

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA PASTEURIZACIÓN LENTA DE CALOSTROS DE  
PRIMER ORDEÑO DE VACAS HOLSTEIN SOBRE LOS NIVELES  
DE PROTEÍNA TOTAL Y SÓLIDOS TOTALES DETERMINADOS  
POR MEDIO DE LA REFRACTOMETRÍA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA

**BLANCA GODÍNEZ CONTRERAS**

Asesor: DCV. Mario Medina Cruz

México D.F., 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

Principalmente a Dios por darme la vida, la fe y el valor para continuar hacia adelante cada día. (*Josué 1:9*)

A mis padres: **Alfonso Godínez Valencia** y **María Contreras Martínez** por su cariño, apoyo, confianza y sobre todo por darme la mejor de las herencias. La educación.

A mis hermanos y toda mi familia, por el gran apoyo que me han brindado, pero sobre todo, por creer en mi.

A mis amigos y compañeros, por su solidaridad y compañía incondicional durante todo este tiempo.

## **AGRADECIMIENTOS:**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, ya que por medio del proyecto de investigación DGAPA-PAPIIT no. IN218701 fue posible la realización de este trabajo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por la formación profesional recibida.

Un especial agradecimiento al DCV. Mario Medina Cruz por su asesoría y por todas las oportunidades que me ha brindado.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	3
MATERIAL Y MÉTODOS .....	11
RESULTADOS .....	15
DISCUSIÓN .....	17
REFERENCIAS .....	22
CUADROS .....	26
FIGURAS.....	30

## RESUMEN

GODÍNEZ CONTRERAS BLANCA. Efecto de la pasteurización lenta de calostros de primer ordeño de vacas holstein sobre los niveles de proteína total y sólidos totales determinados por medio de la refractometría. (Bajo la dirección del: Dr. Mario Medina Cruz)

El efecto de la pasteurización lenta sobre los niveles de proteína total y sólidos totales en lotes de calostro de primer ordeño de vacas Holstein, fueron medidos por medio de la refractometría. Se formaron 12 lotes de calostro de primer ordeño con alto contenido de inmunoglobulinas utilizando el calostrómetro, cada lote fue sometido al proceso de la pasteurización lenta. Se obtuvo el suero de cada muestra de calostro prepasteurizado y pasteurizado, se analizó el contenido de proteína total y de sólidos totales con un refractómetro. Se estimó el contenido de inmunoglobulinas totales a partir de la proteína total en el suero del calostro. Hubo una reducción del 21.42% en la proteína total y de 18.76% en el contenido de sólidos totales por efecto de la pasteurización lenta del calostro con una significancia de  $P < 0.01$ .

La refractometría como metodología para determinar los niveles de proteína total en calostro prepasteurizado y pasteurizado, tuvo una alta precisión y repetibilidad al encontrar que sus coeficientes de variación fueron menores de 10%. Utilizando la refractometría para seleccionar el calostro, las lecturas tendrán que ser mayores a 8g/100ml de proteína total. Únicamente los lotes de calostro 4, 8, 9 y 10

prepasteurizados, tuvieron mas de 8g/100ml de proteína total. En el calostro pasteurizado, todos los lotes tuvieron menos de 8g/100ml de proteína total. Por esta razón es necesario alimentar con 4 litros de calostro pasteurizado dentro de las primeras seis horas de vida, seguido de dos litros más antes de las doce horas de vida.

## INTRODUCCIÓN

**Importancia del calostro:** El calostro de los bovinos es la primer secreción que produce la glándula mamaria después del parto, entre sus componentes se encuentra una mayor cantidad de sólidos totales, proteínas e inmunoglobulinas, además de carbohidratos, grasas, vitaminas, minerales y una variedad de micronutrientes, sin los cuales la becerro no podría sobrevivir. <sup>(1)</sup> Las inmunoglobulinas son proteínas del tipo gammaglobulinas, las cuales tienen la función de identificar y eliminar los agentes patógenos en los animales. <sup>(2)</sup>

Los becerros al nacer son agammaglobulinémicos por tener una placentación de tipo epitelio corial, donde el epitelio fetal está en contacto directo con el epitelio uterino durante la gestación, lo cual impide que las inmunoglobulinas de la sangre de la madre pasen al torrente sanguíneo del becerro durante esta etapa, esto hace que los neonatos sean completamente dependientes de los anticuerpos que reciben por medio del calostro. <sup>(2)</sup> El principal objetivo de asegurar que las becerros se alimenten con calostro, es el de transferir la inmunidad pasiva por medio de las inmunoglobulinas, las cuales le proporcionarán una mayor resistencia a las enfermedades, mientras madura su propio sistema inmune. <sup>(3)</sup>

El calostro de las vacas lecheras contiene principalmente 3 tipos de inmunoglobulinas: IgG, IgM e IgA, siendo la IgG la más abundante ya que se encuentra en una proporción de cerca del 85% de las inmunoglobulinas en el calostro. <sup>(4)</sup> Las inmunoglobulinas ingeridas por la becerro llegan a las células epiteliales del intestino delgado, donde se unen al receptor FcRn para



incorporarse a las células por medio de pinocitosis, pasan hacia los conductos linfáticos y llegan a la circulación sanguínea a través del ducto torácico. <sup>(2)</sup> Este mecanismo de transferencia comienza a declinar aproximadamente de las 12 a las 23 horas posparto y cesa en promedio después de las 24 horas de vida. <sup>(5)</sup> La alimentación con calostro tiende a apresurar este cierre, mientras que el retraso de la alimentación alarga un poco este proceso. <sup>(2)</sup>

Existen diversos factores que influyen tanto el volumen como la concentración de inmunoglobulinas en el calostro como son, la edad de la vaca, el número de partos, exposición a agentes patógenos, duración del periodo seco, parto prematuro, goteo del calostro antes del parto y tipo de alimentación durante el periodo seco. <sup>(5, 6)</sup> Las inmunoglobulinas desempeñan un papel fundamental en el establecimiento de la inmunidad pasiva en la becerria recién nacida, por lo tanto, para asegurar una adecuada transferencia de la inmunidad, la becerria debe alcanzar una concentración mínima de 5.5 g/dl de proteína sérica total, es decir, una concentración de >1000 mg/dl de IgG en las 24 a 48 horas posteriores a su nacimiento. <sup>(3, 7)</sup>

El calostro fresco, así como la leche pueden ser una vía de transmisión de agentes patógenos procedentes de la vaca o contaminantes ambientales que pueden causar enfermedades severas o infecciones subclínicas, ya que éstos agentes es común encontrarlos en la glándula mamaria, aunado a esto, las malas prácticas de higiene al momento del ordeño hacen que la leche y el calostro, sean una potencial fuente de enfermedades para las becerrias.

Actualmente la leche que es destinada para consumo humano, es un producto inocuo debido a que se ha hecho obligatoria su pasteurización. <sup>(8)</sup> El objetivo

principal de pasteurizar el calostro es el de prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas a las becerras que serán los futuros reemplazos de las granjas.

