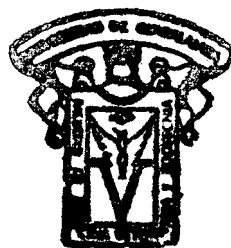


# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



OFICINA DE  
DIFUSION CIENTIFICA

ALIMENTACION DE LECHONES CON CALOSTRO DE CERDA  
PRECONGELADO "ESTUDIO ELECTROFORETICO".

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

MARIA DE MONTSERRAT IRIGOYEN ALVAREZ

ASESORES: M. EN C. RODOLFO RAMOS ZEPEDA

M. EN C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA

GUADALAJARA, JALISCO. 1986

*AGRADECIMIENTOS:*

*A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA Y  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA  
Y ZOOTECNIA.*

*A quienes les debo mi formación profesional.*

*A LA DIVISION DE PATOLOGIA  
EXPERIMENTAL DE LA UNIDAD  
DE INVESTIGACION BIOMEDICA  
DE OCCIDENTE DEL I.M.S.S.  
BAJO LA DIRECCION DEL M.C.  
RODOLFO RAMOS ZEPEDA.*

*Que me brindó ayuda y orien  
tación para la realización  
de este trabajo.*

A MIS ASESORES:

M.C. RODOLFO RAMOS ZEPEDA Y

M.C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA.

Por la gran ayuda y apoyo que  
me brindaron durante la realiza  
ción de este trabajo, un eterno  
agradecimiento.

A MI MAESTRO:

MVZ VICTOR MANUEL MERCADO P.

Gran maestro y amigo.

† EN MEMORIA DE MI HIJA MONTSE  
Y HERMANO MARTIN.

A MIS PADRES Y HERMANOS  
Por el apoyo y ayuda que  
me brindaron para la for-  
mación de mi persona.

A MI ESPOSO PABLO.  
Por su comprensión y  
apoyo en los momentos  
difíciles.

† EN MEMORIA DE MI MAESTRO  
MVZ HIRAM OSORIS GONZALEZ  
De quien siempre conservo  
un bonito recuerdo.

*A MIS AMIGOS:*

*CONSTANZA, JOSE GUADALUPE Y FAUSTO.*

*Por su sincera amistad.*



**OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA**

*A COLABORADORES:*

*Que de alguna manera  
me ayudaron para la  
realización de este  
trabajo.*

*A MI AMIGO Y COMPAÑERO:*

*MARTIN PEREZ*

*Gracias por su gran ayuda.*

LOS AUTORES AGRADECEN AL DR. JOSE ARTURO CESEÑA CAYEROS  
OFICIAL MAYOR DE LA POSTA ZOOTECNICA DE COFRADIA DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, LAS FACI  
LIDADES QUE BRINDO PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

*MJEMBROS DEL JURADO*

*MVZ GUFRE MURJA ROURET*

*MVZ RICARDO GARCJA LOZANO*

*MVZ LUIS ENRIQUE ESPINOSA P.*

*MVZ LUIS RAMON ORTIZ BERRJEL*

*Q.F.B. C. YOLANDA PARTIDA ORTIZ*

*ALIMENTACION DE LECHONES CON CALOSTRO DE CERDA PRECONGELADO*  
*"Estudio Electroforético"*



EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL DEPARTAMENTO DE  
INVESTIGACION CIENTIFICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA  
VETERINARIA Y ZOOTECNIA Y EN LA DIVISION DE PATOLOGIA  
EXPERIMENTAL DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA  
DE OCCIDENTE DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

## *INDICE.*

<i>INTRODUCCION</i> .....	<i>PAGS</i> 1
<i>ANTECEDENTES</i> .....	3
<i>HIPOTESIS</i> .....	11
<i>OBJETIVO</i> .....	12
<i>MATERIA Y METODOS</i> .....	13
<i>RESULTADOS Y TABLAS</i> .....	25
<i>DISCUSION</i> .....	29
<i>CONCLUSIONES</i> .....	33
<i>RESUMEN</i> .....	34
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</i> .....	36

## INTRODUCCION.

La actividad porcícola se ve afectada por la elevada mortalidad de cerdos recién nacidos que no reciben calostro materno al nacimiento debido a que sus madres presentan alguna enfermedad, como mastitis, metritis o agaláctea (MMA), por lo que además se presenta ablactación en las crías<sup>34</sup>.

En la actualidad los problemas de MMA se han resuelto parcialmente con el empleo de cerdas nodrizas, este procedimiento resulta difícil de llevar a la práctica, debido a que las hembras comúnmente no tienen sus partos sincronizados y esto impide la lactancia adecuada de los cerdos adoptados. También se realizaron transfusiones séricas y alimentación con calostro de vaca<sup>1,33,35</sup>, pero el problema no ha sido superado.

En este trabajo se alimentó a un grupo de cerdos recién nacidos con calostro isogénico congelado, con el fin de compensar los bajos niveles de inmunoglobulinas (Igs)

que presentan los lechones al nacimiento<sup>22,35</sup>. Estas desempeñan un papel importante en la defensa contra las infecciones a las que son susceptibles los cerdos al nacimiento, por no tener la capacidad para producir anticuerpos específicos antes de manifestar un padecimiento. Por lo tanto, los anticuerpos que contiene el calostro son indispensables para su sobrevivencia<sup>33</sup>. Este tratamiento se propone como un método alternativo para resolver el problema que se plantea.

### ANTECEDENTES.

El cerdo es un mamífero del orden artiodáctilo (extremidades que terminan en un par de dedos), suborden paquidermos, (piel gruesa). Perteneció a la familia de los Suidae, subfamilia Suidae; género Sus scrofa del que se derivan tres especies: Sus vitatus, Scrofa ferus, Sus mediterraneus que han dado origen a las razas de cerdos domésticos que se conocen actualmente<sup>21</sup>.

