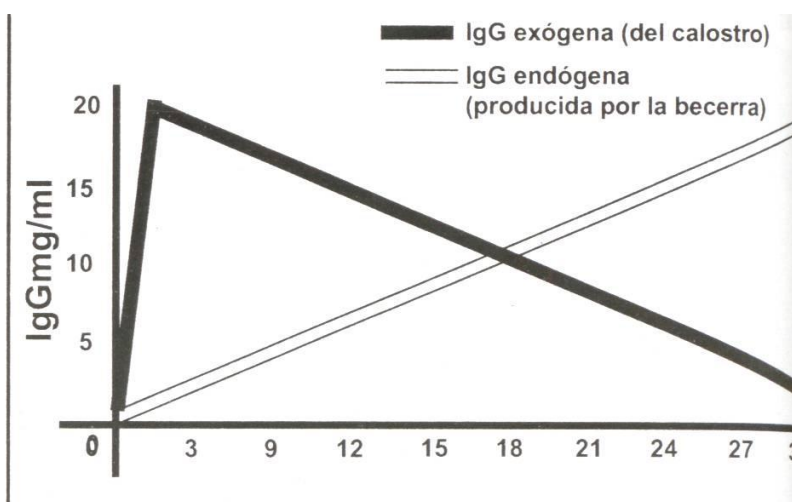


Figura 11. Niveles de inmunoglobulina G (IgG) después del nacimiento. La producción endógena de IgG empieza en la becerro incluso antes del nacimiento, sin embargo, no alcanza los niveles adecuados sino hasta después de los 30 días de edad. Siendo la vida media de la IgG de 17.5 días, ya que para el día 18 sólo se presentara el 50% de la IgG materna.

La IgM presenta un peso molecular de 900 KDa. Su gran tamaño permite que permanezca principalmente dentro del torrente sanguíneo, aunque también puede pasar a la luz intestinal y estar presente en las heces, llegando muy poco o nada al espacio intersticial. Su permanencia en la sangre hace que esta inmunoglobulina sea la que protege contra infecciones en la sangre como las septicemias neonatales bacterianas. La IgM existe en gran cantidad en el calostro y dura en el organismo 7 días, es decir tiene una vida media de sólo 3.5 días, pero aunque la becerro la empieza a producir aun antes del nacimiento, sólo alcanza niveles significativos hasta el día 7 de vida (Figura 12) (Abelardo, Martínez, 2003).

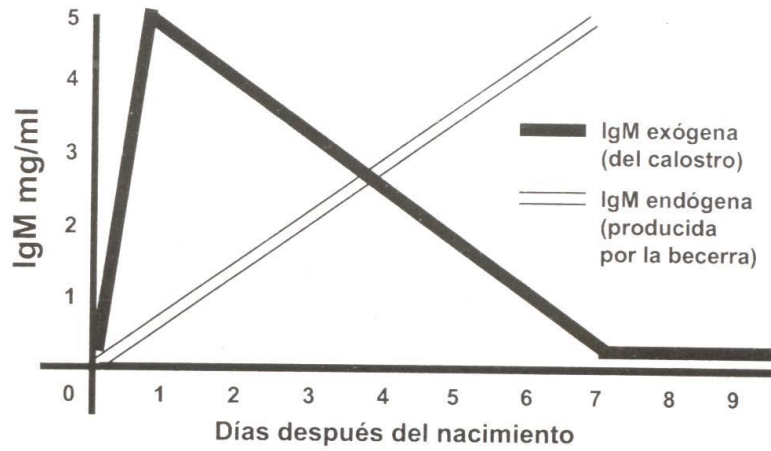


Figura 12. Niveles de inmunoglobulina M (IgM) después del nacimiento. La producción endógena de IgM empieza incluso antes del nacimiento, sin embargo, no alcanza los niveles de protección sino hasta el día 7 de edad. Siendo la vida media de la IgM de 3.5 días, ya que para el día 4 se presenta el 50% de la IgM materna.

5. FALLO EN LA TRANSFERENCIA PASIVA DE INMUNIDAD (FPT).

La concentración de Igs adquiridas pasivamente por los neonatos a través del calostro, depende de.

- La calidad del calostro (o del estado inmunitario de la madre).
- El volumen de calostro ingerido.
- El tiempo de ingestión.

En ocasiones los neonatos no pueden adquirir una inmunidad pasiva suficiente que les proteja frente a las infecciones más habituales de su ambiente que es lo que se conoce como fallo o fracaso en la transferencia pasiva de la inmunidad o FPT. Este problema es una de las causas más relacionadas con una mayor frecuencia de enfermedades y mortalidad en los neonatos de las grandes especies como lo bóvidos que dependen completamente del calostro para la transferencia de anticuerpos. Numerosos estudios en estas especies han demostrado que la concentración de IgG en el suero neonatal es un buen indicador de si el animal está protegido frente a posibles infecciones, determinándose como valor umbral 400 mg/dl, por debajo de él, se considera que existe FPT. De hecho es una práctica frecuente la administración de suplementos y sustitutivos del calostro para prevenirlo (Barrington, 2001, Butler, 2006, Greene, 2006).

En términos generales, el fracaso de la transferencia de la inmunidad maternal puede ser debido a:

- Calostro insuficiente o de baja calidad; se puede producir en partos prematuros, en agalaxia o mamitis de la madre, etc. Sin embargo no es posible evaluar la calidad del calostro, sin realizar alguna medición como densidad relativa mediante un calostrómetro.
- Ingesta insuficiente: se manifiesta en neonatos muy débiles o de bajo peso o con reflejo de succión muy débil.
- Fallo en la absorción intestinal; una mala absorción de Ig a nivel intestinal se refleja en un bajo nivel de IgG en los lactantes y por tanto mayor riesgo de infección.

6. JUSTIFICACIÓN

Un alto porcentaje de becerros enferman y mueren durante las primeras semanas de vida, generalmente por una inadecuada transferencia de inmunoglobulinas presentes en el calostro. El hecho de identificar los niveles de inmunoglobulinas presentes en el suero de los animales, indica la calidad del calostro administrado y su adecuado manejo en relación a la cantidad y hora de administración en la becerro. Al ingerir calostro, el becerro incorpora inmunoglobulinas a su organismo en las siguientes 12 horas, éstas pasan al torrente sanguíneo y se distribuyen por todo el cuerpo, considerándose que a las 24 horas se alcanza la distribución en todos los tejidos, por lo que las pruebas para conocer los niveles de inmunoglobulinas que ha obtenido a través de la ingestión de calostro deberán realizarse entre las 24 y 48 horas de vida.

7. HIPÓTESIS

Es posible calcular mediante los valores de proteínas plasmáticas, que becerros recibieron calostros de calidad en tiempo y cantidad adecuada, para permitir la absorción de inmunoglobulinas, logrando una adecuada protección pasiva.

8. OBJETIVO GENERAL.

El objetivo del presente trabajo es determinar el impacto de la calidad, volumen y horas posparto de la administración del calostro sobre la falla en la transferencia de inmunoglobulinas en el becerro.

9. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 1.- Identificar los becerros que presentan concentraciones bajas de inmunoglobulinas absorbidas en el suero sanguíneo,
- 2.- Conocer que los factores más importantes, que influyen sobre la absorción de Ig en el calostro, son el tiempo de administración después del nacimiento, la cantidad ofrecida y la concentración de Ig presentes en el calostro.
- 3.- Obtener calostros de alta calidad que pueden ser congelados, como una alternativa que puede ser utilizada sin afectar la calidad del calostro.