Los agentes patógenos más comúnmente encontrados en el calostro incluyen:

*Mycobacterium avium* subesp. *Paratuberculosis*, *Salmonella spp.*, *Mycoplasma spp*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp*, *Mycobacterium Bovis* y *E. coli*,

(9, 10, 11, 12, 13) La contaminación bacteriana del calostro tiene un impacto negativo en la adquisición de la inmunidad pasiva, cuando excede los estándares industriales, los cuales permiten 100,000 UFC/ml en el conteo total y 10,000 UFC/ml para enterobacterias y coliformes. Sin embargo en muchos establos, aun cuando se tienen prácticas adecuadas de higiene, llegan a exceder éstos límites, siendo sus conteos mayores de 1,000,000 de UFC/m en el calostro. (3, 14)

**Pasteurización de calostro:** Godden y Stabel, (9, 10) sugirieron que la pasteurización lenta del calostro, la cual consiste en elevar la temperatura a 63 °C durante 30 minutos, es eficaz en la destrucción de bacterias ambientales y de algunas patógenas, entre las cuales están *Mycoplasma Bovis*, *Mycoplasma californicum* y *Mycoplasma canadense*. Sin embargo, el proceso de la pasteurización implica una destrucción parcial de las proteínas contenidas en el calostro. Godden *et al* (9) trabajando con lotes de 97 litros y de 57 litros de calostros pasteurizados a 63 °C por 30 minutos, reportaron una reducción en los contenidos de inmunoglobulinas G del orden del 58.6% y del 23.6% respectivamente. En otro estudio realizado por Meylan *et al*, (12) en el que simularon bajo condiciones experimentales el método de pasteurización a 63 °C durante 30 minutos encontraron una disminución del 12.3% en el contenido de

inmunoglobulinas G. La pasteurización lenta del calostro además de tener efectos adversos sobre la preservación de inmunoglobulinas, puede modificar también otras características como la viscosidad y la palatabilidad. Mc Martin *et al*, pasteurizando muestras de calostro a diferentes temperaturas, encontró que la pasteurización a 60°C durante una hora no modifica de manera significativa la viscosidad del calostro. <sup>(13)</sup>

Al pasteurizar los calostros, lo más importante es controlar o minimizar la destrucción de inmunoglobulinas durante el proceso ya que la masa total de inmunoglobulinas en el calostro, es el factor más importante en la determinación de la Falla en la Transferencia de la Inmunidad (FTI) de la vaca a la becerria. <sup>(15)</sup> Si bien la FTI es multifactorial, está perfectamente documentada la relación que existe entre la susceptibilidad a enfermedades, así como la mortalidad de las becerrias, con una baja concentración de inmunoglobulinas séricas adquiridas por el calostro. <sup>(15)</sup> En un estudio realizado por Tyler *et al*, observaron un 39% de mortalidad en una población de 3,479 becerrias durante las primeras 16 semanas de vida a consecuencia de una transferencia pasiva inadecuada. <sup>(16)</sup>

**Concentración de inmunoglobulinas en calostro:** existen pocos métodos prácticos para cuantificar la concentración de inmunoglobulinas en el calostro, tales como la calostrometría, <sup>(17, 18)</sup> el volumen del calostro de primer ordeño <sup>(19)</sup> y la refractometría <sup>(20)</sup>

**Calostrometría:** consiste en medir la gravedad específica del calostro la que a su vez guarda una correlación con el contenido de sólidos totales ( $r^2=.763$ ) de proteína total ( $r^2= .900$ ) y de gammaglobulinas totales ( $r^2=0.699$ ) <sup>(21)</sup>

En un estudio realizado por Mechor *et al*, encontraron una correlación de la gravedad específica del calostro con los sólidos totales ( $r^2=.23$ ) proteína total de ( $r^2= .87$ ) y con el contenido de inmunoglobulinas G ( $r^2= .87$ )<sup>(18)</sup>

De acuerdo con Weaver *et al*, esta prueba se puede utilizar como un predictor del contenido de inmunoglobulinas en el calostro, aunque en estudios posteriores encontraron que la relación entre la gravedad específica del calostro y la concentración de inmunoglobulinas era más baja de lo originalmente propuesto, siendo de  $r^2=0.469$ <sup>(22)</sup>

Se ha observado también que los resultados de la calostrometría pueden variar por el efecto de la temperatura del calostro, ya que una muestra de calostro puede ser considerada de alta calidad si es medida a una temperatura de 5°C, pero será considerada de baja calidad si es medida en un rango de 35 a 40°C.<sup>(17, 23)</sup>

**Refractometría:** El refractómetro es un instrumento que mide el grado de refracción que sufre un haz de luz al pasar por el cristal y se emplea para la evaluación de proteína sérica en becerras. En el suero y en el calostro, a mayor contenido de proteína, mayor es la cantidad de luz que será refractada de su trayectoria original.<sup>(24)</sup>

La refractometría fue empleada por primera vez en muestras de calostro ovino por Harker<sup>(25)</sup> y posteriormente en muestras de calostro bovino por Molla, fue propuesta en ambos trabajos como un método simple, rápido y económico para determinar las inmunoglobulinas totales en el suero calostrado basándose en que el 69% de la proteína total en el suero calostrado está constituido por inmunoglobulinas.<sup>(20)</sup>

En ambos estudios se encontró una alta correlación entre la refractometría y otras pruebas utilizadas para la determinación de inmunoglobulinas en el calostro. Harker, comparó la refractometría con la prueba de Turbidez de Sulfato de Zinc y con el análisis micro-Kjeldahl obteniendo una correlación de  $r=0.79$  y  $r=0.98$  con ambas pruebas respectivamente y con una significancia de  $P<0.001$  <sup>(25)</sup> Posteriormente Molla <sup>(20)</sup> comparó esta técnica con la inmunodifusión radial y con la electroforesis para la determinación de inmunoglobulinas, encontrando un coeficiente de correlación con la primera de  $0.89$  ( $P<0.001$ ) y con la segunda de  $0.98$  ( $P<0.001$ ). Por estas razones, los autores proponen el uso del refractómetro como un método confiable y que puede sustituir otras pruebas para la determinación de inmunoglobulinas en el calostro y de esta manera poder seleccionar calostros de alta calidad antes de que sea administrado a las beceras.

En cualquier estudio de investigación debe asegurarse la validez y la fiabilidad de la prueba a utilizar, sobre todo cuando se desarrolla una nueva técnica o simplemente para el control de la calidad de la misma. Tal es el caso de la refractometría como técnica para determinar los niveles de proteína total y por ende, los niveles de inmunoglobulinas en el suero del calostro. Se entiende por precisión o fiabilidad de la prueba a la dispersión obtenida de los resultados de una muestra procesada varias veces, cuanta menor variabilidad se obtenga al repetir una medición, más fiable será el procedimiento. La evaluación de la repetibilidad es útil para determinar si una prueba da los mismos resultados cuando se aplica a un mismo objeto de estudio en mas de una ocasión, lo cual permite disminuir el riesgo de tener variaciones debidas al instrumento, al objeto en estudio, al tiempo entre

cada medición, entre otros factores. Para su evaluación es necesario analizar la variación intraensayo, interensayo y la variación total de la prueba. <sup>(26, 27)</sup>

**Volumen del calostro de primer ordeño:** En un estudio en el que se analizaron algunos factores que tienen influencia en la concentración de inmunoglobulinas en el calostro de primer ordeño de vacas Holstein, se encontró que existe una relación entre la concentración de inmunoglobulinas con el volumen producido, el número de lactación, el periodo seco y el intervalo entre partos. Es de mayor importancia señalar que se encontró una correlación negativa entre la concentración de inmunoglobulinas y el volumen de calostro de primer ordeño ( $r = -0.29$ ) cuando este es menor de 8.5 kg. <sup>(19)</sup>