La domesticación del cerdo ocurrió en Asia hace miles de años, en el período Neolítico, en la región del Báltico y sudeste de los Alpes. En América antes de la llegada de los conquistadores no existían cerdos domésticos, sólo se encontraban los paquiros y pécaris, que se consideran como ancestros de los cerdos domésticos. Cristóbal Colón transportó a América los primeros cerdos domésticos en 1493, los cuales se reprodujeron, sin control por la falta de sitios para su crianza y penetraron a los bosques e hicieron vida salvaje<sup>4, 11, 21</sup>.

Por otra parte, algunos autores señalan que realizaron

investigaciones de fósiles de suideos encontrados en el valle de México y afirman que existieron 500 años a. C. También hay indicios de que los chinos y vikingos vinieron al continente Americano, antes que los españoles; por lo que se puede pensar que fueron ellos los que trajeron los primeros cerdos<sup>21</sup>.

Al parecer fueron cuatro razas porcinas las colonizadas de América: Céltica, Ibérica, Napolitana y Asiática. Estas razas se cruzaron entre sí y perdieron sus características originales<sup>4,21</sup>.

En la actualidad persiste el cruzamiento controlado de razas de cerdos domésticos con el propósito de obtener un mejoramiento genético, que propicie mayor fertilidad, sobrevivencia al destete, producción de carne, resistencia a las enfermedades y mayores cualidades maternas, etc<sup>21,25</sup>.

Existe una variedad de razas clasificadas por sus características generales: origen, morfología, fisiología,

patología y psicología. La clasificación más aceptada actualmente, es la que se refiere a la actividad económica de la industria porcícola, ya sea por su producción de carne o de grasa. En base a esto los cerdos se seleccionan por tipos porcinos, en lugar de razas, ya que el tipo agrupa a varias de ellas, así se tienen por ejemplo: cerdos tipo carne (Duroc, Jersey, Hampshire, Yorkshire, Landrace, etc.); cerdos tipo grasa (Berkshire, Poland china, Pelon mexicano, Cuinos, etc.)<sup>21,25</sup>.

En este trabajo se estudiaron cerdos de la raza Yorkshire que es procedente de Inglaterra y se originó del cruceamiento entre hembras de la raza Céltica con machos de la raza Leicestershire, Berkshire y Cumberland. Es un cerdo de color blanco rosado, cabeza mediana, hocico ancho, orejas erectas, de tamaño mediano, dorso y lomo más largos que otras razas, excepto la Landrace. Las hembras tienen de seis a ocho pares de mamas, y son más prolíficas que otras razas<sup>25</sup>.

Los cerdos como todos los animales, incluso el hombre, poseen mecanismos de defensa específicos e inespecíficos.

cos. Entre los primeros se tienen la respuesta inmune humoral y celular. En cuanto a los segundos se señalan las barreras anatomofisiológicas (piel, mucosas, lame ras), fa gocitosis por células especializadas e inflama ción<sup>10</sup>.

En cuanto a la inmunidad celular no se conoce un sustra to químico preciso, ya que se habla de múltiples sustan cias (linfocinas, interleukinas) que producen los linfocitos timo-dependientes. En cambio el sustrato químico responsable de la respuesta inmune humoral es caracte rístico y lo constituyen las inmunoglobulinas (Igs) de las cuales se conocen 5 clases: G, A, M, D. y E<sup>12</sup>.

Las inmunoglobulinas (Igs) y el sistema del complemento desempeñan un papel importante en la protección contra las infecciones<sup>6,18</sup>. La acción biológica de las Igs es la de actuar como anticuerpos<sup>14,24,38</sup> y la del complemento es la de culminar algunas reacciones antígeno-anticuerpo, además participa en numerosos fenómenos biológicos entre los que se encuentran la reacción inflamatoria y la fa go



*citosis*<sup>31</sup>.

existen cinco clases de Igs: G, A, M, D y E. Estas proteínas se aíslan y se estudian ampliamente<sup>13,14</sup>. En el humano se ha encontrado que la IgG es la única que tiene la propiedad de cruzar la barrera placentaria<sup>13</sup>. En algunos animales como la cerda, la yegua y la vaca, aparentemente ninguna inmunoglobulina tiene esta capacidad<sup>37</sup>.

El mecanismo por el cual en el hombre, en los primates y en los roedores la IgG atraviesa la barrera placentaria, no se conoce; pero se ha señalado que este fenómeno se favorece por la estructura de la placenta que es de tipo hemoconial<sup>13</sup>. En cambio la cerda, la yegua y la vaca poseen una placenta de tipo epiteliocorial y no existe transferencia de la IgG de la madre al feto<sup>37</sup>. Por consiguiente, los bajos niveles de Igs de los cerdos recién nacidos, provienen de la incipiente producción in útero por el propio animal<sup>7</sup>. Debido a esto, los lechones de 1 a 10 días de nacidos son extremadamente susceptibles

a infecciones entre las que se encuentra la causada por el virus de la gastroenteritis. En ellos se presenta diarrea, deshidratación y muerte, antes de que sean capaces de producir sus propios anticuerpos para contener las infecciones<sup>27,33</sup>.

La baja de los niveles de Igs en los cerdos recién nacidos tiende a normalizarse mediante la ingestión del calostro materno, éste les confiere protección contra las infecciones, a través de los anticuerpos presentes en el calostro que constituye una inmunización pasiva<sup>15,22,34,35</sup>.

El calostro es una secreción láctea rica en inmunoglobulinas (G, A y M) y otras proteínas séricas que se acumulan en la glándula mamaria de hembras embarazadas antes del parto<sup>6</sup>. En las cerdas gestantes después del parto, el calostro alcanza sus niveles máximos de concentración en las primeras 24 hr<sup>28,34,35</sup>. En las vacas el producto de las primeras seis ordeñas después del parto es lo que constituye el calostro<sup>10</sup>.

