

Utilización de indicadores metabólicos en la valoración de la transferencia de inmunidad pasiva en neonatos bovinos

Assessment of the passive transference of immunity in calves through metabolic indicators

Angie Fairut Carrillo¹, Valentina Loaiza¹, Rómulo Campos Gaona²

¹Profesionales independientes. ²Departamento de Ciencia Animal, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Autor para correspondencia: rcamposg@palmira.unal.edu.co

Rec. 10-06-09 Acept. 12-08-09

Resumen

Para determinar la utilidad de la actividad sérica de la fosfatasa alcalina (FA) y las proteínas séricas totales (PST) como indicadores de transferencia de inmunidad en terneros por el consumo de calostro en sus primeros días de vida, en un hato del trópico bajo de Colombia se escogieron al azar 15 vacas de las razas Gyr, Brahaman y el cruce Gyr x Holstein y sus respectivos terneros. En las vacas se recolectaron aproximadamente 300 ml de calostro el primer día del parto para determinar sólidos totales, proteína total y cenizas. En los terneros se tomaron muestras de sangre sin anticoagulante mediante venipunción yugular los días 0, 4, 12 y 30 posnacimiento. La concentración de las PST se determinó por refractometría y la FA mediante colorimetría enzimática. Se encontró relación alta y significativa ($P < 0.05$) entre los porcentajes de proteína total y sólidos totales del calostro, por lo que se concluye que una sola de estas mediciones es válida para evaluar ambos indicadores. Utilizando análisis de varianza se evaluó el efecto del tiempo sobre las concentraciones de PST y la actividad enzimática de la FA. En las PST se presentó una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el primer día (69 g/dl) y el día 30 (58 g/dl) cuando ocurrió la concentración más baja. Se observaron valores promedio de PST mayores que 4.5 g/dl, lo cual indica que los terneros adquirieron inmunidad pasiva por el consumo de calostro. La actividad enzimática de la FA disminuyó durante el período de estudio (1326.4 U/L en el primer día y 599 U/L en el día 30, posnacimiento) ($P < 0.05$). No fue posible comprobar si la FA puede ser utilizada como indicador directo de falla en la transferencia de inmunidad pasiva.

Palabras clave: calostro, inmunidad pasiva, inmunidad maternal, fosfatasa alcalina.

Abstract

Fifteen bovines and their calves were chosen randomly in order to determine the usefulness of the Alkaline phosphatase's (ALP) seric activity and the total seric proteins (TSP) as indicators of transference of immunity in calves through colostrums' consumption in their first days of life. Three hundred ml (300 ml) of colostrums of the first day after delivery were collected from the cows. In it total solids, crude protein and ashes were found. Blood samples without anticoagulant and through jugular venipuncture were taken from the calves on the 0, 4, 12, and 30th day after delivery. The concentration of the TSP was

1 Zootechnistas, profesionales independientes.

2 MV, Ph.D. Profesor Asociado. U. Nacional sede Palmira.

determined through refractometry, while the ALP was determined through the enzymatic colourimetric assay. A high and statistically significant relationship between the percentages of crude protein of the colostrums and the total solids was found, thus, it can be concluded that just one measurement is valid in order to study both indicators. The effect of time on the concentrations of TSP as well as on the enzymatic activity was evaluated through the use of ANOVA (Analysis of Variance). In the TSP there was a significant difference ($p < 0.05$) on the 30th day, day in which the lowest concentration occurred. Average values, higher than 4.5 g/dl of the TSP were found which may indicate that the calves developed passive immunity through colostrums' consumption. The ALP enzymatic activity decreased progressively during the period of study, showing a significant difference on the day zero ($p < 0.05$) however, it was not proved that the ALP can be used as a direct indicator of the PTI.

Keywords: Colostrum, passive immunity, alkaline phosphatase.

Introducción

Las altas tasas de morbilidad y mortalidad durante la etapa de cría de terneros son debidas a varios factores, entre ellos, el consumo y el momento de suministro de calostro al neonato en las primeras horas después del nacimiento. Una oferta inadecuada de éste se refleja en bajos pesos al destete, ganancias reducidas de peso, bajas tasas de crecimiento y pubertad tardía, lo que incide en baja productividad y sensibles pérdidas económicas para los productores.