Así mismo el volumen de calostro de primer ordeño está relacionado con el número de lactación, siendo los calostros de más de 2 lactaciones los que cuentan con un mayor contenido de inmunoglobulinas. Esto quiere decir que la selección de calostros de primer ordeño, con un volumen inferior a 8.5 kg y de tres lactaciones o más, incrementa la posibilidad de estar administrando calostros con alta concentración de inmunoglobulinas a las becerras. <sup>(19, 28)</sup>

## **JUSTIFICACIÓN:**

La pasteurización del calostro es una práctica reciente que aun no es de uso común debido a la pérdida de proteínas e inmunoglobulinas que sufre durante el proceso, lo cual hace notar que faltan trabajos de investigación sobre el tema. La pasteurización sin embargo tiene beneficios en el campo de la bioseguridad consistentes en la reducción de contenido de microorganismos. De manera similar la prueba de refractometría para estimar de forma indirecta el contenido de inmunoglobulinas en el calostro, ha sido poco estudiada, ya que a la fecha, existen únicamente dos artículos publicados en revistas científicas que tratan el tema.

## **HIPÓTESIS:**

Por medio de la pasteurización lenta del calostro de primer ordeño a 63 °C por 30 minutos, es posible preservar una alta proporción de su contenido de proteínas totales.

Existe una correlación entre las pruebas de calostrometría y de refractometría en calostros de primer ordeño prepasteurizados.

## **OBJETIVOS:**

Conocer los niveles de proteína total y de sólidos totales en calostros de primer ordeño, antes y después de su pasteurización a 63° C por 30 minutos, por medio de la prueba de refractometría, para analizar el grado de preservación de los mismos.

Conocer el grado de asociación entre los resultados de la prueba de calostrometría y de refractometría en calostros de primer ordeño prepasteurizados, por medio del análisis de correlación, así como su grado de significancia.



## MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de calostro a ser utilizadas en este estudio, fueron colectadas en un establo lechero de 1,250 vacas Holstein en el estado de Querétaro, México. Se obtuvieron los calostros procedentes de partos ocurridos en la misma mañana y como límite la noche anterior haciendo en forma simultánea una filtración de los mismos. Al obtener el calostro de primer ordeño, se sometió a una serie de pruebas organolépticas como lo son el color, olor, consistencia así como ausencia de mastitis clínica, desechando los calostros cuando no cumplían con estos requisitos. Se realizó la prueba de calostrometría la cual consiste en determinar la gravedad específica (GE) del calostro, y estimar en forma indirecta el total de inmunoglobulinas, mediante la siguiente correlación estadística ( $r^2=0.69$ )<sup>(17, 22)</sup> El calostrómetro determina la gravedad específica en un rango que va desde 1.027 hasta 1.076 equivalentes a una concentración que va de 1.42 hasta 126.62 g de inmunoglobulinas /L de calostro, permitiendo su clasificación en tres rangos que son<sup>(21, 28)</sup>: pobre calidad (color rojo) GE de 1.027 a 1.035 equivalente hasta 21.80 g/L, mediana calidad (color amarillo) GE de 1.036 hasta 1.046 equivalente a 24.35 a 49.82 g/L y excelente calidad (color verde) GE de 1.047 hasta 1.076 equivalente a 52.36 a 126.62 g de inmunoglobulinas /L de calostro. Con base a esta clasificación, fueron seleccionados 12 lotes de calostro de alta calidad es decir con alto contenido de inmunoglobulinas (>50g/L).

Se tomaron las muestras de calostro fresco (antes de su pasteurización) en forma aséptica, para lo cual se esterilizó por hervor un instrumento de acero inoxidable y se

tomaron 125 ml del producto a partir de la olla del pasteurizador y vertiéndolo dentro de bolsas de plástico estériles.

La pasteurización se realizó mediante el método lento que consiste en elevar la temperatura a 63 °C por 30 minutos y una posterior reducción de la temperatura a 4 °C. Al alcanzar esta temperatura se tomó la muestra de calostro pasteurizado de la misma forma en que se realizó para las muestras prepasteurizadas.

Cada bolsa se identificó con la fecha, el número de lote y si se trataba de calostro prepasteurizado o pasteurizado. Las muestras se colocaron de inmediato en un congelador en donde se almacenaron a -20 °C.

Las muestras se trasladaron a la ciudad de México, posteriormente se analizaron en el laboratorio del Departamento de Reproducción de la FMVZ, UNAM empleando la técnica de refractometría, la cual antes de emplearse como metodología para determinar los niveles de proteína total y sólidos totales en el calostro, fue sometida a un análisis de precisión y repetibilidad. Para probar la precisión y la repetibilidad de la prueba de refractometría, en la determinación de proteína total y sólidos totales del calostro se tomaron seis alícuotas del primer lote del calostro prepasteurizado y seis del primer lote del calostro pasteurizado, se repitió la técnica en cada una de estas muestras y se realizaron los cálculos para obtener el coeficiente de variación intraensayo, interensayo y coeficiente de variación total. <sup>(26, 27)</sup>

En los ensayos con el calostro prepasteurizado se obtuvo un coeficiente de variación interensayo del 2%, y el coeficiente de variación intraensayo fue de 6%. Para el calostro pasteurizado, se obtuvo un coeficiente de variación interensayo del 1% y el coeficiente de variación intraensayo fue del 3%. La variación total fue de 3% y en todos los casos el coeficiente de variación fue menor al 10%.

Se empleó como criterio de calidad óptimo, el alcanzar un CV menor que 5% para el análisis interensayo, y entre 15 y 20 % para los análisis intraensayo y total. Con base en lo anteriormente descrito, la técnica de refractometría se valoró con muy buena precisión y repetibilidad, por lo tanto se procedió a realizarla con cada lote de calostro.

Cada lote de calostro trabajado, fue descongelado en aproximadamente de 5 a 10 minutos mediante inmersión de la bolsa conteniendo la muestra de calostro en agua a <50 °C. <sup>(29)</sup> Se tomaron muestras por duplicado de cada lote de calostro en un volumen de 5ml, a los cuales se les adicionó 0.1 ml de una solución de renina<sup>1</sup> al 10% con el objeto de coagular la caseína del calostro dejándolos incubar durante una hora en baño maría a 37 °C. Una vez formado el coágulo de caseína, se centrifugó el tubo a 3000 rpm durante 20 minutos a una temperatura de 37°C. El volumen de suero del calostro obtenido se diluyó en un volumen equivalente de agua destilada.

Posteriormente se tomó una gota del suero diluido para hacer la lectura del índice refractométrico en el prisma del refractómetro<sup>2</sup>. Se interpretó el índice refractométrico por medio de las tablas que provee el fabricante del instrumento para obtener su equivalencia en proteína total dada en g/100ml, así como el porcentaje de sólidos totales.

El resto del suero del calostro fue congelado a -20°C para determinar posteriormente su contenido de inmunoglobulinas, con la técnica de inmunodifusión radial doble.

---

<sup>1</sup> Naturen 10. DYM Ingredientes Alimenticios, Del. Gustavo A. Madero, México DF.