10. MATERIAL Y MÉTODOS

10.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

El trabajo se llevó a cabo en la posta zootécnica “el salado” perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la BUAP en el módulo de leche. Ubicado en el municipio el salado perteneciente a la localidad de Tecamachalco, Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 18° 47' 06'' y 18° 57' 06'' de latitud norte y los meridianos 97° 40' 00'' y 48° 54' de longitud occidental. Tiene una superficie de 218.15 km^2 que se ubica en el lugar 55 con respecto a los demás municipios del estado. Su altitud media sobre el nivel del mar es de 2.055 m . Las colindancias del municipio son al norte con Quecholac y Palmar de Bravo, al sur con Xochitlán Todos Santos, al oriente con Yehualtepec y al poniente con San Salvador Huixcolotla. Su clima es templado temperatura media anual de $18 \text{ }^\circ\text{C}$ con una mínima de 15°C y máxima de 21°C . (Inafed, 2015)

10.2. METODOLOGÍA.

Se obtuvo el calostro del primer ordeño dentro de las 3 horas después del parto de las 33 vacas Holstein-Friesian que parieron durante el transcurso de un año, en el módulo de leche de la posta zootécnica “El Salado”, perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Del calostro obtenido se tomaron 250 ml de muestra para determinar su densidad específica (SG) por medio de un calostrodensímetro teniendo en cuenta los parámetros siguientes SG menor a $1,035 \text{ g/cm}^3$ es calidad inferior o mala calidad (zona roja). SG entre $1,035 \text{ g/cm}^3$ - $1,045 \text{ g/cm}^3$ es calidad intermedia (zona verde clara o amarilla). SG con más de $1,045 \text{ g/cm}^3$ es buena calidad (zona verde oscuro). De los becerros recién nacidos de las 33 vacas y antes de la ingesta de calostro, se tomó una muestra de 2 ml de sangre completa de la vena yugular sin el uso de anticoagulante, para la obtención del suero para su posterior análisis por refractometría, con lo que se permite cuantificar las proteínas plasmáticas del suero dando como resultado un rango de 3g/dL a 4.5g/dL lo cual indica que los becerros sin calostrear son agamaglobulinemicos. Posteriormente a la toma de la muestra, a los becerros se les ofreció el calostro en forma manual por

medio de una mamila, una segunda toma de calostro se les ofreció dentro de las 8 a 12 horas de vida. Al cabo de las 24 y 48 horas de nacidos los becerros, estos fueron nuevamente muestreados tomando 2 ml de sangre periférica de la vena yugular para cuantificar los valores de proteínas plasmáticas. La eficiencia en la transferencia de Ig en el becerro se evaluó midiendo la cantidad de proteínas plasmáticas (g/dl) de sangre teniendo en cuenta los siguientes resultados (Valores > 5g/dL. Excelente inmunidad pasiva, Valores = 4.75.0 a 5 g/dL. Moderada inmunidad pasiva, Valores < 4.75g/dL. Falla en la inmunidad pasiva).

10.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un análisis estadístico descriptivo para mostrar el comportamiento de los datos obtenidos y para la determinación de las significancias estadísticas de las diferencias entre los grupos al nacimiento, a las 24 y 48 horas, se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía empleando la prueba de Kruskal-Wallis, seguido de comparaciones múltiples por el método de Dunn Utilizando el paquete estadístico Sigma Plot versión 12.5.

11. RESULTADOS.

La concentración de proteínas plasmáticas de los becerros al nacimiento fue de 3.944 ± 0.177 g/100ml. El 26% del total de los becerros no alcanzaron las concentraciones adecuadas de proteínas plasmáticas después de las 24 horas post nacimiento (< 5.0 g/100 ml). Transcurridas 48 horas del nacimiento, el 100% de los individuos alcanzaron niveles adecuados de proteínas plasmáticas (≥ 5.0 g/100 ml). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos observados (0, 24 y 48 horas post nacimiento) ($p < 0.001$), (Figura 13 y 14).

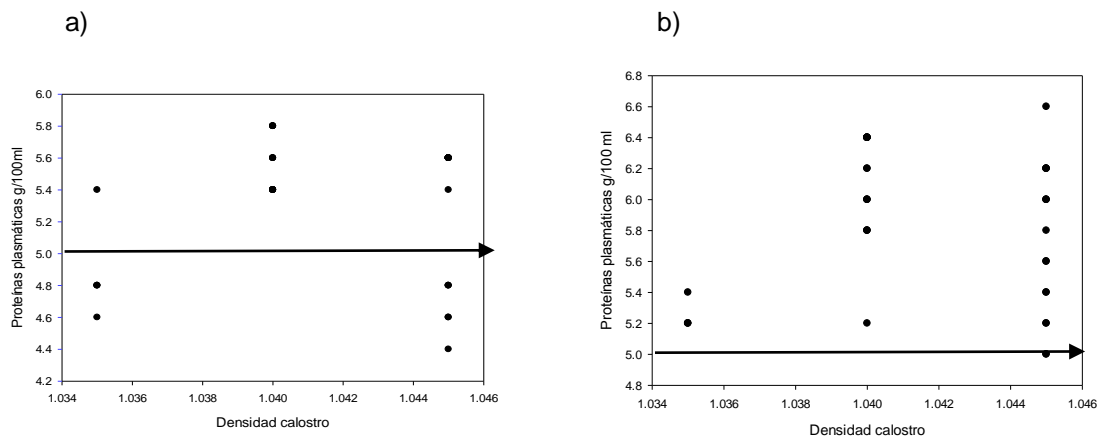


Figura 13. Concentración de proteínas plasmáticas a las 24 y 48 horas posteriores al nacimiento. La imagen a) muestra cómo a las 24 horas de haber nacido y a pesar de haber recibido calostro, todavía se encuentran individuos que no alcanzan adecuados niveles de proteínas en suero. La imagen b) representa las concentraciones plasmáticas de proteína 48 horas después del nacimiento donde se observa a la totalidad de individuos con niveles adecuados de proteína plasmática.

Figura 14. Datos obtenidos con el uso del refractómetro.