Existen tratamientos que pretenden suplir la administración del calostro fresco y elevar los niveles de inmunoglobulinas en los animales recién nacidos, entre estos procedimientos se encuentran: la administración de sangre por vía oral en borregos<sup>1</sup>. En becerros la alimentación con calostro almacenado a temperatura ambiente o congelado<sup>10,35</sup>. En cerdos la inyección de Igs séricas<sup>33</sup>.

Los cerdos al nacimiento, tienen la capacidad de absorber Igs en un lapso de 1 a 12 hr después de nacidos, la absorción máxima ocurre durante las primeras tres horas. Se desconoce cual es el mecanismo de la regulación de tal absorción<sup>19,23,28,35</sup>; pero las Igs provenientes del calostro además ejercen un papel protector local en el intestino del animal<sup>10,33</sup>, y las proteínas restantes son excelentes nutrientes para el cerdo recién nacido<sup>8,9,10</sup>.

Por otra parte, el calostro contiene complemento, pero aparentemente su absorción por el intestino es baja, pues los niveles séricos en los lechones alimentados

con calostro no aumentan de manera considerable, pero se sabe que éste contiene factores estimulantes de la producción de los componentes del complemento<sup>31</sup>.

Las cerdas gestantes se ven afectadas frecuentemente por una serie de padecimientos entre los que se encuentran el síndrome de mastitis, metritis, agaláctea (MMA), que es producido por infecciones por E. Coli; agaláctea: por stress<sup>5,20</sup>, por dieta hiperprotéica durante la gestación y por el tratamiento de altas dosis de corticosteroides<sup>2,3,26</sup>. Todo ello provoca insuficiencia en la producción del calostro y leche en la cerda<sup>17</sup>; así como disminución de los niveles de Igs, con lo que la alimentación láctea de las crías se ve sumamente deteriorada<sup>32</sup>. Además, los animales recién nacidos quedan sin protección contra las infecciones, al no compensar sus niveles bajos de Igs, con las que contiene el calostro<sup>16,19,23,26,29,32</sup>.

**HIPOTESIS:**

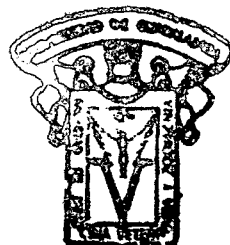
*La alimentación con calostro preservado por congelación, administrado después del nacimiento, compensa los niveles bajos de Igs en cerdos recién nacidos, cuando sus madres están incapacitadas para proporcionarles el calostro debido a algún padecimiento.*



**OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA**

**OBJETIVO:**

*Mostrar que las Igs del calostro de cerda conservan su actividad después de someterse a congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 30 días y que la alimentación con éste eleva los niveles séricos de Igs en los cerdos recién nacidos.*



OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

## MATERIA Y METODOS.

Se trabajaron tres grupos de cinco cerdos recién nacidos de la raza Yorkshire provenientes de tres camadas diferentes y repartiéndose equitativamente en los grupos que se señalan. A un grupo se le alimentó con calostro de la madre, otro grupo con calostro isogénico precongelado y el tercer grupo con leche de cerda nodriza. A los tres grupos se les determinaron los niveles séricos de IgG al nacimiento, 12 hr, 3 y 8 días después del nacimiento.

## PROCEDIMIENTO.

### Obtención de anticuerpos contra suero de cerda.

Se tomaron 20 ml de sangre de cerda adulta normal, por punción de la yugular externa, sin anticoagulante. El suero se separo por retracción del coágulo y centrifugación. Se procedió a inmunizar un conejo con cuatro dosis de 1.0 ml del suero de cerda semanalmente, por inyección intraperitoneal. A los ocho días de la última inoculación, se obtuvieron 20 ml de sangre del conejo, por pun

ción cardíaca. El suero se separo y se probó por inmunoelectroforesis la producción de anticuerpos contra las proteínas del suero de la celda.

#### Obtención de calostro:

El calostro fue extraído por ordeña directa de 4 cerdas Yorkshire, inmediatamente después del parto, se trasladó al congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Los calostros se mezclaron con el fin de que tuvieran el mismo contenido de proteínas y se facilitara así la valoración de los resultados, el volumen final de calostro fue de 900 ml.

Con el fin de facilitar la determinación de las proteínas del calostro, se tomaron alícuotas que fueron diluidas tres veces y acidificadas (con ácido acético 0.1 M) para obtener el suero diluido. La leche de celda también se acidificó para obtener el suero.

#### Proteínas totales.

La determinación de proteínas totales, se realizó por refractometría en los sueros sanguíneos, de calostro y



de leche de los cerdos que se estudian. Para ello se utilizó un refractómetro A. O. Mod. 10406. En la venta na portamuestras se colocó 0.1 ml de cada suero y se hizo la lectura en la escala correspondiente. Los re sultados se obtuvieron en gramos de proteína por cien mililitros de suero (g/100 ml).

### Electroforesis.

La electroforesis se basa en el hecho de que si una par tícula cargada se coloca en un campo eléctrico, ésta puede migrar hacia uno de los electrodos de ese campo. El análisis electroforético de las proteínas séricas proporciona datos preliminares de las proteínas que con tiene alguna muestra (suero sanguíneo, lácteo u orina, etc.), las cuales se separan en cinco zonas perfectamente definidas, integradas cada una por varias proteínas <sup>36</sup>. En orden de migración las bandas que aparecen co rresponden a la albúmina, alfa 1, alfa 2, beta y gamma globulinas<sup>30</sup>.