<sup>2</sup> Leica TS 400, Leica microsystems Inc, PO Box 123, Buffalo, NY 14240 USA

En el laboratorio de Serología de la FMVZ, se realizó la técnica de precipitación de las gammaglobulinas a partir del suero de bovino y de conejo, con el fin de preparar una prueba piloto de inmunodifusión radial doble para probar la reacción antígeno anticuerpo con anti-IgG de conejo e inmunoglobulinas de bovino. Se preparó el medio con agar noble y se llenaron las fosas con anti-IgG de conejo y con inmunoglobulinas de conejo. Se realizó el mismo procedimiento para la reacción antígeno anticuerpo con anti-IgG de conejo e inmunoglobulinas de bovino. Las lecturas se realizaron a las 24 y 48 horas, observándose una fuerte reacción positiva para la anti-IgG de conejo con las inmunoglobulinas de conejo en las dos lecturas, sin embargo en la reacción de la anti-IgG de conejo contra las inmunoglobulinas de bovino, apenas fue visible, dado que no se logró conseguir anti-IgG de Bovino, no se logró concluir con esta fase del experimento.

Los datos obtenidos a partir de la lectura en el refractómetro, fueron analizados con el programa estadístico SAS <sup>(30)</sup> empleando la prueba de T pareada para analizar el efecto de la pasteurización sobre los niveles de proteína total y de los sólidos totales, se realizó un análisis de correlación y de regresión lineal para las pruebas de calostrometría y refractometría en calostros frescos.

## RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran el índice refractométrico de las muestras de calostro prepasteurizadas y pasteurizadas así como sus equivalencias a proteína total y sólidos totales obtenidas por medio de la lectura en el refractómetro. Empleando la prueba de Kolmogorov-Smirnov para la distribución de los datos, éstos describieron una distribución normal para las variables proteína total y sólidos totales.

En la figura 1 y 2 se muestra la disminución que sufre tanto la proteína total, como los sólidos totales del calostro, a causa de la pasteurización a 63°C durante 30 minutos. En el Cuadro 2, se observa el efecto de la pasteurización lenta sobre la proteína total y sólidos totales empleando la prueba de T pareada para las muestras prepasteurizadas y pasteurizadas, observando una diferencia estadística altamente significativa ( $P < 0.01$ ). También se muestra en la figura 3 y 4 dicha reducción para las mismas variables.

La media estimada para la proteína total en las muestras prepasteurizadas fue de 7.33 con un intervalo de confianza para  $\mu$  de 6.61 - 8.06 con un 95% de confianza. La media estimada para la proteína total en las muestras pasteurizadas, fue de 5.76 con un intervalo de confianza para  $\mu$  de 5.23 - 6.37 con un 95% de confianza que se muestra en el Cuadro 3.

La media estimada para sólidos totales en las muestras prepasteurizadas fue de 8.69 con un intervalo de confianza para  $\mu$  de 7.94 - 9.44 con un 95% de confianza. Para las muestras pasteurizadas la media estimada fue de 7.06 con un intervalo de

confianza para  $\mu$  de 6.51 - 7.70 con un 95% de confianza que se muestra en el Cuadro 4.

Comparando los resultados anteriormente descritos, podemos afirmar que hubo una reducción del 21.42% en proteína total y del 18.76% en sólidos totales.

El análisis de correlación y de regresión lineal muestran que la correlación entre las pruebas de calostrometría y refractometría en calostros prepasteurizados fue de  $r^2=0.21$  ( $P>0.05$ ).

## DISCUSIÓN

La pasteurización lenta del calostro a 63 °C durante 30 minutos, es eficaz en la destrucción de bacterias ambientales y de algunas patógenas, entre las cuales están *Mycoplasma Bovis*, *Mycoplasma californicum* y *Mycoplasma canadense*.<sup>(31,</sup>

<sup>9, 10)</sup> McMartin *et al* demostraron que no hubo crecimiento de *E. coli*, *Listeria*, *M. bovis* y *Salmonella* aun cuando la pasteurización del calostro fue a 60°C durante una hora.

(13)

Sin embargo también ha sido ampliamente demostrado que la pasteurización del calostro implica una reducción de las inmunoglobulinas contenidas en el, Godden *et al*, encontraron una reducción de las IgG de 58.7% en lotes de 95 litros de calostro pasteurizado, mientras que en lotes de 57 litros la reducción total de IgG fue de 23.6%.<sup>(9)</sup>

Por otra parte Meylan *et al*, al simular la pasteurización del calostro bajo condiciones experimentales, utilizando alícuotas de 5 ml, encontraron una reducción de la IgG de 12.3% utilizando la pasteurización a 63°C durante 30 minutos.<sup>(12)</sup>

Mc Martin *et al* pasteurizaron lotes de calostro a diferentes temperaturas, desde 60°C hasta 63°C. Observaron que con la pasteurización a 60°C durante una hora, existe muy poca reducción en los niveles de inmunoglobulinas totales sin embargo a temperaturas mayores observaron mayores pérdidas de inmunoglobulinas, llegando a ser hasta de 40% en la pasteurización a 63°C durante 30 minutos.<sup>(13)</sup>

Según Molla, podemos obtener la cantidad de inmunoglobulinas totales a partir de la proteína total que se encuentran en el suero del calostro, en base a que dos terceras partes de la proteína total que se encuentran en el suero del calostro, son

inmunoglobulinas, es decir que alrededor del 69% de la proteína total del suero de calostro, son inmunoglobulinas. <sup>(20)</sup> Esta generalización es muy útil para calcular el contenido de inmunoglobulinas en el suero del calostro cuando no se cuenta con algún método más preciso, ya que permite obtener una aproximación para la cuantificación de inmunoglobulinas totales. Para fines de esta tesis, se utilizó dicho porcentaje en la obtención del contenido total de inmunoglobulinas en el calostro prepasteurizado y pasteurizado con lo que podemos deducir que hubo una reducción de proteína total en el suero del calostro de 21.42% y una reducción de 20.92% en el contenido de inmunoglobulinas totales. En el análisis estadístico de los datos, se observa que dicha reducción es altamente significativa ( $P < 0.01$ ) en la cantidad de proteína total y sólidos totales en las muestras de calostro pasteurizado en comparación con las muestras de calostro prepasteurizado a consecuencia de la pasteurización a 63°C durante 30 minutos del calostro.

Los resultados de este estudio, muestran que hubo una reducción de las inmunoglobulinas en menor porcentaje que la observada por Godden y por Mc Martin, pero mayor que la observada por Meylan, lo cual está relacionado al volumen de calostro que es sometido a este procedimiento ya que, mayores volúmenes de calostro, requieren mas tiempo para alcanzar la temperatura requerida por el proceso de la pasteurización, llegando a ser de hasta tres horas todo el procedimiento, lo cual implica un mayor tiempo de exposición de las inmunoglobulinas a la temperatura. <sup>(9, 12, 13)</sup>

La media de los lotes pasteurizados en este trabajo fue de 20 litros con un mínimo de 9 litros y un máximo de 28 litros, lo cual puede explicar que la reducción en el contenido de inmunoglobulinas haya sido relativamente baja.