Resultados del refractómetro en muestras de suero sanguíneo en neonatos									
Datos generales				Muestras					Observaciones
No.	Madre	partos	Becerr@	Fecha de nacimiento	Al nacimiento	24hrs. Pos nacimiento	48hrs. Pos nacimiento	Fecha del muestreo	
1	116	8	54	04/01/2013	3.8g/100ml	5.6g/100ml	6.2g/100ml	07/01/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
2	14	1	m14	07/01/2013	3.8g/100ml	5.4g/100ml	6.4g/100ml	07/01/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
3	142	6	55	27/01/2013	4.0g/100ml	4.6g/100ml	5.4g/100ml	28/01/2013	baja protección, mala calidad, cantidad y tiempo
4	171	4	m15	28/01/2013	4.2g/100ml	5.6g/100ml	6.0g/100ml	28/01/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
5	199	2	m16	01/02/2013	3.8g/100ml	5.6g/100ml	5.8g/100ml	04/01/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
0	10	1	56	02/02/2013	4.0g/100ml	5.4g/100ml		03/02/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
7	1	2	m17	05/02/2013	3.8g/100ml	5.8g/100ml	6.4g/100ml	30/01/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
8	175	3	m18	17/02/2013	4.2g/100ml	5.6g/100ml	5.6g/100ml	18/02/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
9	8	1	57	21/02/2013	3.8g/100ml	4.8g/100ml	5.2g/100ml	22/02/2013	baja protección, mala calidad, cantidad y tiempo
10	17	1	m19	03/03/2013	4.0g/100ml	5.6g/100ml	6.2g/100ml	05/03/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
11	198	2	58	14/03/2013	4.4g/100ml	5.4g/100ml	6.0g/100ml	14/03/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
12	125	7	m20	15/03/2013	3.8g/100ml	4.6g/100ml	5.0g/100ml	15/03/2013	baja protección, mala calidad, cantidad y tiempo, la madre curso por problemas de hipocalcemia, desnutrición.
13	2	2	m21	18/03/2013	3.8g/100ml	4.8g/100ml	5.2g/100ml	18/03/2013	baja protección, mala calidad, cantidad y tiempo
14	129	5	m22	29/03/2013	3.8g/100ml	5.6g/100ml	6.2g/100ml	29/03/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
15	4	2	m23	27/04/2013	4.2g/100ml	5.4g/100ml	5.8g/100ml	29/04/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
16	196	2	59	03/05/2013	4.0g/100ml	5.8g/100ml	6.4g/100ml	06/05/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
17	154	5	60	21/05/2013	3.8g/100ml	5.6g/100ml	6.0g/100ml	21/05/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
18	158	5	m24	03/06/2013	3.8g/100ml	5.6g/100ml	6.2g/100ml	04/06/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
19	160	5	63	17/09/2013	4.0g/100ml	4.8g/100ml	5.4g/100ml	17/08/2013	baja protección, mala calidad, cantidad y tiempo
20	18	1	64	23/09/2013	4.2g/100ml	5.6g/100ml	6.0g/100ml	24/09/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
21	173	4	m25	26/09/2013	3.8g/100ml	4.6g/100ml	5.2g/100ml	27/09/2013	baja protección, mala calidad, cantidad y tiempo
25	26	1	65	26/10/2013	4.0g/100ml	5.6g/100ml	6.2g/100ml	27/10/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
26	149	5	m30	11/11/2013	3.6g/100ml	4.8g/100ml	5.0g/100ml	12/11/2013	baja protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo, la madre curso con problemas de mastitis.
27	30	1	m31	12/11/2013	3.8g/100ml	4.6g/100ml	5.2g/100ml	12/11/2013	baja protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo. El becerro fue prematuro y murio 8 días despues.
28	23	1	68	22/11/2013	4.2g/100ml	5.4g/100ml	6.0g/100ml	22/11/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
29	27	1	m32	03/12/2013	4.2g/100ml	5.4g/100ml		04/12/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
30	29	1	m33	09/12/2013	4.0g/100ml	5.8g/100ml	6.4g/100ml	09/12/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
31	159	5	69	13/12/2013	3.8g/100ml	5.6g/100ml	6.6g/100ml	14/12/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
32	9	2	70	20/12/2013	3.8g/100ml	5.4g/100ml	6.4g/100ml	21/12/2013	buena protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo.
33	1	2	71	27/12/2013	4.2g/100ml	4.8g/100ml	5.4g/100ml	27/12/2013	baja protección inmunológica, calidad, cantidad y tiempo, la madre curso con problemas de pododermatitis.

12. DISCUSIÓN.

El calostro desde el punto de vista inmunológico es vital para la supervivencia y salud del becerro. Con base en el análisis de la calidad del calostro del primer ordeño, es posible tener una idea del grado de protección que se confiere al becerro, así como el estado de salud de la madre (problemas de mastitis, tiempo de secado, deficiencias nutricionales, problemas metabólicos e infecciones) (Godden, Haines, Konkol, Peterson, 2009). Algunos autores describen la relación directa entre la densidad del calostro y el contenido de proteínas en el suero del calostro, así como la concentración total de Ig de éste, donde se considera que un calostro de calidad superior presenta una densidad > 1,045 equivalente a una concentración mínima de 120 g/l. Calostros de mediana calidad presentan una densidad de 1,045 y calostros de baja densidad presentan una densidad < 1,035. Cuando se controla el volumen de calostro consumido en relación al peso corporal, siendo ideal al 10% del peso vivo y el tiempo transcurrido entre el parto y la primera toma, existe una relación positiva entre la concentración de proteínas totales del calostro y los niveles de proteínas plasmáticas o inmunoglobulinas en los becerros a las 24 horas de vida. Esta relación es negativa respecto del tiempo desde el parto a la primera toma. Las Ig séricas en el becerro alcanzan los niveles máximos de 24 a 36 horas posparto y persisten así hasta los 4 días de vida, efectuándose el muestreo en este periodo. Se observó que el tiempo posparto y la cantidad de calostro óptimos para obtener los niveles más altos de Ig se presentaron cuando se proporcionan al menos 2 litros de calostro en las primeras 2 o 3 horas de vida. A medida que el tiempo transcurrido aumenta, o disminuye la cantidad de calostro consumido, empiezan a existir diferentes grados de hipogamaglobulinémias. Por tanto es importante para que exista una transferencia eficiente de inmunidad pasiva, a través del calostro por parte de la madre, es necesario que se controlen los tres factores que son volumen de calostro, calidad de calostro y tiempo transcurrido entre el parto y su consumo. Cuando alguno de los factores falla, se presenta algún grado de hipogamaglobulinemia (Martínez, 2003, Medina 1996, Prescott, 2004).

Cuando se presenta una transferencia de inmunidad calostrual adecuada, los niveles séricos de proteínas plasmáticas en el becerro a las 24 o 48 horas de vida son superiores a 5 g/dL. Becerros con niveles inferiores a presentan muy frecuentemente

hipogamaglobulinemia con presencia de diarrea y enfermedades respiratorias y becerros con agamaglobulinemia presentan frecuentemente septicemias, diarreas y mortalidad. Por lo tanto si la transferencia de inmunidad pasiva en becerros es buena y además son adecuados los trabajos de nutrición y manejo, se reducen significativamente los problemas de salud en la crianza de becerros (Barrington, 2001, Berge, Besser, Moore, Sischo, 2009, Tizard, 2009).

En forma práctica a nivel de campo es importante medir la densidad del calostro del primer ordeño para conocer su calidad y más importante resulta, determinar los niveles de proteínas totales por medio de refractometría. En casos más específicos se pueden realizar pruebas de laboratorio como la de turbidez con sulfato de zinc u otros métodos inmunológicos, que nos permiten conocer el grado de protección inmunológico (Barrington, 2001, Medina, 1996, Singh, 2002).

13. CONCLUSIONES

La transferencia de IgG de la sangre al calostro, finaliza prácticamente antes del parto. Consecuentemente, solo la primera leche después del parto es considerado calostro verdadero, por lo tanto, tomas subsecuentes a la primera, deben considerarse como un nutriente importante para alimentar beceras recién nacidas, ya que la concentración de Ig disminuye rápidamente en los ordeños subsecuentes.

Los factores más importantes que influyen sobre la absorción de inmunoglobulinas en el calostro, son el tiempo de su ingesta, (recomendando que no supere las 6 horas pos nacimiento), la cantidad ofrecida (siendo alrededor del 10% de su peso corporal) y la calidad del calostro con mayor concentración de inmunoglobulinas monitoreándose con el calostrodensímetro.