1. Equipo:



OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

*Sistema básico para electroforesis de microzona (Beckman Mod. 152 microfuge) que consta de: fuente de poder, cámara de electroforesis, densitómetro, membranas de acetato de celulosa, juego de cubetas, aplicador, cojinetes secantes, placas de vidrio, micas y reactivos.*

*Reactivos.*

*a) Amortiguador Tris-Veronal-Barbital pH 8.6, fuerza iónica 0.75 (Beckman B-2<sup>2</sup>). Se disuelve el contenido de un vial en 1000 ml de agua destilada.*

*b) Solución colorante y fijadora (Beckman fixative/ Dye<sup>3</sup>). Se diluye el contenido de una botella de 30 ml de la solución colorante en 250 ml de agua destilada. La concentración de los reactivos en una solución es:*

<i>Colorante Ponceaw-S</i>	<i>0.2%</i>
<i>Acido tricloroacético</i>	<i>3.0%</i>
<i>Acido sulfosalicílico</i>	<i>3.0%</i>

*c) Solución lavadora. Acido acético glacial al 5 % en agua destilada.*

d) *Solución deshidratadora. Alcohol desnaturalizado.*

e) *Solución aclaradora. Acido acético al 20 % en al  
cohol desnaturalizado.*

*Procedimiento:*

a) *Se llenaron los dos compartimientos de la cámara de electroforesis con la solución amortiguadora.*

b) *En una cubeta se pusieron 100 ml de amortiguador y en él se impregnó cuidadosamente la membrana de acetato de celulosa. Se extrajo la membrana y se colocó entre los cojinetes absorbentes, para eliminar el exceso del amortiguador.*

c) *Se colocó la membrana en el soporte de la cámara, cu  
dando que sus extremos se sumergieran perfectamente en el amortiguador. Se cubrió con la tapa guía para el apli  
cador de las muestras.*

d) Sobre un trozo de parafilm se colocó una gota de sue  
ro de leche o calostro y se tomó una pequeña cantidad  
con el portamuestras del aplicador.

e) Se orientó el aplicador en la guía de la tapa y se co  
locó la muestra golpeando la superficie de la membrana  
con el portamuestras. Se lavó el portamuestras en el a  
montiguador. Los pasos d) y e) se repitieron tantas ve  
ces como muestras fueron analizadas. La membrana tiene  
una perforación que indica la secuencia en que se apli  
caron las muestras, tiene capacidad para correr ocho  
muestras.

f) Se tapó la cámara, se conectaron los electrodos y se  
encendió la fuente de poder, se ajustó el voltaje a 250  
volts y la corriente constante se estabilizó en 5 miliamperes.  
Se dejaron correr las proteínas durante 16 min.  
Se desconectó la cámara y se extrajo cuidadosamente la  
membrana.

g) Se sumergió 10 min en 100 ml de colorante y se lavó  
tres veces sucesivamente con 100 ml de ácido acético al  
5 % para eliminar el exceso de colorante.

h) Se colocó sobre una placa de vidrio y se deshidrató durante un minuto con 100 ml de alcohol desnaturalizado.

i) Se aclaró 30 seg en 100 ml de ác. acético al 20 % en alcohol denaturalizado, se eliminó el exceso de solución aclaradora.

j) Se puso a secar al aire durante 15 min.

k) Se colocó en la mica portamuestras y se analizó en el densitómetro con un filtro neutro 1.4 cal. La línea basal se llevó a 0 y la extensión de la banda de albúmina se elevó a 85 %.

l) Se integraron las bandas en el electroforetograma y se hizo la transformación a porcentajes. Estos poste<sub>r</sub>iormente se convirtieron en g de proteínas por 100 ml de suero de calostro o leche, o suero sanguíneo, para lo cual se tomó como 100 % el valor obtenido en la de<sub>t</sub>erminación de proteínas totales que se realizó en un refractómetro (A. O. 10406).



Inmunoelectroforesis.

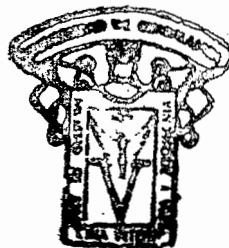
Este proceso consiste en la combinación de la técnica de electroforesis, con la de difusión, ya que una vez que las proteínas se separan electroforéticamente, se ponen en contacto con el antisuero correspondiente para que tenga lugar la reacción antígeno-anticuerpo por inmunodifusión. Así aparecen las bandas de precipitación que corresponden a las proteínas presentes en la muestra analizada<sup>30</sup>. Este método se empleó para mostrar la existencia de Igs en los sueros sanguíneos de calostro y de leche de los cerdos que se estudian.

Reactivos:

Amortiguador de barbituratos, pH 8.6, fuerza iónica 0.1

Acido barbitúrico	2.0	g
Barbiturato de sodio	20.6	g
Agua destilada	1000.0	ml

Suspensión de agar:



OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

Agar noble	1.0	g
Amortiguador de b <u>a</u> bituratos pH 8.6	25.0	ml
Agua destilada	75.0	ml
Azida de sodio	0.02	g

Solución salina 0.15 M:

Cloruro de sodio	8.764	g
Agua destilada	1000.00	ml

Colorantes:

Negro amido	3.0	g
Solución alcohol- <u>ác</u> do acético	500.0	ml

Solución alcohol-ác. acético (solución lavadora)

Alcohol metilico	1330.0	ml
Agua destilada	1350.0	ml
Acido acético glacial	300.0	ml

Sueros: Sanguíneo, de calostro y de leche de cerdos.

*Antisuero: Suero de conejo con anticuerpos contra proteínas del suero de cerdo.*

*Procedimiento:*

*Se colocaron los portaobjetos de 2.5 cm en el soporte de plástico después de un ligero enjuague con alcohol. Se niveló la mesa sobre las que estaban las laminillas y con una pipeta de 10 ml se tomaron aproximadamente 12 ml de suspensión de agar caliente (46°C) y se empezó a verter el agar en los extremos que no lograron cubrir los portaobjetos, donde se unían estos y se continuó agregando el agar en forma homogénea hasta cubrirlos totalmente. Se dejaron reposar 20 horas a 4°C.*

*En las placas de agar se hicieron dos orificios colocados en el centro, transversalmente al portaobjetos y separados entre sí 10 mm y un surco central en sentido longitudinal de 2 mm de ancho que pasó entre los orificios. Se retiró el gel de los orificios y se colocaron las muestras de sueros de cerdos.*





Las placas de electroforesis se colocaron en series de 3 laminillas alineadas a lo largo de los marcos de plástico, que son accesorios del mismo aparato. Así se colocaron en la cámara de electroforesis (Camag), que contiene 300 ml de amortiguador en cada compartimiento. Cada extremo de las placas se conec  
tó por medio de una tira de celulosa del ancho apro  
piado y humedecida en el mismo amortiguador.