Sin embargo se deben tomar las medidas necesarias para que la reducción en el contenido de inmunoglobulinas del calostro pasteurizado, no sea un factor de FTI en las becerras.

Harker y Molla demostraron en sus estudios, que la refractometría como método para determinar los niveles de inmunoglobulinas en el calostro, era una prueba muy confiable debido a las altas correlaciones de sus resultados con otras pruebas como la inmunodifusión radial (0.89) y la electroforesis (0.98) <sup>(20, 25)</sup>

En esta tesis, la técnica de la refractometría como método para determinar los niveles de proteína total en el suero del calostro, resultó ser una prueba con alta precisión y repetibilidad al encontrar que sus coeficientes de variación fueron muy bajos (<10%)

Es en base a estos resultados que podemos afirmar que la refractometría puede implementarse como un método confiable en la determinación del contenido de inmunoglobulinas en el calostro, y de esta manera tener una mejor selección de calostro de alta calidad para su posterior almacenamiento.

La refractometría fue considerada por Molla como un método simple, rápido y económico, sin embargo se pudo observar que se necesita la infraestructura para poder realizar esta técnica, como lo es, laboratorio, centrífuga, refractómetro y personal capacitado. Lo cual, no es asequible a la mayoría de los establos lecheros de México, sin embargo, resulta un método bastante preciso para seleccionar los calostros con alto contenido de inmunoglobulinas antes de ser administrados a las becerras o bien para su conservación.

La principal ventaja de utilizar la refractometría en el calostro, es que no es necesario obtener suero de las becerras para determinar si hubo una falla en la transferencia

de la inmunidad, ya que es posible determinar si el calostro proporcionará una transferencia de la inmunidad adecuada, antes de que las becerras sean alimentadas con el mismo, y de esta manera garantizar que estarán protegidas contra las diversas enfermedades hasta que madure su propio sistema inmune.

Otra ventaja de la refractometría es con respecto a la calostrometría para la selección de calostro, se ha demostrado que el calostrómetro tiene muy baja sensibilidad, además de que las lecturas proporcionadas, estarán influenciadas por la temperatura a la que sea medido el calostro. Por tal motivo se debe realizar la medición del calostro a una temperatura de 22°C y así obtener una lectura confiable, de lo contrario nos proporcionará lecturas falsas. <sup>(17, 23)</sup>

La correlación entre calostrometría y refractometría ( $r^2 = 0.21$ ) no tuvo una significancia estadística ( $P > 0.05$ ) lo cual puede deberse a que en las lecturas proporcionadas por el refractómetro las variables son continuas a diferencia de las lecturas hechas en el calostrómetro donde las variables son discretas.

Si bien, el empleo de la refractometría para determinación de inmunoglobulinas en el calostro, aun no es una técnica altamente difundida como lo es la calostrometría, sin duda es una herramienta más que se puede emplear a la par de las que ya son conocidas, y de esta manera tener una mejor selección de calostro. Al utilizar la refractometría para determinar el contenido de inmunoglobulinas en el calostro, éste deberá contener como mínimo 8 gramos de proteína total en 100 ml, de esta manera podremos incrementar las posibilidades de sobre vivencia de las becerras durante en periodo de crianza. <sup>(20)</sup>

Utilizando estos criterios de selección, encontramos que en las lecturas dadas por el refractómetro, solamente los lotes de calostro 4, 8, 9 y 10 prepasteurizados, tuvieron

mas de mas de 8g/100ml de proteína total. En el caso del calostro pasteurizado, todos los lotes tuvieron menos de 8g/100ml de proteína total. Por esta razón es indispensable seguir las recomendaciones de alimentar con 4 litros de calostro pasteurizado a las becerras dentro de las primeras seis horas de vida, y dos litros más antes de las doce horas de vida, con alimentador oroesofágico. <sup>(6, 9)</sup>

## REFERENCIAS:

1. Gregory S. Kelly, ND. Bovine Colostrums: A Review of Clinical Uses. *Altern Med Rev.* 2003; 8(4):378-394
2. Tizard RI. *Inmunología Veterinaria*. Quinta Edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. 1998
3. Mc Guirk MS. Herd-Based Testing for Young Stock. *The AABP Proceedings.* 2005: 38; 146-148
4. Larson, B. L., H. L. Heary, Jr., and J. E. Devery. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 1980; 63:665–671.
5. Jaster HE. Evaluation of Quality, Quantity, and Timing of Colostrum Feeding on Immunoglobulin G1 Absorption in Jersey Calves. *J. Dairy Sci.* 2005; 88:296-302
6. Aphis USDA. Colostrum Feeding Veterinary Services Centers for Epidemiology and Animal Health December 2002
7. Bovine Alliance on Management and Nutrition. 1995. A guide to colostrum and colostrum management for dairy calves. American Feed Industry Association, Arlington, VA.
8. Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Leche Pasteurizada de Vaca. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias.
9. Godden SM, Smith S, Feirtag JM, Green LR, Wells SJ and 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

10. Stabel JR, Hurd S, Calvente L, Rosenbusch RF. Destruction of Mycobacterium paratuberculosis, Salmonella spp., and Mycoplasma spp. in Raw Milk by Commercial On-Farm High-Temperature, Short-Time Pasteurizer. *J. Dairy Sci.* 2004; 87: 2177-2183
11. [Streeter RN](#), [Hoffsis GF](#), [Bech-Nielsen S](#), [Shulaw WP](#), [Rings DM](#). Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from colostrum and milk of subclinically infected cows. [Am J Vet Res.](#) 1995; 56(10):1322-13324.
12. [Meylan M](#), [Rings DM](#), [Shulaw WP](#), [Kowalski JJ](#), [Bech-Nielsen S](#), [Hoffsis GF](#) Survival of Mycobacterium paratuberculosis and preservation of immunoglobulin G in bovine colostrum under experimental conditions simulating pasteurization. [Am J Vet Res.](#) 1996; 57(11):1580-1585.
13. Mc Martin S, Godden S, Feirtag J, Metzger L, Bey R, Goyal S. Effect of Pasteurization Temperature on Immunoglobulin G, Viscosity and Pathogen Viability in Bovine Colostrum. *The AABP Proceedings.* 2005: 38; 158
14. Poulsen KP, Hartmann FA, McGuirk SM. Bacteria in Colostrum: Impact on Calf Health. Abstract #52. *Proc 20th Ann ACVIM*; 2002, 773
15. Medina CM. *Medicina productiva en la crianza de becerras lecheras*, 1ª ed. México DF: Uteha-Limusa, 1994.
16. [Tyler JW](#), [Hancock DD](#), [Thorne JG](#), [Gay CC](#), [Gay JM](#). Partitioning the Mortality Risk Associated With Inadequate Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Dairy Calves. [J Vet Intern Med.](#) 1999; 13(4):335-337.
17. Quigley J. Using the colostrometer to measure colostrums quality. *Calf Note* #22. 1998. [URL:http://www.calfnotes.com](http://www.calfnotes.com)