Son muchos los factores que influyen sobre el contenido de inmunoglobulinas presentes en el calostro, por lo que es necesario conocer la calidad de los mismos para criar las beceras, siendo los resultados obtenidos con el calostrodensímetro, los que permiten establecer estimaciones adecuadas para seleccionar calostros de buena calidad.

Almacenar calostros de alta calidad, sometiéndolos a un proceso de pasteurización para garantizar su inocuidad y posteriormente congelarlos, es una alternativa práctica en las explotaciones pecuarias, sobre todo cuando no es posible obtener calostros directamente de la madre o bien que este sea de baja calidad.

Aquellas beceras que presentan concentraciones bajas de inmunoglobulinas séricas, presentaran porcentajes de morbilidad y mortalidad mayores a los parámetros establecidos, ya que serán más susceptibles a enfermedades e infecciones originados por diversos agentes patógenos.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Barrington, G. M., y Parish, S. M. **Bovine neonatal immunology.** *Vet. Clinics North America: Food Animal Practice.* (2001), 17: 363-476.
2. Berge AC, Besser TE, Moore DA, Sischo WM: **Evaluation of the effects of oral colostrum supplementation during the first fourteen days on the health and performance of preweaned calves.** *J. Dairy Sci* (2009), 92: 286-295.
3. Besser TE, Gay CC, Pritchett L: **Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves.** *J. Am Vet Med Assoc* (1991), 198: 419-442.
4. Besser TE, Gay CC. **Colostrum transfer of immunoglobulins to the calf.** *Vet Annal* (1998).
5. Biemann V. Gillan J. Perkins NR, Skidmore AL. Godden S, Leslie KE: **An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle.** *J. Dairy Sci* (2010), 93: 3713-3721.
6. Bouda J. **Diagnóstico de hipogamaglobulinemia y valores bioquímicos importantes en becerros.** Memorias del curso tratamiento de enfermedades en bovinos UNAM. (1994)
7. Boyd JW. Greene HJ. **Neonatal diarrhoea in calves.** *Vet Rec* (1994).
8. Boyd JW. **The relationship between serum immune globulin deficiency and disease in calves: a farm survey.** *Vet Rec* (1972) 90: 645-649.
9. Butler. J.E. Sinkira. M., ertz, N., Holtmeir. W., y Lemke, C. D. **Development of the neonatal B and T cell repertoire in swine: implications for comparative and veterinary immunology.** *Vet. Res* (2006), 37: 417-441.
10. Chavette, P. et al.: **Field Determination of colostrum quality by using a novel, practical method.** *AAEP PROC.* (1998). 33: 206-209.

11. Chingerwe M, Tyler JW, Middleton JR, Spain JN, Dill JS, Steevens BJ: **Comparison of four methods to assess colostral IgG concentration in dairy cows.** J. Am Vet Med Assoc (2008), 233: 761-766.
12. Chigerwe M, Tyler JW, Summers MK, Middleton JR, Schultz LG, Nagy DW: **Evaluation of factors affecting serum IgG concentration in bottle-fed calves.** J Am Vet Med Assoc (2009), 234:785-789.
13. Claus, M.A., Levy, J.K., MacDonald, K., Tucker, S.J., y Crauford, P.C. **Immunoglobulin concentrations in feline colostrums and milk, and the requirement of colostrums for passive transfer of immunity to neonatal kittens.** J. Feline Med. (2006), Surgery-8:184-191.
14. Cochet, O., Teillan, J., Seutès, C: **immunological techniques made easy.** Wiley. (2000).
15. Daniel WW. **Biostatistics, a foundation for analysis in the health sciences.** New York, John Wiley & Sons, (1993).
16. Elizondo-Salazar JA, Heinrichs AJ: **Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy heifers: Effects on growth characteristics and blood parameters.** J Dairy Sci (2009), 92:3265-3273.
17. Entrican, G. **Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interaction in infectious abortion.** (2002) J. Comp. Path. 126:79-94.
18. Godden SM, Haines DM, Konkol K, Peterson J: **improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: interaction between feeding method and volume of colostrum fed.** J Dairy Sci (2009), 92:1758-1764.
19. Godden SM, Smith S, Feirtag JM, Green LR, Wells SJ, Fetrow JP: **Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves.** J Dairy Sci (2003), 86:1503-1512.

20. Greene. C. E. **Infectious Diseases of the dog and cat**, 3*ed. (Greene, C. E., ed). Suander Elsevier, St. Louis (Mo), (2006).
21. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21154a.html/> (2015).
22. Innes, E. A. Andrianarivo A. G. Borkman, C., Williams D.J.L., y Conrad P.A. **Immune responses to Neosporacanium and prospects for vaccination.** *Trenesparasitol* (2002), 18: 497-504.
23. Klimes J, Jagos P, Bouda J. **Basic qualitative parameters of cow colostrum and their dependence on season and postpartum time.** *Acta Vet* (1996).
24. Lorenz I, Fagan J, More SJ: **Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves.** *Ir Vet J* Sep 14 edition. (2011), 64.
25. M. Sedlinská: **Evaluation of Field Methods for Determining Immunoglobulins in sucking Foals.** (2005). *Acta Vet. Brno.* 74:51-58.
26. **Manual de crianza de becerras**, MVZ. Ph. D. Abelardo A. Martínez, 2da edición. Grupo editores agropecuarios, (2003).
27. Martínez A. **Errores fundamentales en el suministro de calostro.** *Hoard's Dairy man* (1998).
28. Martinez AA. **Manual de crianza de becerras.** Editagro, (2003).
29. McGee M, Drennan MJ, Caffrey PJ: **Effect of age and nutrient restriction pre partum on beef suckler cow serum immunoglobulin concentrations, colostrum yield, composition and immunoglobulin concentration and immune status of their progeny.** *Irish J Agr Food Res* (2006), 45:157-171.
30. McMartin S, Godden SM, Metzger L, Feirtag J, Bey R, Stabel J, Goyal S, Fetrow J, Wells S, Chester-Jones H: **Heat treatment of bovine colostrum I:**

Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. J Dairy Sci (2006), 89:2110-2118.

31. Medina CM. **Determinación de gamaglobulinas en el becerro neonato.** Manual de inmunología. México (1996).
32. Medina CM. **Determinación de gamaglobulinas en el calostro bovino por medio del Calostrómetro.** Manual de inmunología (1996).
33. Medina CM. **Medicina productiva en la crianza de becerras lecheras.** México, Limusa, (1994).
34. Michanek P, Ventorp M. **Passive immunization of newborn dairy calves on farms with different housing systems.** J Agric Res (1996).
35. Morin DE, Nelson SV, Reid ED, Nagy DW, Dahl GE, Constable PD: **effect of colostrum volume, interval between calving and first milking, and photoperiod on colostrum IgG concentrations in dairy cows.** J Am Vet Med Assoc (2010), 237: 420-428.
36. Murphy BM, Drennan MJ, O'Mara FP, Earley B: **Cow serum and colostrum immunoglobulin (IgG) concentration of five suckler cow breed types and subsequent immune status of their calves.** Irish J Agr Food Res (2005), 44: 205-213.
37. Pastoret, P.P., Griebel, P.: Bazin H., y Govaerts, A. (1998): **Handbook of vertebrate immunology.** Academic Press, Londres.
38. Penhale WJ, Christie G, Selman IE. **Quantitative studies on bovine immunoglobulins and their relationship to neonatal infection.** Br Vet J (1990).
39. Prescott, L. M.; Harley. J.P., y Klein. D.A. **Microbiología** 5 ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.<http://www.cas.muohio.edu/-stevenjr/mbi414/igstructurefunction414.html>. Se recomienda para su información completa sobre la estructura y funciones de las inmunoglobulinas, (2004).