La placentación epitelio corial de los rumiantes no permite el paso de las inmunoglobulinas (Igs) de la sangre materna hacia el feto, siendo el calostro la única fuente de inmunidad pasiva indispensable para la supervivencia del neonato. El calostro constituye la primera secreción láctea de los mamíferos después del parto y contiene altas concentraciones de inmunoglobulinas (70% - 80% IgG, 10% - 15% IgM y 10% - 15% IgA), que son absorbidas intactas durante las primeras 24 a 36 h después del nacimiento del ternero, tiempo después del cual el tracto intestinal no permite su paso. La cantidad, composición y características fisicoquímicas del calostro pueden variar por factores como la duración de la gestación y el periodo seco de la vaca, el intervalo entre partos, el número de lactancias, la raza, la calidad de la alimentación en el periodo preparto y la edad del animal, ya que las vacas después de la tercera lactancia tienden a presentar mayor concentración de Igs calostrales, que vacas más jóvenes (Wattiaux, 2000).

Entre las causas principales por las cuales fracasa la transferencia adecuada de

Igs al ternero se encuentran: la baja calidad o la secreción insuficiente de calostro suministrado por la vaca, la escasa ingestión por el ternero, la falla en la absorción intestinal debido a la pérdida de la permeabilidad del intestino para las Igs después de 24 a 36 h de vida del ternero, a lo anterior se suma la reducción en la concentración de Igs en leche con el avance de la lactancia (Aricada et al., 2004). Cuando una o más de estas causas ocurren en forma independiente o conjunta, el neonato presenta un complejo inmunodepresivo, comúnmente denominado falla en la Transferencia de Inmunidad Pasiva.

El nivel de concentración de Igs es un indicador importante de fallas en la Transferencia de Inmunidad Pasiva. El principal factor que influye sobre esta última es el manejo inadecuado en el suministro de calostro en las primeras horas de vida del ternero. Existe una serie de pruebas que permiten determinar la concentración de Igs, entre ellas: la concentración de proteína sérica total (PST) por refractometría, ensayos de turbidez de sulfatos de sodio y de zinc, cuantificación de la concentración sérica de inmunoglobulina G. Todas ellas varían en precisión, costo y adaptabilidad a la práctica veterinaria (Weaver et al., 2000; Çamkerten, 1998; Parish et al., 1997; Tessman et al., 1997).

En varios estudios (Parish et al., 1997; Maden et al., 2003) se ha encontrado correlación positiva ($r = 0.462$) entre IgG en suero y PST. Igualmente, se ha demostrado que las PST proporcionan información indirecta sobre el estado de inmunidad de terneros. En algunos casos, debido a la alta confiabilidad ($P < 0.05$) de las pruebas biológicas, la concen-

tración en suero de proteínas totales inferior a 6 g/dl es un índice de deficiencia ($P < 0.05$) en la TIP (Gungor et al., 2004). Lombardi et al. (2001) sugieren que las enzimas presentes en el calostro pueden ser usadas para evaluar su calidad. Una de ellas es la fosfatasa alcalina (FA) que se encuentra, además, en la leche y el suero sanguíneo, es termorresistente y con frecuencia es utilizada en la evaluación de este tipo de inmunidad.

En estudios realizados con corderos antes de ser amamantados se ha encontrado una alta actividad de la fosfatasa alcalina en suero en el día 0, disminuyendo progresivamente con la ingestión de calostro, lo que sugiere que esta enzima puede ser afectada por otros factores (Maden et al., 2004). Dependiendo del tipo de tejido –hueso, riñón, hígado, placenta, tejido tumoral– existen diferentes isoenzimas de fosfatasa alcalina por tanto, la actividad final de ésta presente en suero puede ser el resultado de una mezcla proveniente de los tejidos.

Zarrilli et al. (2003) estiman que la determinación de enzimas es una prueba segura para establecer la ingestión de calostro en varias especies de rumiantes. Estudios recientes (Maden et al., 2003, 2004; Gungor et al., 2004) muestran la utilidad de la actividad enzimática sérica de gamma-glutamyl transferasa (GGT) y la FA como indicadores de TIP en terneros y corderos.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar si los índices séricos de fosfatasa alcalina y proteínas totales reflejan la transferencia de inmunidad pasiva en terneros con acceso *ad libitum* de calostro durante los primeros días de vida.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en una finca ganadera de tipo comercial, localizada en condiciones de trópico bajo colombiano (450 m.s.n.m., temperatura media de 28 °C y una precipitación anual de 700 mm distribuida en forma bimodal). Se seleccionó al azar un grupo de 15 vacas de primero y segundo partos, de las razas Gyr, Brahaman y el cruce Gyr x Holstein en estado fisiológico correspondiente al último tercio de la gestación. En el momento del parto se recolectaron muestras de calos-

tro (300 ml) y se hizo una evaluación física y clínica de los terneros.