18. Mechor GD, Gröhn T, Mc Dowell LR, Van Saun RJ. Specific Gravity of Bovine Colostrum Immunoglobulins as Affected by Temperature and Colostrum Components. J. Dairy Sci. 1992; 75: 3131-3135
19. Pritchett LC. Gay CC. Besser TE. Hancock DD. Management and Production Factors Influencing Immunoglobulin G1 Concentration in Colostrum from Holstein Cows. J. Dairy Sci. 1991; 74: 2336-2341
20. Molla A. Estimation of Bovine Colostral Immunoglobulins by Refractometry. Vet. Rec. 1980; 107: 35-36
21. Fleenor WA, Stott GH. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrums. J. Dairy Sci. 1980; 63: 973-977
22. Weaver DM. Tyler JW. Van Metre DC. Hostetler DE. Barrington GM. Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. J. Vet Intern Med. 2000; 14: 569-577
23. Mechor GD, Grohn YT, Van Saun RJ. Effect of Temperatura on Colostrometer Readings for Estimation of Immunoglobulins Concentration in Bovine Colostrum. J Dairy Sci. 1991; 74:3940-3943
24. Quigley J. Using the refractometer. [URL:http://www.calfnotes.com](http://www.calfnotes.com) Calf Note # 39, 1998
25. Harker DB. A Simple Estimation of the Immunoglobulin Content of Ewe Colostrum. Vet. Rec. 1978: 103; 8-9
26. Argimón PAM, Jiménez VJ. Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. Tercera Edición. Elsevier España. 2004
27. Ferriol MX, García MA, Ochoa AO, Bravo BI, Blanco GR, Estrada GE, Nerey ON, Martínez RJ. Validación de un ELISA para la cuantificación de IgG

humana antiproteína de Neisseria meningitidis serogrupo B. Rev. Cubana Med. Trop. 1999; 51:99-105

28. Pritchett LC, Gay CC, Hancock DD,, Besser TE. Evaluation of the Hydrometer for Testing Immunoglobulin G1 Concentrations in Holstein Colostrum. J Dairy Sci. 1994; 77: 1761-1767

29. Quigley J. Freezing and Thawing Colostrum. [URL:http://www.calfnotes.com](http://www.calfnotes.com)  
Calf Note # 13, 1997

30. Statistical Analysis System Institute (SAS). User's Guide. 4<sup>a</sup> Ed. Volume 2, Cary NC. 1990.

31. Butler J.A., Sickles S.A., Johans C.J. and R.F. Rosenbusch. 2000. Pasteurization of Discard Micoplasma Mastitic Milk used to Feed Calves: Thermal Effects on Various Mycoplasma. J. Dairy Sci. 83: 2285-2288.

CUADRO 1

INDICE REFRACTOMETRICO Y SUS EQUIVALENCIAS A PROTEINA TOTAL Y SÓLIDOS TOTALES EN MUESTRAS DE CALOSTRO DE PRIMER ORDEÑO

Lote	<u>Prepasteurizado</u>			<u>Pasteurizado</u>		
	<u>índice</u>	<u>proteína total</u> g/100ml	<u>sólidos totales</u> %	<u>índice</u>	<u>proteína total</u> g/100ml	<u>sólidos totales</u> %
1	1.3495	7.7	9.0	1.3481	6.9	8.3
2*				1.3469	6.3	7.6
3	1.3499	7.9	9.2	1.3486	7.1	8.5
4	1.3504	8.1	9.5	1.3458	5.7	7
5	1.3484	7	8.4	1.3462	5.9	7.2
6	1.3482	6.9	8.3	1.3442	4.8	6.1
7	1.3452	5.4	6.7	1.3449	5.3	6.5
8	1.3508	8.3	9.7	1.3463	6.0	7.3
9	1.3514	8.6	10	1.3471	6.4	7.7
10	1.3523	9.1	10.5	1.3473	6.5	7.8
11	1.3458	5.7	7	1.342	3.7	4.9
12	1.3464	6	7.3	1.3447	5.1	6.4

\* Muestra prepasteurizada no incluida



CUADRO 2

DIFERENCIAS PROMEDIO, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y ERROR ESTÁNDAR ANTES Y DESPUÉS DE LA PASTEURIZACIÓN.

	<u>Prepasteurizado</u>		<u>Pasteurizado</u>	
	proteína total <u>g/100ml</u>	sólidos totales <u>%</u>	proteína total <u>g/100ml</u>	sólidos totales <u>%</u>
n	11	11	11	11
media	7.33 <sup>a</sup>	8.69 <sup>a</sup>	5.76 <sup>b</sup>	7.06 <sup>b</sup>
desv est	1.23	1.26	0.99	1.04
error est	0.37	0.38	0.30	0.31

<sup>ab</sup> Literales distintas muestran una diferencia estadística significativa (P<0.01)

CUADRO 3

MEDIAS ESTIMADAS, ERROR ESTÁNDAR, COEFICIENTE DE VARIACIÓN (C.V.) E INTERVALO DE CONFIANZA  $\mu$  (IC $\mu$ ) AL 95% PARA LA VARIABLE PROTEÍNA TOTAL (g/100 ml) EN CALOSTRO PREPASTEURIZADO Y PASTEURIZADO.

Tratamiento	Variable	n	media $\pm$ error est.	C.V. (%)	IC $\mu$ al 95% límite inferior - límite superior
Prepasteurizado	proteína total g/100ml	11	7.33 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	16.79	6.61- 8.06
Pasteurizado	proteína total g/100m	11	5.76 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	17.30	5.23 - 6.37

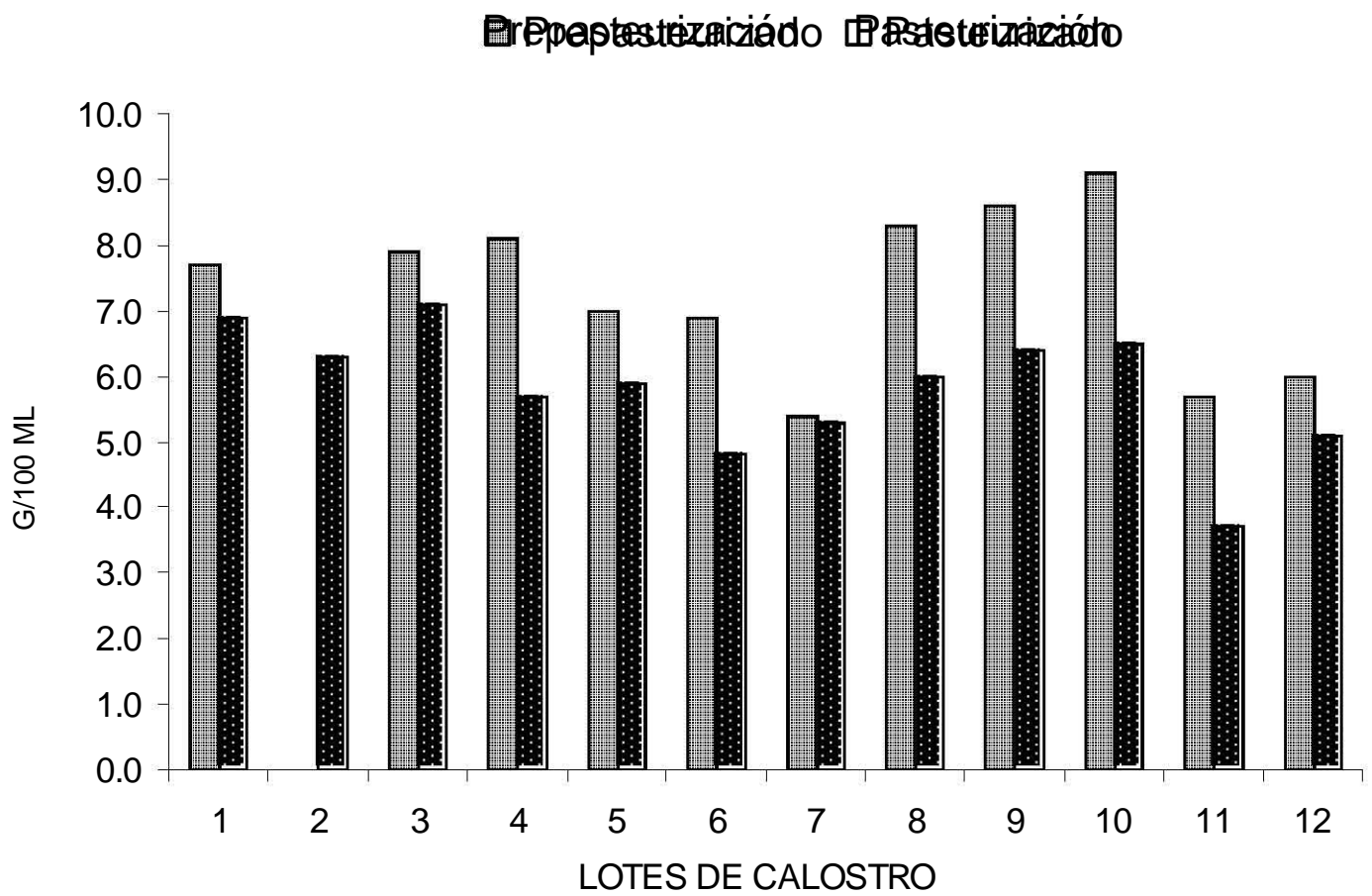
<sup>ab</sup> Literales distintas indican valores estadísticamente diferentes P(<0.01)