40. Quigley JD, Martin KR. **Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulins growth.** J Dairy Sci (1995).
41. Quiroz RG, Medina CM, Núñez OL, **Impacto de la administración y la calidad del calostro sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas en becerros.** Memorias congreso de Buiatría (2001).
42. Rea DE, Tyler JW, Hancock DD. **Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostrum immunoglobulin.** Vet Med Assoc (1999).
43. Singh, A: **Fundamental techniques in immunology and serology. For veterinary, medical and biotechnical students.** IBDC, (2002).
44. Stott GH, Marx DB, Menefee BE, Nigthengale GT: **Colostrum immunoglobulin transfer in calves I. Period of absorption.** J Dairy Sci (1999), 62: 1632-1638.
45. Sultan ZA, Hamed MK. **Immunoglobulin concentration in colostrum and blood serum with reference to growth and vitality of Friesian calves.** J Anim Prod. (1995).
46. Thomas LH, Swann RG. **Influence of colostrum on the incidence of calf pneumonia.** Vet Rec (1993).
47. Tizard I. **Veterinary immunology.** Elsevier; 8 edition (December 15, 2009).
48. Turgut, K: **Plasma transfusion in calves with failure of passive colostrum transfer.** (1998). J. Vet. Anim. Sci. 22: 123-130.
49. USDA: **Dairy 2007, heifer calf health and management practices on U.S. Dairy operations, 2007.** USDA: APHIS: VS, CEAH Fort Collins, CO#5500110 2010.
50. Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE, Barrington GM: **Passive transfer of colostrum immunoglobulin in calves.** J Vet Intern Med (2000), 14: 569-577.

51. Wittum TE. **Passive Immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves.** Vet Res (1995), 56: 1149-1154.

52. Zapata, A., Diez, B, Cejalvo, T., Gutierrez de Frías, C., y Cortes, A. **Ontogeny of the immune system of fish.** Fish Shellfish immunol. (2006), 20: 126-136.

15. ANEXOS

15.1. PRUEBAS INMUNOLÓGICAS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE PROTEÍNAS PLASMÁTICAS.

15.1.1. DETERMINACIÓN INDIRECTA DE INMUNOGLOBULINAS MEDIANTE LA MEDICIÓN DE LA GRAVEDAD ESPECÍFICA CALOSTRAL (CALOSTRÓMETRO O CALOSTRODENSÍMETRO)

Introducción

El calostro es la fuente primaria de inmunidad pasiva natural (anticuerpos) para muchas especies animales, muchos productores de animales miden la gravedad específica calostrual para seleccionar el calostro que tiene una adecuada concentración de inmunoglobulinas. El dispositivo para medir la gravedad específica del calostro se llama calostrómetro y es simplemente un hidrómetro que incorpora la relación entre la concentración de inmunoglobulinas y la gravedad específica del calostro (Zapata, 2006, Sedlinská, 2005, Singh, A, 2002).

Material:

- Calostrómetro o calostrodensímetro
- 250 ml de calostro
- Bata y guantes de látex

Procedimiento:

- 1.-Limpiar perfectamente la ubre de la vaca y asegurarse que no tenga ninguna partícula contaminante.
- 2.-Colectar el calostro (solo la primera y segunda ordeña del día) en un recipiente limpio.

3.- En caso de sobrar calostro refrigerarlo inmediatamente.

4.-Transferir el calostro al cilindro medidor y dejar que se enfríe a temperatura ambiente (20°C / 68°F).

5.-Lentamente, sumergir el calostrómetro o densímetro en el calostro sin ningún contacto con las paredes del cilindro fluyendo libremente.

6.-Mientras que el calostrómetro flota determina la calidad del calostro observando la escala de colores o numéricas que está situada dentro del dispositivo.

Como leerlo: la escala de la superficie del calostro indica la gravedad específica (SG).

Interpretación:

El calostro con SG con una cantidad menor a 1,035 es calidad inferior o mala calidad (zona roja). SG entre 1,035- 1,045 es calidad intermedia (zona verde clara o amarilla). SG con más de 1,045 es buena calidad (zona verde oscuro).

El calostro densímetro es un instrumento frágil que debe mantenerse limpio.

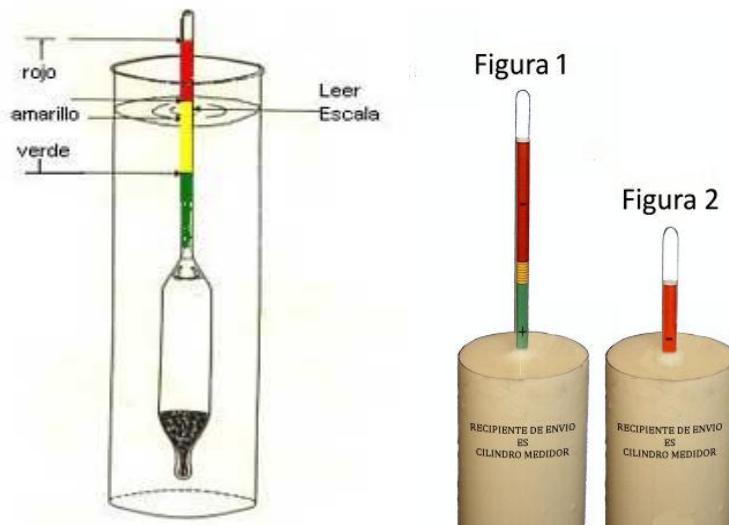
El calostro densímetro se puede obtener con o sin el cilindro medidor, si se utiliza otro cilindro, tener cuidado que presente un diámetro inferior mayor a 4,5 cm ya que de lo contrario se puede cometer un error de interpretación que da la tensión de la superficie.

Cuando el calostro se encuentra en la zona roja, es necesario suplementar con calostro de buena calidad que se ha congelado anteriormente o utilizar calostro que venden como suplemento. Alternativamente, deberá dar una mayor cantidad de calostro inferior.

Cuando el calostro se encuentre en zona verde clara o amarilla esta probablemente bien si se le ha dado al ternero una gran cantidad de calostro después de nacer, calostro de esta calidad no debe ser congelado para darse más tarde.

Cuando el calostro se encuentra en zona verde oscura, se tiene calostro de alta calidad. Excedente de este calostro se puede congelar para después dar a otros terneros.

Importante recordar que aun cuando se utilice calostro de buena calidad solamente será beneficioso para el ternero si se da dentro de las primeras 4-6 horas después de nacido. (Zapata, 2006, Sedlinská, 2005, Singh, A, 2002).



Recomendaciones:

La leche con la más elevada gravedad específica es la que tiene mayor concentración de lgs.

El calostro es algo denso y pegajoso. Evitar que el calostrómetro se sumerja más alta del área de lectura numérica o de colores. Limpiar el exceso de nata y espuma del calostro antes de hacer la lectura

15.1.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES (E INDIRECTAMENTE INMUNOGLOBULINAS) MEDIANTE REFRACTOMETRÍA.