Empleando tubos a vacío sin anticoagulante (Vacutainer) y mediante venipunción yugular se tomaron muestras de sangre de los terneros en el momento del nacimiento (día 0) y a los días 4, 12 y 30 posparto. El suero obtenido por coagulación a temperatura ambiente se almacenó en balas plásticas que fueron congeladas a -20 °C hasta el momento de los análisis.

La concentración de PST se determinó por el método de refractometría directa y la actividad sérica de la FA, por medio de colorimetría enzimática (Analyzer Chemistry RA-50) utilizando el kit comercial Randox®, Crumlin, IR. En las muestras de calostro se determinaron, además, el porcentaje de sólidos totales, la proteína total y cenizas utilizando el análisis proximal de Weende.

Los resultados fueron analizados mediante estadísticas descriptivas y correlación de Pearson entre sólidos totales y proteína total en el calostro, así como entre FA y PST. El efecto de la variable tiempo (días después del nacimiento del ternero) vs. concentraciones de PST y actividad enzimática de la fosfatasa alcalina se evaluó empleando la prueba de Duncan ($P < 0.05$). Para los cálculos estadísticos se empleó el software SPSS versión 13.0 (SPSS Inc, 2004).

Resultados y discusión

En el calostro se encontraron porcentajes de 22.68 ± 5.42 para sólidos totales y 14.85 ± 3.49 para proteína total, siendo similares a los encontrados por Wattiaux (2000) y Quigley (1998), quienes hallaron valores de 23.9% y 14%, respectivamente. Se encontró una correlación alta y significativa entre el porcentaje de proteína total del calostro y el de sólidos totales ($r = 0.695$, $P < 0.01$), lo que indica que una de estas mediciones son confiables para estimar sus tendencias. En este caso, por su economía y rapidez, es recomendable realizar la prueba de sólidos totales como una alternativa para conocer de una manera indirecta la concentración de proteína total en calostro.

La calidad del calostro se puede evaluar según la concentración de Igs, las cuales son

proteínas de alto peso molecular. Parish et al. (1997) al validar la concentración de proteínas séricas como un indicador del consumo de calostro, encontraron una correlación positiva entre la concentración de PST y gamma-globulinas presentes en terneros.

La mayor concentración de PST se presentó en el momento del nacimiento de los terneros y permaneció constante hasta el día 12 (Cuadro 1), lo que fue debido al consumo oportuno por los terneros y a la alta calidad del calostro, como lo indican los valores de FA que aparecen en el Cuadro 2. Estos resultados confirman nuevamente la relación existente entre la concentración de proteína total y los niveles de Igs en el calostro. Pallasz (1996) encontró valores de PST en fetos de bovinos de 1.9 g/dl, lo que sugiere un incremento de éstas en el suero de los terneros recién nacidos inmediatamente después del consumo de calostro.

En este estudio los menores valores de PST se observaron a los 30 días de edad de los terneros ($P < 0.05$). Cseh et al. (2000) encontraron que la concentración de este tipo de proteína en terneros tiene valores bajos al nacimiento y aumentan rápidamente después

del consumo de calostro, alcanzando los valores más altos a las 24 h.

En los tiempos considerados en este estudio se observaron promedios de PST mayores que 4.5 g/l, lo que indica que los terneros adquirieron inmunidad pasiva por el consumo del calostro. En terneros se considera que la transferencia de este tipo de inmunidad ocurre cuando en el primer día de vida se presenta una concentración de proteínas en suero mayor que 4.5 g/dl (Perinno et al., 1995).

Sáez et al. (2000) encontraron que la determinación de la concentración de proteínas totales por refractometría es un método válido y más sencillo y económico que la determinación de la gamma-glutamyltransferasa (GGT) para medir la transferencia de inmunidad pasiva. Por otra parte, Cseh et al. (2000) encontraron una correlación elevada entre GGT y PST ($r = 0.83$, $P < 0.0001$). No obstante, Gungor et al. (2004) consideran que la determinación por refractometría de la PST puede ser engañosa, ya que otras sustancias del plasma tales como glucosa, urea y creatinina pueden alterar los índices refractivos. Lo anterior no parece ser lógico,

Cuadro 1. Concentración de proteínas totales séricas (g/dl) en terneros a diferentes edades después del nacimiento.