CUADRO 4

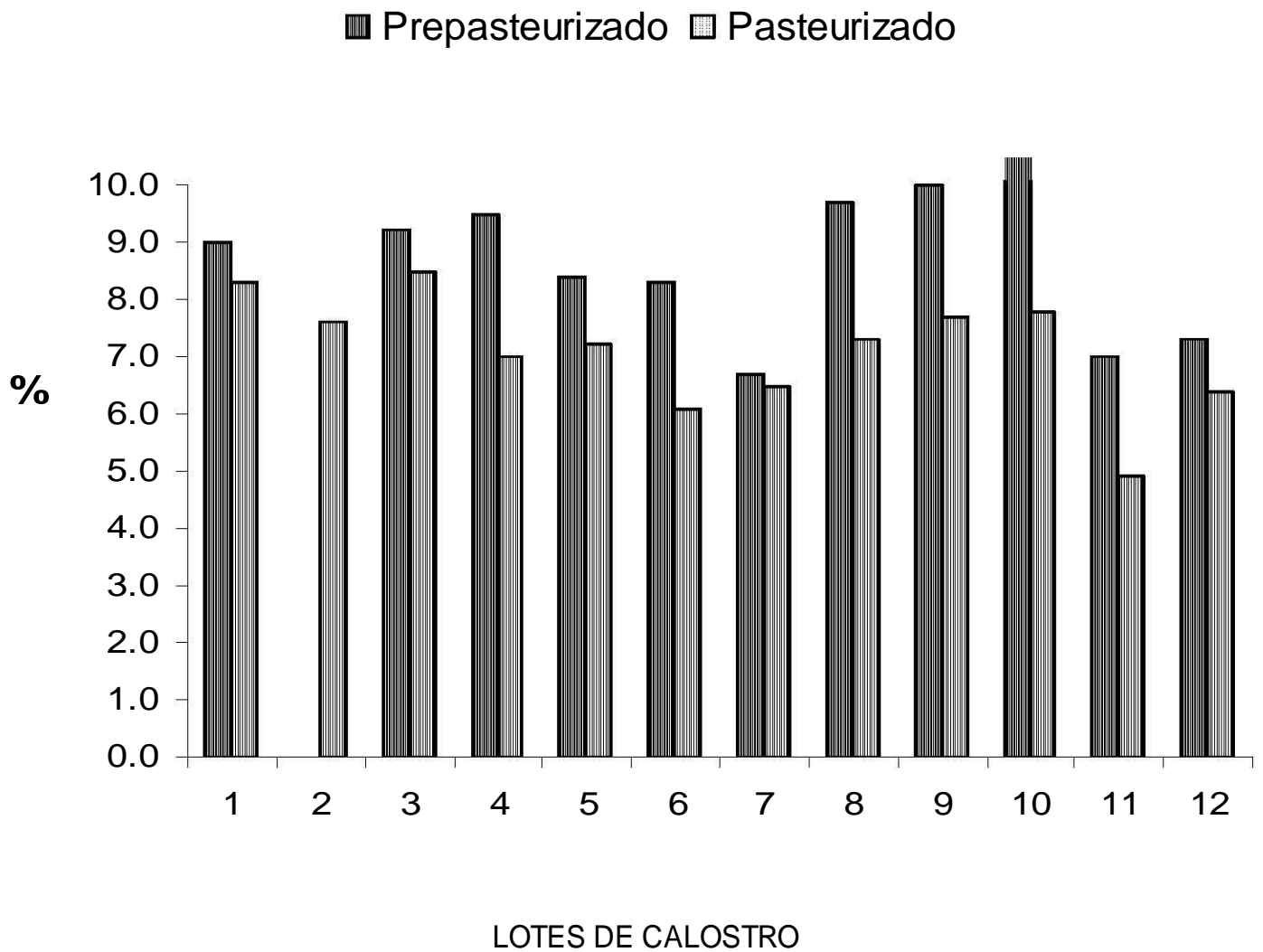
MEDIAS ESTIMADAS, ERROR ESTÁNDAR, COEFICIENTE DE VARIACIÓN (C.V.) E INTERVALO DE CONFIANZA  $\mu$  (IC $\mu$ ) AL 95% PARA LA VARIABLE SÓLIDOS TOTALES (%) EN CALOSTRO PREPASTEURIZADO Y PASTEURIZADO.

Tratamiento	Variable	n	media $\pm$ error est.	C.V. (%)	IC $\mu$ al 95% límite inferior - límite superior
Prepasteurizado	sólidos totales %	11	8.69 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	14.55	7.94- 9.44
Pasteurizado	sólidos totales %	11	7.06 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	14.83	6.51 – 7.70