La refractometría es una técnica usada en muchas explotaciones animales y sirve para medir la concentración de inmunoglobulinas en animales domésticos, sobre todo neonatos; sin embargo, también puede utilizarse para vigilar a los adultos. El principio de la refractometría implica pasar un haz de luz (ambiental o artificial) a través de una muestra de suero. El dispositivo mide la cantidad de luz desviada o refractada por los constituyentes de la sangre, como proteínas o compuestos sólidos del plasma. Por lo tanto entre más alta sea la concentración de proteínas en sangre, mayor será el índice de refracción de la luz animales de granja (becerros) de aproximadamente una semana de edad, el mayor constituyente del total de proteínas son las inmunoglobulinas, por lo que el total de proteínas mediante refractometría puede usarse para estimar la inmunidad pasiva. Aunque la técnica de refractometría para medir Ig del suero es relativamente sencilla, se requiere suero fresco y sin hemólisis. La estimación de la concentración proteínica mediante el índice de refracción del suero es rápida y económica, requiere como reactivo solamente una gota de suero y del refractómetro. No obstante, en lugar de medir directamente concentraciones de IgG, el aparato mide la concentración de proteínas totales. Existen para cada especie animal tablas para correlacionar la cantidad de proteínas totales en comparación con la concentración de Ig (Zapata, 2006, Sedlinská, 2005, Singh, A, 2002).

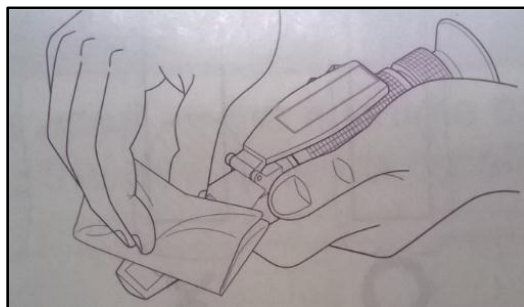


Material:

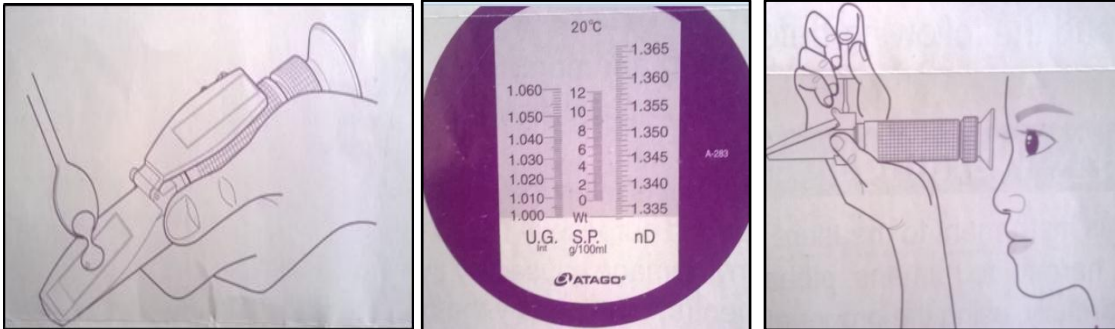
- Refractómetro manual o de bolsillo.
- Suero de bovino.
- Pipetas de Pasteur.
- Agua destilada
- Torundas de algodón.
- Alcohol 70%

Procedimiento:

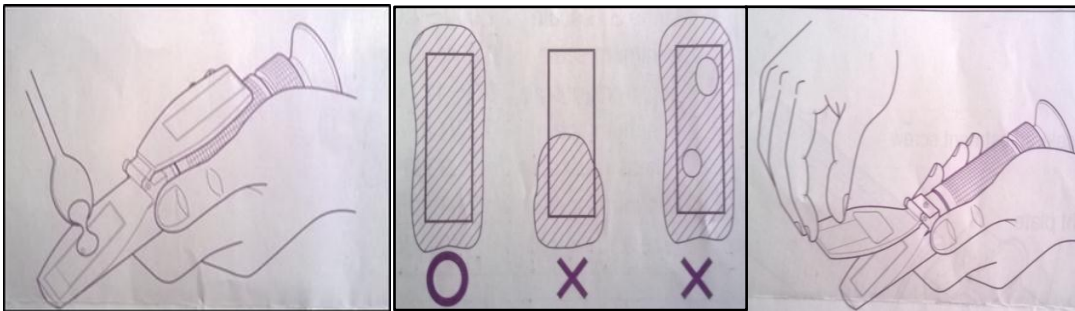
1.- Limpiar muy bien el prisma del refractómetro con algodón y alcohol.



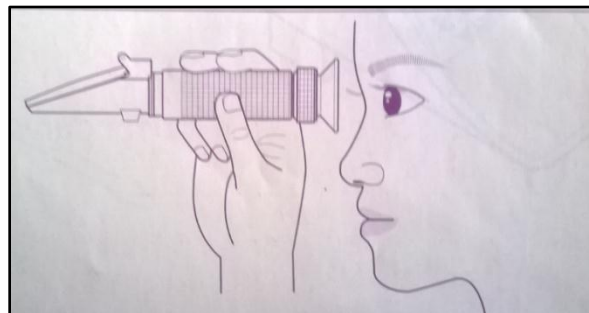
2.- Se calibra el refractómetro con una o dos gotas de agua destilada marcando en la escala el número 1000 UG. (a veces es necesario ajustar con el desarmador).



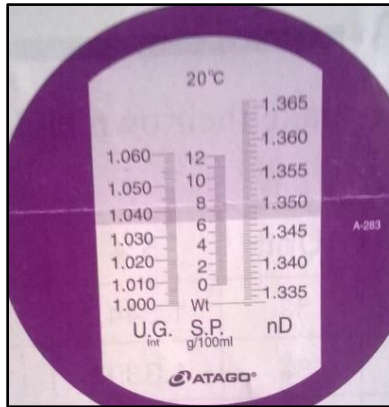
3.- Colocar una gota de suero y bajar la placa de plástico para diseminar el suero a lo largo del prisma.



4.- Observar a través de la pieza ocular mientras se sostiene el refractómetro en dirección a alguna fuente de luz.

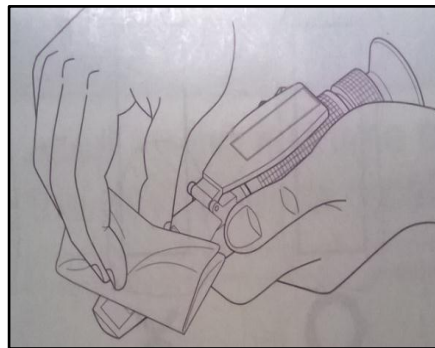
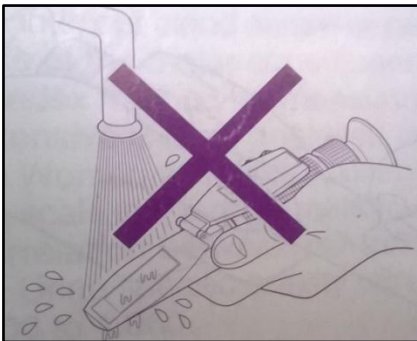


5.- Observar el nivel o localización de la banda azulada o azul grisácea en la escala graduada.



6.- Registrar las observaciones.