Edad (días)	Terneros (n)	Promedio	±D.E.	E.S.	Valores mínimos	Valores máximos
0	14	6.9 ^{a*}	1.32	0.3544	4.0	8.6
4	12	6.6a	0.82	0.2376	5.1	8.0
12	12	6.8a	1.01	0.2921	5.4	8.6
30	12	5.8b	0.60	0.1749	5.0	7.2

* Valores en una misma columna seguidos por letras iguales, no difieren en forma estadística ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan.

Cuadro 2. Actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (U/L) en terneros, en diferentes edades después del nacimiento.

Días	Terneros (n)	Promedio	±D.E.	E.S.	Valores mínimos	Valores máximos
0	14	1326.43b	659.28	176.202	258	2316
4	12	734.83a	225.17	64.0	441	1135
12	12	708.33a	391.11	112.9	135	1313
30	12	598.90a	217.70	65.66	301	1048

* Valores en una misma columna seguidos por letras iguales, no difieren en forma estadística ($P < 0.05$), según la prueba de Duncan.

ya que estas sustancias no presentan altos pesos moleculares específicos capaces de distorsionar la densidad específica. Los terneros deshidratados, por su parte, presentan altas concentraciones de PST, como reflejo de la pérdida de volumen hídrico en el tejido sanguíneo (Kaneko, 1997), observación que es válida y está relacionada con cuadros clínicos y no debe ser considerado como una generalidad de estados fisiológicos.

La mayor actividad enzimática de la FA ($P < 0.05$) ocurrió durante el primer día de vida de los terneros (Cuadro 2). A partir de este día la actividad fue descendiendo hasta un valor de 598.9 g/dl en el día 30. Maden et al. (2004) encontraron que la actividad enzimática de la FA en corderos decreció en los días 3 y 7, a partir del valor máximo que se alcanzó en el primer día. Sáez et al. (2000) igualmente encontraron que la actividad sérica de la FA en terneros incrementa en el primer día de vida, después de la toma inicial de calostro, por tanto, la presencia de FA sugiere el consumo de este alimento. Healy et al. (1975) consideran que la FA proviene principalmente del tracto intestinal, por el contrario, Saez et al. (2000) afirman que los valores altos de la FA en el día del nacimiento tienen su origen en el calostro ya que de acuerdo con la metodología utilizada en su trabajo, el grupo de corderos que no recibió calostro presentó niveles significativamente más bajos a las 24 horas. Maden et al. (2004) utilizando un modelo lineal múltiple encontraron una relación negativa entre la concentración de IgG y la actividad enzimática de la FA en suero. Estos autores mencionan el hecho que los resultados de la actividad de la FA no están estrictamente correlacionados con la concentración de la IgG en el suero ni en el calostro y como consecuencia, el marcador bioquímico presenta limitaciones para ser considerado como un indicador del estado de la absorción de IgGs en los animales experimentales, lo que supone un bajo valor para ser usado en el diagnóstico y en detección de fallas en la PTI. Por otra parte, Zarrilli et al. (2003) encontraron correlación baja entre la IgG y la actividad enzimática de la FA ($r = 0.44$). No obstante las observaciones anteriores, Kaneko (1997) afirma que la FA presenta

buenas posibilidades de uso, principalmente porque sus altos niveles permiten observar los cambios en actividad originados en el epitelio intestinal, especialmente en la absorción de nutrientes y globulinas.

El ternero neonato en las primeras horas de vida sufre severos cambios fisiológicos en los cuales se involucran diferentes tejidos. Estos cambios posiblemente son responsables de los aumentos séricos de la FA, debido a la multiubicuidad de la enzima, sin embargo, esta condición aún no ha sido confirmada.

En el presente estudio no se encontró relación de asociación entre la actividad enzimática en suero de la FA y las PST ($r = 0.09$), por tanto, se sugiere realizar mediciones de ambos indicadores ya que cada uno de ellos, en forma aislada o en conjunto, indirectamente ayuda a determinar el grado de transferencia de inmunidad pasiva asociado con el consumo de calostro en las primeras horas de vida del ternero.

Conclusiones

A partir de los resultados del presente estudio es posible concluir lo siguiente:

- La determinación de sólidos totales en calostro permite inferir el valor de la proteína total del mismo, ya que existe una alta correlación entre los dos compuestos ($r = 0.695$, $P < 0.05$).
- Las PST presentaron altas concentraciones durante el período experimental, lo que permite concluir que el calostro consumido por los terneros era de alta calidad.
- La actividad enzimática de FA disminuyó a través del tiempo experimental, no obstante, en este estudio no es posible asegurar que esta enzima es de utilidad como indicador único para determinar fallas en la transferencia de inmunidad en terneros.