A través de las placas se pasó una corriente directa de 6 V/cm y 0.76 mA durante 60 min, al término de es  
tos se retiró el gel del surco central. En los surcos se colocó el suero de conejo contra suero de cerdo. El antisuero se dejó difundir en las placas de agar y se incubaron en cámara húmeda durante 20 hr a tempera  
tura ambiente. Al cabo de ellas se sumergieron en la solución salina 0.15 M, 24 hr para eliminar las proteí  
nas no precipitadas. A continuación se lavaron con a  
gua bidestilada dos veces. En seguida se cubrieron con tiras de papel adsorbente para su secado. Se retiraron cuidadosamente los papeles y se dió un enjuague con



agua bidestilada a las laminillas. Se tiñeron con la solución de negro amido durante 5 min y el exceso de colorante se retiró por inmersión durante 10 min en cuatro baños de solución lavadora, por último se enjuagaron con agua bidestilada y se dejaron secar al aire. Después se realizó la interpretación cualitativa de las bandas obtenidas.

## RESULTADOS.

En la Tabla 1 se presentan los valores de las proteínas totales y del contenido de inmunoglobulinas en los sueros de los calostros fresco, congelado, de las cerdas que alimentaron directamente a sus crías (cerda madre), de leche de nodriza y de suero sanguíneo de cerda como control. En esta Tabla se observa que el mayor contenido tanto de proteínas totales como de inmunoglobulinas lo presentaron los calostros de las diferentes muestras.

En las Tablas 2 y 3 se presentan los resultados de las concentraciones de las proteínas séricas de los lechones alimentados con calostro congelado que corresponden a la separación electroforética y a la transformación de esta determinación semicuantitativa, con la concentración de proteínas totales que se realizó por refractometría, para expresar los valores de albúmina, alfa, beta y gamma globulinas en g/100 ml de suero. Estas determinaciones fueron hechas en el suero de los lechones como se indicó antes: al nacimiento, des

TABLA 1. CONCENTRACION DE PROTEJNAS TOTALES E INMUNOGLO  
 BULJNAS EN SUEROS DE CALOSTRO, DE LECHE Y SANGUINEO DE  
 CERDAS.

MUESTRA	PROTEJNAS TOTALES g/100 ml	IgG. g/100 ml
CALOSTRO FRESCO	18.00	12.13
CALOSTRO CONGELADO	17.50	12.10
CALOSTRO CERDA MADRE	18.10	10.67
LECHE DE CERDA NODRIZA	6.7	3.47
SUERO DE CERDA	6.20	2.00

TABLA 2. CONTENIDO DE ALBUMINA Y ALFA GLOBULINAS EN EL SUERO DE LECHONES RECIENTE NACIDOS ANTES Y DESPUES DE SER ALIMENTADOS CON CALOSTRO PRECONGELADO, DE LA PROPIA MADRE O CON LECHE DE CERDA NODRIZA, DURANTE LAS PRIMERAS 12 HR DE VIDA.

MUESTRA	CASOS	CALOSTRO		LECHE	
		CONGELADO	MADRE	NODRIZA	
RN <sup>(+)</sup>	5	$\bar{X}$	0.93	0.57	0.66
		$\pm$	0.49	0.12	0.13
12 HR	5	$\bar{X}$	1.22	0.45	0.62
		$\pm$	0.20	0.19	0.30
3 DIAS	5	$\bar{X}$	1.45	0.97	0.77
		$\pm$	0.27	0.21	0.29
8 DIAS	5	$\bar{X}$	1.54	1.10	1.34
		$\pm$	0.15	0.13	0.38
RN <sup>(-)</sup>	5	$\bar{X}$	0.59	0.69	0.59
		$\pm$	0.20	0.22	0.25
12 HR	5	$\bar{X}$	0.59	0.39	0.54
		$\pm$	0.13	0.18	0.22
3 DIAS	5	$\bar{X}$	0.54	0.30	0.48
		$\pm$	0.15	0.18	0.13
8 DIAS	5	$\bar{X}$	0.54	0.39	0.70
		$\pm$	0.16	0.25	0.25

(+) = DETERMINACIONES DE ALBUMINA.

(-) = DETERMINACIONES DE ALFA GLOBULINAS.

$\bar{X}$  = PROMEDIO

$\pm$  = DESVIACION ESTANDAR

NOTA: LOS RESULTADOS SE EXPRESAN EN g/ 100 mL DE SUERO.

TABLA 3. CONTENIDO DE BETA Y GAMMA GLOBULINAS EN EL SUE-  
RO DE LECHONES RECIENTE NACIDOS ANTES Y DESPUES DE SER  
ALIMENTADOS CON CALOSTRO PRECONGELADO, DE LA PROPIA MA-  
DRE O CON LECHE DE CERDA NODRIZA DURANTE LAS PRIMERAS  
12 HR DE VIDA.