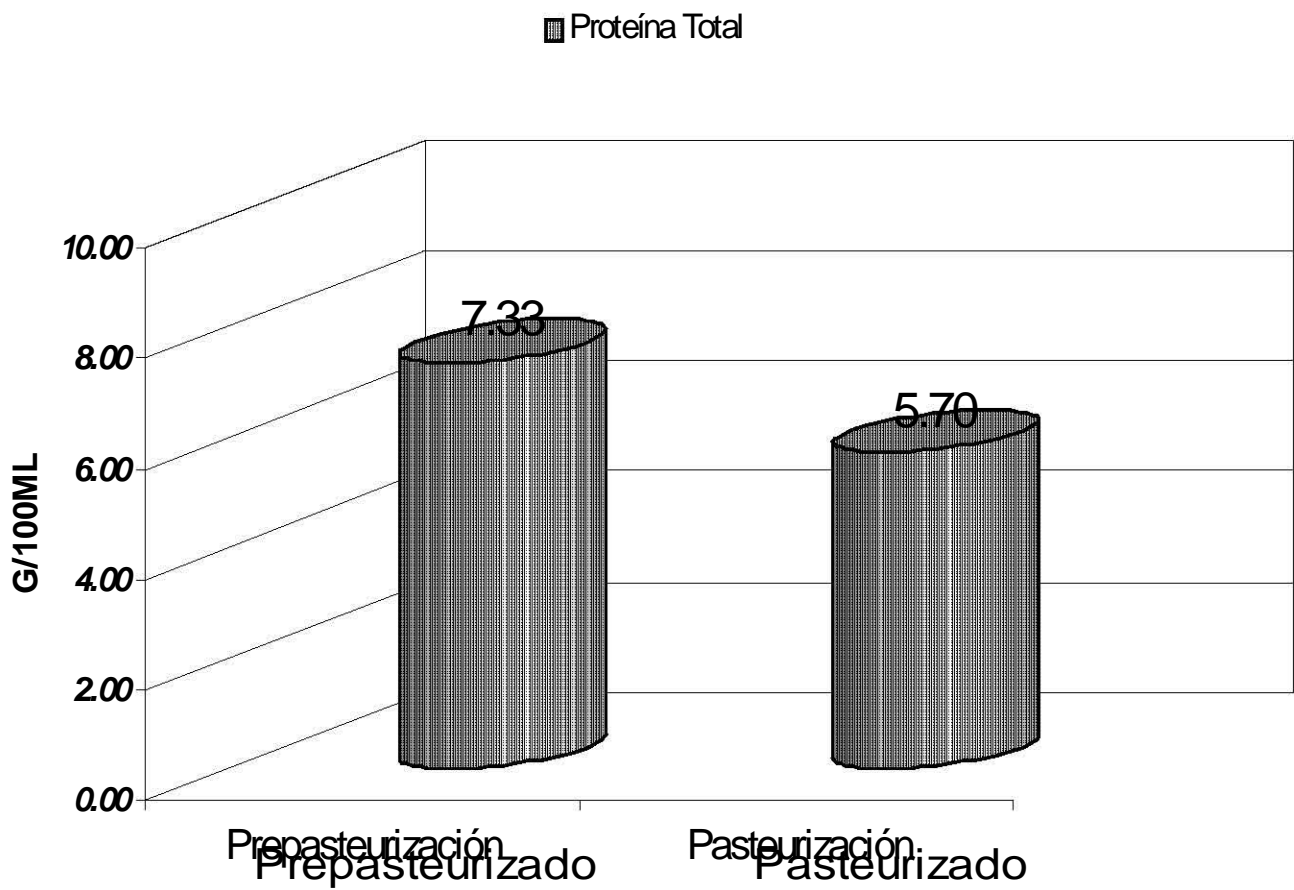
<sup>ab</sup> Literales distintas indican valores estadísticamente diferentes P(<0.01)



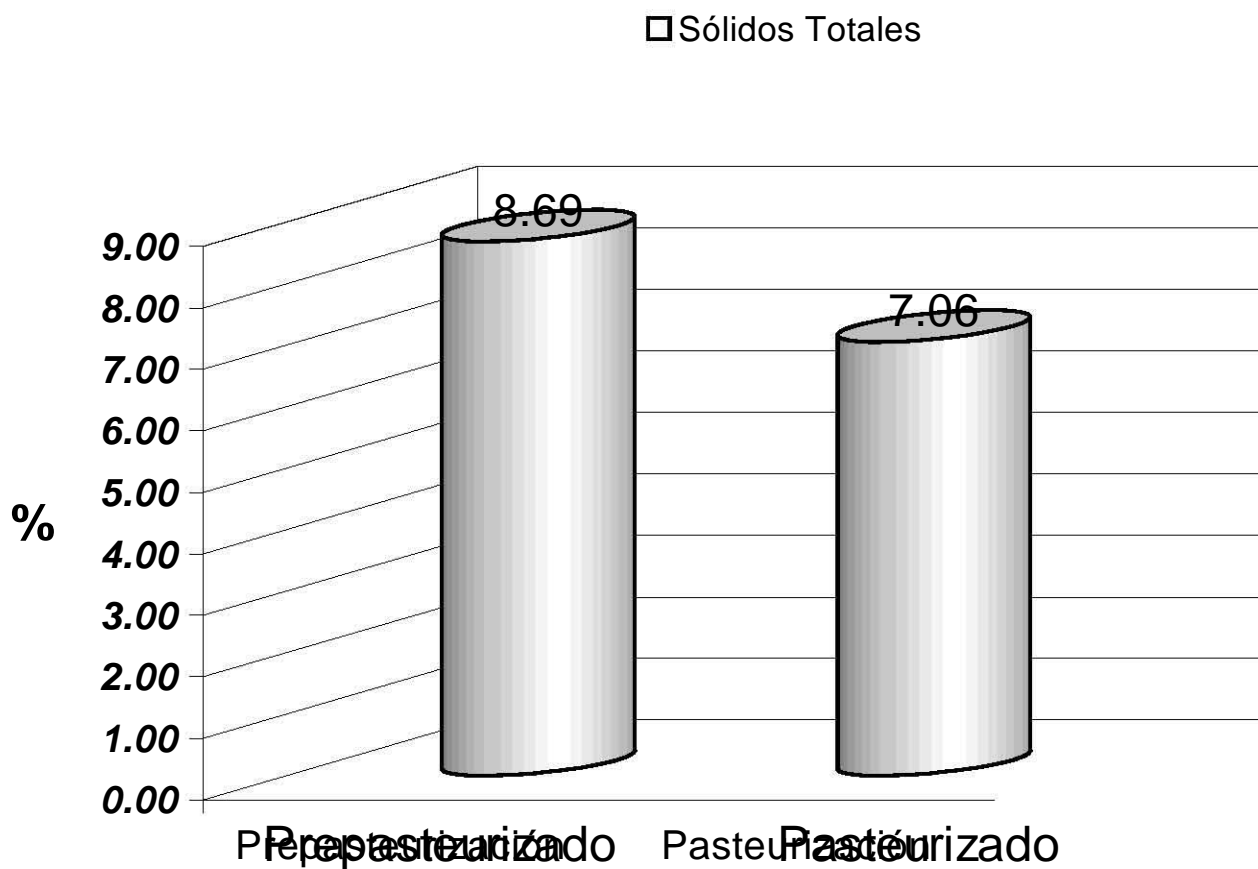
**Figura 1. PROTEÍNA TOTAL EN MUESTRAS DE CALOSTRO PREPASTEURIZADO Y PASTEURIZADO**



**Figura 2. SÓLIDOS TOTALES EN MUESTRAS DE CALOSTRO PREPASTEURIZADO Y PASTEURIZADO**



**Figura 3. EFECTO DE LA PASTEURIZACIÓN LENTA  
SOBRE PROTEÍNA TOTAL EN MUESTRAS DE  
CALOSTRO**



**Figura 4. EFECTO DE LA PASTEURIZACIÓN LENTA SOBRE SÓLIDOS TOTALES EN MUESTRAS DE CALOSTRO**