Referencias

- Aricama, H. J.; Bedoya R.; García, A. del P.; Heredia. C.; Maldonado A. M.; Peláez C.; y Ceballos A. 2004. Competencia inmunológica en la primera semana de vida en terneros mantenidos bajo dos sistemas de producción de leche. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 17 (2):167-174.

- Çamkerten, I. 1998. The importance of serum immunoglobulin concentrations in healthy and diarrheic calves. Konya, Turkiye. Selcuk University. The Inst. Med. Sci.
- Cseh, S.; Soler, J.; Lloveras, M.; y Peralta, M. 2000. Empleo de la gama-Glutamil-Transferasa para determinar el grado de ingestión de calostro en terneros. (Disponible en: <http://www.exopol.com/general/circulares/159.html>) 07-15-07.
- Gungor, O.; Bastan A.; y Erbil, M. K. 2004. The usefulness of the γ Gamma-glutamyl-transferase activity and total proteinemia in serum for detection of the failure of immune passive transfer in neonatal calves. *Revue Méd. Vét.* 155 (1):27-30.
- Healy, P. J. 1975. Isoenzymes of alkaline phosphatase in serum of newly born lambs. *Res. Vet. Sci.* 19:127-130.
- Kaneko, J. J. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals. 5ed. San Diego, CA. Academic Press.
- Lombardi, P.; Avallone, L.; Pagnini, U.; D'angelo, D.; y Bogin, E. 2001. Evaluation of buffalo colostrum quality by estimation of enzyme activity levels. *J. Food Prod.* 64, (8):1265-1267.
- Maden, M.; Birdane, F. M.; Altunok V.; y Dere, S. 2004. Serum and colostrum/milk alkaline phosphatase activities in the determination of passive transfer status in healthy lambs. *Rev. Méd. Vét.* 155(11):565-569.
- Maden M.; Altunok V.; Birdane F. M.; Aslan; V.; y Nizamlioglu M. 2003. Blood and colostrum/milk serum γ -Glutamyltransferase activity as a predictor of passive transfer status in lambs. *J. Vet. Med. B.* 50:128-131.
- Palasz A. T. 1996. Cultivo de embriones bovinos: recientes avances en el desarrollo de sistemas de cultivos definidos. En: II° Simposio Internacional de Reproducción Animal. Instituto de Reproducción Animal, Córdoba. Argentina. p. 185-194.
- Parish, S. M.; Tyler J. W.; Besser T. E.; Gay C. C.; y Krtytenberg D. 1997. Prediction of serum IgG1 concentration in Holstein calves using serum gamma glutamyltransferase activity. *J Vet. Int. Med.* 11:344-347.
- Perinno L. J; Wittum T.E.; y Ross G. S. 1995. Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. *Am. J. Vet. Res.* 56 (9): 1144-1148.
- Quigley, J. 1998. Colostrum Feeding. A primer on colostrum immunoglobulins. (Disponible en: <http://www.americanprotein.com/calf/calfnotes/APCCNO3.htm>) 09-01-01).
- Sáez, G. T. 2002. Patología y manejo del cordero recién nacido. En: Congreso de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria. ISBN 84-7719-810-1. Universidad de León. p. 63-65.
- Sáez, T.; Ramos J.J. y Fernández, A. 2000. La actividad enzimática en suero de corderos durante sus primeros días de vida y su relación con la toma de calostro. *Méd. Vét.* 17(2):32-37.
- SPSS, Inc. 2004. SPSS 16.0 para Windows. Chigago, Illinois.
- Tessman, R. K.; Tyler, J. W.; Parish, S. M.; Johnson, D. L.; y Gant, G. R. 1997. Use of age and serum γ -Glutamyltransferase activity to assess passive transfer status in lambs. *Am. J. Vet. Med. Ass.* 211:1163-1164.
- Wattiaux, A. M. 2000. Importancia de alimentar con calostro. p. 109-112. (Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_amamantamiento/03-importancia_alimentar_con_calostro.html) 07-18-07).
- Weaver, D. M.; Tyler, J. W.; Marion, R. S.; Wallace, L. M.; Nagy, J. K.; y Holle, J. M. 2000. Evaluation of assays for determination of passive transfer status in neonatal llamas and alpacas. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 216:559-563.
- Zarrilli, A.; Micera E.; Lacarpia N.; Lombardi P.; Pero M. E.; Pelagalli A.; D'angelo D.; Mattia M.; y Avallone, L. 2003. Evaluation of ewe colostrum quality by estimation of enzyme activity levels. *Rev. Méd. Vét.* 154(8-9):521-523.