MUESTRA	CASOS		CALOSTRO		LECHE
			CONGELADO	MADRE	NODRIZA
RN <sup>i</sup>	5	$\bar{X}$	0.76	0.28	0.33
		$\pm$	0.13	0.05	0.15
12 HR	5	$\bar{X}$	0.68	0.76	0.64
		$\pm$	0.18	0.18	0.14
3 DIAS	5	$\bar{X}$	0.83	1.24	0.77
		$\pm$	0.12	0.25	0.12
8 DIAS	5	$\bar{X}$	0.97	0.76	1.28
		$\pm$	0.25	0.22	0.62
RN <sup>i</sup>	5	$\bar{X}$	1.38	1.39	1.26
		$\pm$	0.27	0.38	0.24
12 HR	5	$\bar{X}$	3.31	3.53	0.94
		$\pm$	0.21	0.62	0.36
3 DIAS	5	$\bar{X}$	2.90	3.15	0.95
		$\pm$	0.29	0.41	0.60
8 DIAS	5	$\bar{X}$	2.90	2.70	2.03
		$\pm$	0.26	0.41	0.59

(<sub>i</sub>) = DETERMINACIONES DE BETAGLOBULINAS.

(<sub>i</sub>) = DETERMINACIONES DE GAMMAGLOBULINAS

$\bar{X}$  = PROMEDIO

$\pm$  = DESVIACION ESTANDAR

NOTA: LOS RESULTADOS SE EXPRESAN EN g/ 100 mL DE SUERO.

pués de las 12 hr de ingerirlo y a los 3 y 8 días de vida. Las variaciones más relevantes en el contenido de proteínas se observan en las gamma globulinas que por ser la región en la que migran las inmunoglobulinas, son motivo de un análisis específico posterior.

En las Tablas 4 y 5 se presenta un análisis de las concentraciones de Igs, determinadas en el suero de los lechones recién nacidos, a las 12 hr y a los 3 y 8 días de vida. En estas Tablas se observa la comparación de los resultados en los 3 grupos de lechones estudiados, separados por el tipo de alimentación que recibieron en las primeras 12 hr de vida.

En la Tabla 4 se observa que al nacimiento no hubo variación significativa al comparar los valores de las proteínas de los tres grupos de lechones entre sí. Así mismo a las 12 hr de vida se aprecia que al comparar el grupo de lechones alimentados con calostro congelado(1) con el grupo que recibió calostro de su propia madre (11) no hubo diferencia estadística significativa. Esto indica que la alimentación de los lechones

TABLA 4. PROMEDJO DE LA CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINAS EN EL SUERO DE LECHONES RECIENTE NACIDOS Y A LAS 12 HR DE VIDA, DE SER ALIMENTADOS CON CALOSTRO PRECONGELADO (I), CALOSTRO DE LA PROPIA MADRE (II) Y LECHE DE NODRIZA (III).

	CALOSTRO		LECHE	PRUEBA "t"	"p"
	I	II	III		
CASOS <sup>+</sup>	5	5	5	I vs II	NS
$\bar{X}$	1.38	1.39	1.26	I vs III	NS
$\pm$	0.24	0.38	0.24	II vs III	NS
CASOS <sup>-</sup>	5	5	5	I vs II	NS
$\bar{X}$	3.31	3.53	0.94	I vs III	<.005
$\pm$	0.25	0.79	0.59	II vs III	<.050

(+) = DETERMINACIONES AL NACIMIENTO.

(-) = DETERMINACIONES A LAS 12 HR DE VIDA.

$\bar{X}$  = PROMEDJO DE LA CONCENTRACION EN g/ 100 mL DE INMUNOGLOBULINAS.

$\pm$  = DESVIACION ESTANDAR.

NS = NO SIGNIFICATIVO.



TABLA 5. PROMEDIO DE LA CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINAS EN EL SUERO DE LECHONES DE 3 Y 8 DIAS DE EDAD, ALIMENTADOS CON CALOSTRO PRECONGELADO (1), CALOSTRO DE LA PROPIA MADRE (11) Y LECHE DE CERDA NODRIZA (111).

	CALOSTRO		LECHE	PRUEBA "t"	"p"
	1	11	111		
CASOS <sup>"</sup>	5	5	5	1 vs 11	NS
$\bar{X}$	2.90	3.15	0.95	1 vs 111	<.005
$\pm$	0.26	0.71	0.45	11 vs 111	<.001
CASOS <sup>&amp;</sup>	5	5	5	1 vs 11	NS
$\bar{X}$	2.90	2.70	2.03	1 vs 111	<.025
$\pm$	0.26	0.41	0.59	11 vs 111	NS

(") = DETERMINACIONES A LOS 3 DIAS DE EDAD.

(&) = DETERMINACIONES A LOS 8 DIAS DE EDAD.

$\bar{X}$  = PROMEDIO DE LA CONCENTRACION EN g/100 mL DE INMUNOGLOBULINAS.

$\pm$  = DESVIACION ESTANDAR.

NS = NO SIGNIFICATIVO.

nes con el calostro congelado o con el de la propia madre, propicia resultados similares. En cambio cuando se compararon los grupos de lechones alimentados con calostro (1 y 11) con el grupo que recibió como alimento leche (111) las primeras 12 hr de vida, la diferencia resultó estadísticamente significativa ( $p < .005$  y  $< .05$  respectivamente).

En la Tabla 5 se observa que la diferencia que presentaron los grupos alimentados con calostro y los que recibieron leche de nodriza, se mantiene a los 3 días ( $p < .005$  y  $< .001$  respectivamente). Pero a los 8 días esta diferencia se reduce y sólo es discretamente significativa cuando se comparan los lechones alimentados con calostro congelado con los alimentados con leche de nodriza ( $p < .025$ ).

Los resultados cualitativos obtenidos en la inmunoelectroforesis mostraron que la inmunoglobulina que presentó mayor intensidad en las bandas de precipitación correspondió a la IgG, al comparar los resultados de los tres grupos de lechones pudimos confirmar los hallaz

gos obtenidos por electroforesis. Esto es, que los cerdos alimentados con calostro congelado y de la propia madre tuvieron mayor contenido de IgG que los alimentados con leche de nodriza. Por inmunoelectroforesis no observamos diferencias en la concentración de las Igs de los grupos de cerdos alimentados con calostro.