7.- Limpiar perfectamente el prisma y la placa de plástico antes de realizar otra lectura, como se muestra en la imagen de abajo.



Interpretación:

Valores > 5g/dL. Excelente inmunidad pasiva.

Valores = 4.75.0 a 5 g/dL. Moderada inmunidad pasiva.

Valores < 4.75g/dL. Falla en la inmunidad pasiva.

Estados de deshidratación tendrán que elevar la concentración de proteínas totales. .

Recomendaciones:

Verificar la agudeza y precisión del refractómetro antes de adquirirlo.

Utilizar un refractómetro de excelente calidad.

La relación entre la concentración de proteínas totales y la de inmunoglobulinas en sangre varían con la edad del animal debido a la tasa de ingestión de calostro y el grado de absorción intestinal de inmunoglobulinas.

Realizar la lectura después de 24 hrs y antes de 56 hrs de nacido. Esto asegura una completa absorción intestinal de IgG.

15.1.3. DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINAS MEDIANTE LA PRUEBA DE COAGULACIÓN CON GLUTARALDEHIDO

La prueba de coagulación con glutaraldehido es una manera rápida y efectiva para vigilar a un gran número de animales. El principio químico de la prueba consiste en la coagulación diferencial de diferentes proteínas de la sangre con un aldehído diluido. El entrecruzamiento molecular de una solución de glutaraldehido al 10% ocasiona la coagulación de proteínas básicas como las Igs y el fibrinógeno. Se ha reportado que la cantidad de material coagulación depende de la concentración de IgG, considerada como la Ig dominante en el suero. Este método es utilizado mayormente para estimar la transferencia de inmunidad materna hacia el neonato. Comparando con un animal adulto y sano, el sistema inmune de los animales recién nacidos no está completamente desarrollado desde el punto de vista de la producción de anticuerpos. La prevalencia de enfermedades o infecciones neonatales animales es importante el momento de determinar el valor de la inmunidad pasiva. Si el riesgo de infección es muy alto, las concentraciones de Igs séricas en los animales neonatos pueden estar muy bajas como para protegerlos. La prueba de coagulación con glutaraldehido puede utilizarse como una primera opción para prevenir enfermedades infecciosas en animales y asistir en una oportuna administración oral de calostro durante las primeras 12 a 24 horas de vida y de plasma por vía IV en animales mayores. La prueba de coagulación es sumamente sencilla de realizar en campo, es rápida y relativamente barata; sin embargo, su especificidad es más baja que una prueba de inmunodifusión radial (SIRD; por sus siglas en ingles). No obstante, la SRID lleva 18 a 24 horas para su interpretación, lo cual consumiría un tiempo muy valioso para la adquisición de inmunidad pasiva en un neonato (Zapata, 2006, Sedlinská, 2005, Singh,2002).

Material:

- Glutaraldehido al 25% (grado analítico)
- Agua destilada inyectable
- Suero de bovino
- Probeta de 10 ml

- ☉ Pipetas serológicas de 10ml
- ☉ Perilla de goma
- ☉ Gradilla
- ☉ Tubos de ensayo de 5 a 10 ml
- ☉ Micro pipetas de 10 a 200 μ L
- ☉ Puntillas para micro pipetas
- ☉ Batas y guantes de látex
- ☉ Reloj con cronometro

Procedimiento:

- ☉ Preparar en una probeta una solución de glutaraldehido al 1 % con el agua destilada.
- ☉ Agregar a cada tubo de ensayo 5ml del suero problema
- ☉ Agregar al suero 50 μ L. de la solución de glutaraldehido al 1%. Mezclar cuidadosamente mediante repetidas inversiones del tubo. Cuidar que no se forme espuma
- ☉ Dejar reposar la mezcla durante 60min.

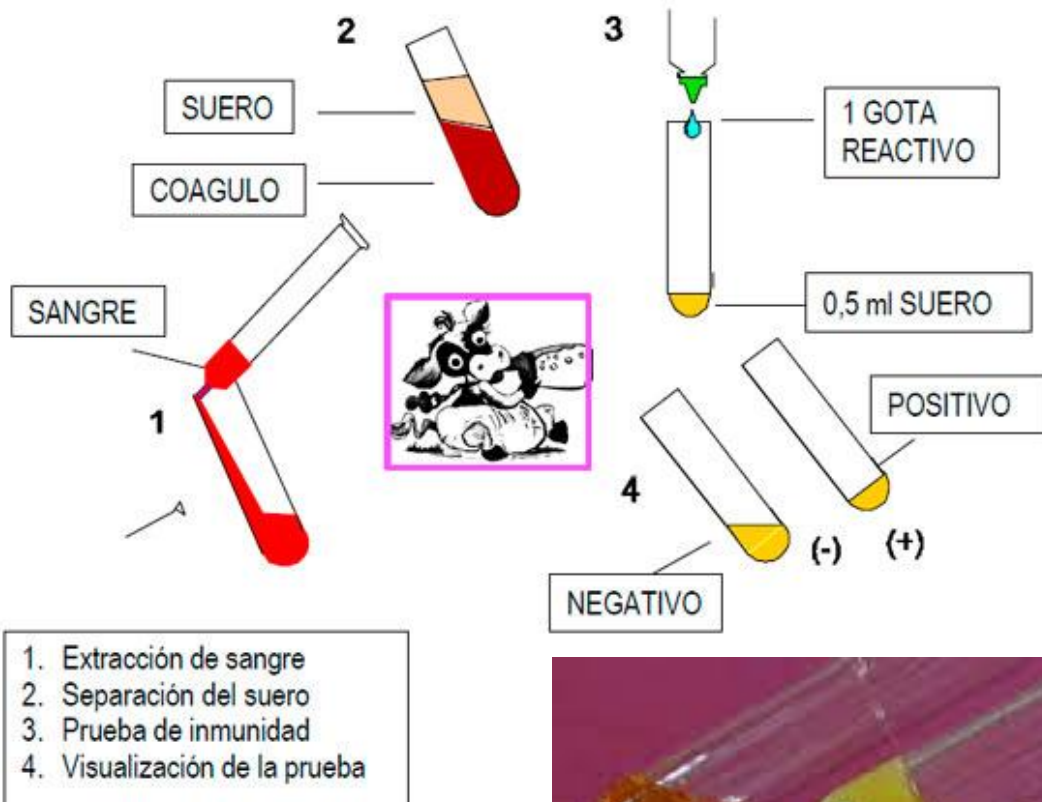
Interpretación de la prueba:

Si el resultado es positivo se deberá observar floculación o coagulación del suero. Esto se observa como la formación de un gel blanquecino o blanco amarillento en el fondo del tubo

Si el resultado es negativo, se observara el suero en estado líquido	
Si la coagulación ocurrió en menos de 10 min.	La concentración de IgG > 8.0g/L Suficiente respuesta inmune
Si la coagulación ocurrió en 60 min	la concentración de IgG = 4.0 a 8.0 g/L baja respuesta inmune

Si la coagulación ocurrió
en más de 60min

La concentración de IgG <4.0 a 8.0 g/L
muy baja respuesta inmune.
(Falla en la
transferencia de inmunidad materna)



Recomendaciones:

- Esta técnica resulta cruda en términos analíticos cualitativos de laboratorio, ya que detecta fibrinógeno, proteínas de fase aguda, albumina y hemoglobina; sin embargo, es una prueba que no es cara y resulta muy confiable si se lleva a cabo adecuadamente.
- Cualquier hemolisis causara distorsiones o falsos positivos por sobre estimación de IgG
- Animales febriles también darán falsos positivos por incremento del fibrinógeno sanguíneo.
- Esta metodología deberá corroborarse con otras, como SRID, turbidez, refractometría. .