OFICINA DE  
CONSEJO CIENTÍFICO

### *DISCUSION.*

*En este trabajo se observo que el calostro congelado el cual se administro a los lechones recién nacidos, por vía oral, durante las primeras doce horas de vida, hizo posible la elevación de las Igs a un nivel esta dísticamente significativo, lo cual indica que el proceso y el tiempo en que se mantuvo el calostro en congelación, no altero la estructura ni la actividad de las citadas Igs, ya que estas fueron absorbidas de manera similar a las que recibieron los lechones a través del calostro directamente de sus madres<sup>10,34</sup>.*

*Este resultado era de esperarse, debido a que otros procesos físicos como son la cromatografía por filtración y la liofilización entre otros, preservan las Igs que posteriormente son administradas a pacientes con inmunodeficiencias (agammaglobulinemia) o también son aplicadas como vacunas para inmunización pasiva<sup>33</sup>.*

*La alimentación con calostro tanto isogénico como heterólogo, ya ha sido empleada en lechones, pero se ha*

utilizado el calostro fresco, lo que ha ocasionado pro  
blemas en su administración, debido a que no se tiene  
control en la sincronía de los nacimientos y la pro  
ducción del calostro por los animales donadores. Es  
tas consideraciones son de suma importancia, ya que  
la capacidad de absorción de las Igs por el intestino  
de los lechones se reduce a las primeras 12 hr de vi  
da y la mayor absorción se ha observado durante tres  
horas después del nacimiento. Por otra parte, la ele  
vada concentración de Igs que presenta el calostro,  
también está en función del tiempo, pues esta se ob  
serva al momento del parto, hasta 24 hr postpartum;  
su máxima concentración se encuentra de las 2 a 6  
hr post-partum<sup>10,13,25,27</sup>.

Durante el tiempo del tratamiento no se permitió que  
los cerdos sujeto a estudio se alimentaran de la ma  
dre en los grupos tratados con calostro congelado o  
con leche de nodriza. Una vez transcurridas las doce  
horas durante las cuales se les administró el trata  
miento, a estos grupos de lechones, se les dejó ali  
mentarse ad-libitum con la leche materna. Así mismo

se observó que la cerda no rechazó a sus crías después de la manipulación para proporcionarles el tratamiento.

Llama la atención que el grupo de lechones alimentados con leche de cerda nodriza al nacimiento, a los ocho días mostraron niveles normales de Igs, similares a los del grupo de lechones alimentados con calostro materno y con el congelado. Este hecho permite señalar la rápida producción de las Igs por el propio cerdo. Aunque los niveles normales de Igs los alcance el lechón en pocos días, la alimentación con el calostro de la propia madre o precongelado es de mucha utilidad durante los primeros días de vida ya que al absorber las Igs del calostro, estas constituyen anticuerpos específicos que protegen al cerdo recién nacido, contra los patógenos hacia los que están dirigidos los citados anticuerpos.

Este trabajo muestra una alternativa para la alimentación de los lechones recién nacidos, con calostro congelado y preservado por 30 días a  $-20^{\circ}\text{C}$ , cuando las madres de dichos animales tienen problemas como el

*síndrome de mastitis, metritis y agaláctea, lo que las imposibilita para alimentar a sus crías de manera natural y protegerlas de las infecciones mediante la transmisión de las inmunoglobulinas contenidas en su calostro.*



**OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA**

**CONCLUSIONES:**

*El almacenamiento del calostro por congelación a  $-20^{\circ}$  C durante 30 días, no alteró la actividad y concentración de Igs.*

*Los lechones que recibieron el calostro congelado, durante las primeras doce horas de vida, elevaron significativamente su contenido inmunoglobulinas a niveles similares a los que recibieron calostro fresco de la propia madre.*

*Este procedimiento constituye un tratamiento alternativo para la protección pasiva de los lechones que por algún problema patológico no pueden recibir calostro materno.*



**OFICINA de  
DIFUSION CIENTIFICA**



## RESUMEN.

Debido a la importancia que tiene el calostro materno para la supervivencia de algunas especies animales, se realizó un estudio en cerdos que tuvo por objeto determinar las posibilidades de conservar calostro mediante congelación durante 30 días, para luego suministrarlo a los lechones y evaluar las propiedades biológicas de las inmunoglobulinas presentes, mediante refractometría, electroforesis e inmunolectroforesis.

Se demostró que la concentración de inmunoglobulinas presentes en el calostro fue normal después del período de almacenamiento, así mismo los animales que recibieron calostro precongelado presentaron niveles elevados de Igs séricas semejantes a los controles de lechones que se suministro calostro materno.

En los lechones que se suministro leche de cerda nodriza, la concentración de Igs se mantuvo baja hasta los 3 días de edad, elevandose la concentración a partir de los 8 días, lo cual demuestra que el sistema inmuno

*competente de los animales, inicia la producción de  
Igs.*

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1.-Baldwin, E. W. Blood as a Substitute for colostrum. *AVMA*. 6: 275-276, 1976.
- 2.-Blecha, F. Cold stress reduce the acquisition of colostrum Immunoglobulin in piglets. *J. Anim. Sci.* 3: 594-600, 1981
- 3.-Brandon, MR. The effect of glucocorticoid on immunoglobulins secretion into colostrum in cows. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 53: 43-48, 1975.
- 4.-Bundy Clarence E., Producción Porcina. Ed. Continental, S. A., 9a. Ed., pp 54, 1969.
- 5.-Collins, M. T.; Dawe, D. L.; Gnatzek, J. B. Immune Response of Channel Catfish Under Different Environmental Conditions. *JAVMA* 69: 991-993, 1976.
- 6.-Cothier, G. Influence of colostrum antibodies on pig immunization against hog cholera virus. *Ann. Rech. Vet.* 9: 245-53, 1978.