15.1.4. CUANTIFICACIÓN DE INMUNOGLOBULINAS MEDIANTE LA PRUEBA DE TURBIDEZ CON SULFATO DE ZINC

La cantidad de inmunoglobulinas totales en muestras séricas puede determinarse por su precipitación diferencial con sulfato de Zinc u otras sales, como sulfato de amonio o sulfato de sodio en las concentraciones apropiadas. Este es un ensayo cualitativo y se usa comúnmente para medir las concentraciones de Igs en el suero. La adición de sulfato de cinc en una muestra de suero resulta en una solución turbia debido a las globulinas precipitadas y suspendidas en el mismo. La turbidez. Es proporcional a la cantidad en miligramos de inmunoglobulinas utilizando controles estándar conocidos para compararlos con el del animal. Existen varias maneras de medir la cantidad de Igs: 1) utilizando un espectrofotómetro. La turbidez se mide en un espectrofotómetro a A_{660} mm. Una curva estándar se realiza usando valores del suero problema a una A_{660} contra la concentración (mg/mL) de una preparación estándar de inmunoglobulinas. La cantidad total de Igs en las muestras son interpoladas de la curva estándar. 2) método práctico de campo, el cual se realiza comparando el grado de turbidez en los tubos contra un papel, que tiene impreso (en diferentes intensidades de impresión) la concentración aproximada de Igs de manera lineal y numérica (Cochet, 2000, Sedlinská, 2005).

Las Igs maternas (inmunidad pasiva) en el suero de los animales neonatos también pueden determinarse mediante esta prueba para diferenciar animales alimentados con calostro de los que fueron privados del mismo. El total de Igs en el suero de un animal indicara el estado inmune general de los animales. Los niveles de Igs en el suero de un animal se incrementan con la edad, indicando el desarrollo gradual de inmunocompetencia. En esta práctica se realizaran ambas modalidades (Cochet, 2000, Sedlinská, 2005).

Material:

- Sulfato de Zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en solución acuosa (208 mg/L).
- Muestras de suero de diferentes animales, adultos y neonatos
- Jeringas de 10mL y de tuberculina.
- Tubos de ensayo o vacutainer tapón rojo de 10mL y gradilla.
- Pipetas serológicas (1 y 10 mL).
 - Inmunoglobulina séricas (fracción globulínica obtenida por precipitación con sulfato de amonio) de conocida concentración.
- ASB (Sigma).
- Parafilm.
- Papel con las concentraciones conocidas impreso en diferentes fuentes.
- Perilla de hule.
- Espectrofotómetro.
- Marcador indeleble.
- Bata y guantes de látex.

Procedimiento:

Espectrofotómetro

1. Colocar 10 tubos de ensayo en la gradilla y marcarlos de 1 al 10. Realizar diluciones de las Igs (0.1mL cada uno) usando ASB como agente diluyente en los tubos 1 a 6, como se indica.

- Tubo 1: 5 mg/mL
- Tubo 2: 10 mg/mL
- Tubo 3: 20mg/mL

- Tubo 4: 30mg/mL
 - Tubo 5: 40mg/mL
 - Tubo 6: 50mg/mL
2. En los tubos 7 y 8, agregar 0.1mL de suero de diferentes animales y hacer una dilución 1:10 de cada uno en los tubos 9 y 10.
 3. Agregar 6.0 mL de sulfato de cinc en cada tubo, mezclar con el vortex e incubar a temperatura ambiente por 1 hr.
 4. Leer la turbidez en cada tubo tomando la absorbancia a 660nm de longitud en el espectrofotómetro.
 5. Dibujar una curva estándar de los valores obtenidos a A_{660} contra la concentración (mg/mL) de las Igs séricas conocidas.
 6. Determinar la concentración total de las Igs en las muestras de suero usando la curva estándar.
 7. El resultado. Se multiplica por 10 y se describe como el número de unidades de turbidez del sulfato de cinc (UTSZ o ZSTU) (mg de Igs totales / mL suero).

Interpretación:

Esta técnica permitirá estimar la concentración de Igs séricas en diferentes especies animales.

Datos menores a 10 a 20 ZSTU (protección insuficientemente adecuada); mayor que 20ZSTU (nivel mínimo de protección transferida mediante el calostro).

Método práctico o de campo:

1. Hervir 1L de agua destilada en un vaso de precipitado y dejarla enfriar. La ebullición libera el CO_2 . Cubra herméticamente el recipiente con parafilm.
2. Con una jeringa; agregar 6 mL de sulfato de cinc en los tubos sellados de vacutainer.

Aprovechar el vacío del tubo para introducir el reactivo.

Nota: aprovechar para preparar varios tubos vacutainer (tapón rojo) con el sulfato de cinc, ya que al vacío están libres de CO₂. Los tunos así preparados permanecen útiles por varios meses.

3. Con una jeringa de tuberculina, agregar 0.1 mL de suero (o plasma) al tubo con el sulfato de cinc. Atravesar el tapo. De goma para evitar la entrada de CO₂.

4. Mezclar la solución invirtiendo varias veces el tubo. Dejar reposar por 1h.

5. Contrastar los tubos contra la hoja impresa con las diferentes concentraciones.

Interpretación:

Si antes de la hora se observa turbidez en los tubos, significa que existe una adecuada concentración de Igs en el suero de los animales muestreados.

La lectura de las concentraciones de Igs es aproximada al valor mostrado a través del tubo cuando se compra con la hoja impresa.

Recomendaciones por el modo de campo:

Asegurarse de que los reactivos nunca entren en contacto con aire, ya que el CO₂ pudiera dar la turbidez a la mezcla.

La hemólisis tiende a incrementar la turbidez de la muestra. Hay que asegurar que esto no ocurra.

Recomendaciones de la prueba de zinc por el método de Espectrofotómetro:

Muestras de suero con evidencia de hemoglobina (hemólisis) darán valores de absorbancia erróneos. Se utilizara el siguiente factor de corrección:

Contenido total de Igs= turbidez (mg/mL)-[(A540nm de 1:20 dilución del suero)
x23]

El sulfato de cinc preparando debe guardarse herméticamente en frascos ámbar a 4°C /2 meses, ya que tiende a absorber CO₂ del ambiente.

Existen otros métodos cuantitativos para Igs, como SRID, o la prueba de micro turbidez utilizando placas de micro titulación en un lector de ELISA (A₆₂₀/A₆₉₀).

Este método es menos exacto que el espectrofotómetro; sin embargo, como también es un método cualitativo, es fácil, sencillo y barato de realizar en el campo.

Utilizar suero perfectamente, ya que el plasma contiene fibrinógeno y pudiera dar resultado erróneo.

Utilizar la siguiente lista de concentraciones para contrastar las muestras

- Prueba de turbidez con sulfato de cinc = < 3g/L.
- Prueba de turbidez con sulfato de cinc = 3 a 6g/L.
- Prueba de turbidez con sulfato de cinc = 6 a 8g/L.
- Prueba de turbidez con sulfato de cinc = 8 a 10g/L
- Prueba de turbidez con sulfato de cinc = < 10g/L.