- 7.- Cropper MS. M. Prevalence of antibodies to porcine enteroviruses and porcine parvovirus in body fluids of fetal pigs from small vs large litters. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 168: 233-235, 1976.
- 8.- De Geeter, M. J.; Hays, V. W. Kratsen, D. D.; Cromwell, G. L. Reproductive performance of gilts fed diets low in protein during gestation and lactation, *J. Am. Sci.* 35: 772-777, 1972.
- 9.- Elliot, F. R. Effect of dietary protein level on composition changes in sow colostrum and milk. *J. Anim. Sci.* 32: 1128-1137, 1971.
- 10.- Foley, J. A.; Otterby. Availability, Storage, Treatment, Composition and Feeding Value of surplus Colostrum: A Review. *J. Dairy Sci.* 61: 1033-1060, 1978.
- 11.- García Chavez Fco. *Técnicas y Prácticas modernas en la cría del cerdo*. Ed. Mexicanos Unidos, S. A., 2a. Ed., pp 17, 1985.

- 12.- Goodman, J. W. y Wang, A. Cap. 4. En: *Basic & Clinical Immunology*. Ed. H. H. Fundenberg. 3a. Ed. pp 28-43, 1980.
- 13.- Gotoff, S. P. Neonatal Immunity. *J. Pediatr.* 85: 149-154. 1974.
- 14.- Haggerty, R. J. T and B Lymphocyte subpopulations. *J. Pediatr.* 55: 147-161, 1975.
- 15.- Halsey J. F. Transport of immunoglobulins from serum into colostrum. *J. Exp. Med.* 151: 767-772, 1980.
- 16.- Inouse, T. Antibacterial antibodies in swine colostrum. *Am. J. Vet. Res.* 41: 272-273, 1980.
- 17.- Jelliffe, D. B. Colostrum deficiency. *Br. Med. J.* 1 (6180): 1792, 1979.
- 18.- Knop, J. The relative antibacterial efficiency of IgM, IgG, IgA from pig colostrum. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 49: 405-13, 1971.

- 19.- Kruse, P. E. The importance of colostral immuglobulins and the absorption from the intestine of the newborn animals. *Ann. Rech. Vet.* 14: 349-353, 1985.
- 20.- Marple, D. N.; Judge, M. D.; Aberle, E. D. Pituitary and adrenocortical function of stress susceptible swine. *J. Am. Sci.* 35: 995-1000, 1972.
- 21.- Menendez Flores J. A., *Ganado Porcino Ed. Limusa México, 3a. Ed., pp 3-6, 75, 1981.*
- 22.- Metzger J.J. Serum protein profiles in the suckling and non a suckling piglet. The importance of colostrum. *Ann. Rech. Vet.* 9: 301-307, 1978.
- 23.- Milon, A. Influence of birth prematurity on colostrum composition and subsecuent immunity of piglets. *Ann. Rech. Vet.* 14: 533-540, 1983.
- 24.-Morgan D. O. Immune response of neonatal swine to inactivated foot-mouth disease virus vaccine with oil adjuvant. 1. Influence of colostral antibody. *Proc.*

*Annu. Meet. Us. Anim. Health. Assoc.* 81: 244-255, 1977.

25.- Morilla Glez. A., *Inmunología General. Diagnóstico de las enfermedades del cerdo*. Ed. Ramiro Ramirez Nicohea, 10a. Ed., pp 69-119, 1982.

26.- Nagy L. K. *In vitro studies on the antimicrobial effect of colostrum and milk from vaccinated and unvaccinated pig on Escherichia coli*. *Rev. Vet. Sci.* 21: 132-140, 1976.

27.-Olsen R. G.; Krakowka Steven. *Immunology and Immunopathology of domestic animals*. Charles C. Thomas Publisher, pp 258-259, 1979.

28.- Oyeniyi, O. O.; Hunter, A. G. *Colostrum constituents including Immunoglobulins in the three Milking Postpartum*. *J. Dairy Sci.* 61: 44-48, 1978.

29.- Paul, P. S. *Duration and biological half-life of passively acquired colostrum antibodies to porcine parvovirus*. *Am. J. Vet. Res.* 43: 1376-1379, 1982.

30.- Pectom, F. *The agar precipitation technique and its applications as a diagnostic and analytical method.* Oliver and Boyd. Edimburg Tweedale Court London, 1963.

31.-Renshaw, H. W.; Gilmore. R. J. *Alternative and Classical complement pathway activity in sera from colostrum-fed and colostrum-deprived neonatal pigs.* *Immunology.* 41: 203-209, 1980.

32.- Setcavage, T. M. *Variability of the immunological state of germfree colostrum-deprived Minnesota miniature piglets.* *Infect. Immun.* 13: 600-607, 1976.

33.- Stone, S. S.; Kemeny, L. J.; Woods, R. O.; Jensen, M. T. *Efficacy of isolated colostrum IgA, IgG and IgM (A) to Protect Neonatal Pigs Against the Coronavirus of transmissible Gastroenteritis.* *Am. J. Vet. Res.* 38: 1285-1288, 1977.

34.-Stone, S. S.; Phillips, M.; Kemeny, L. J. *Stability of porcine colostrum Immunoglobulina Ig A, IgG<sub>2</sub> and IgM to Proteolytic Enzyme.* *Am. J. Vet. Res.* 40: 607-612, 1979.



35.- Stormont, C. *The role of maternal effects in animal breeding. 1 Passive Immunity in Newborn animals.* *J. Am. Sci.* 35: 1275- 1279, 1972.

36.- Tadashi Kawa. *Clinical aspects of the plasma proteins.* *Fst. Ed. Igaku Shein, LTD, Tokyo pp 193, 1973.*

37.- Tizard R. *Jan. Inmunologia Veterinaria. Ed. Interamericana, 1a. Ed., 1979.*

38.-Wilson, M. R. *Immunity to Escherichia coli in pigs: antienterotoxins in colostrum and serum from vaccinated and non vaccinated sows.* *Can J. Comp. Med.* 35: 249-257, 1971.

