

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA

Suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en vacas parto y su efecto sobre la calidad del calostro y el estado inmunológico de las terneras

Carlos Mario Campos Granados

Proyecto presentado para optar por el título en el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2013

Esta tesis fue aprobada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura.

Ing. Augusto Rojas Bourillon, M.Sc.

Director de Tesis

Ing. Jorge Elizondo Salazar, Ph.D.

Miembro del Tribunal

Ing. Alejandro Saborío Montero, Lic.

Miembro del Tribunal

Ing. José Arce Cordero, Lic.

Miembro del Tribunal

Ing. Jorge Sánchez González, M.Sc.

Director de Escuela

Carlos Mario Campos Granados

Sustentante

DEDICATORIA

A Dios, a mis padres, a mis hermanas y a todas aquellas personas que de una u otra forma tuvieron influencia en mi formación como profesional, y principalmente como ser humano.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme amanecer cada día con la salud necesaria para poder hacer lo que me gusta y por llenarme siempre de tantas bendiciones, en especial por la familia tan increíble que me dio.

A mis padres, Carlos y Odilié, por su amor y apoyo incondicional, sus consejos y por estar ahí siempre que los he necesitado, ya que sin ellos nada de esto sería posible.

A mis hermanas, Johanna y María Fernanda, por ser luces en mi vida y por nunca permitir que decaiga o desfallezca en las situaciones difíciles de la vida.

A todos los profesores de la Escuela de Zootecnia, por haber sido parte importante en mi proceso de formación como profesional y por los consejos y apoyo brindados durante estos años como estudiante.

A don Augusto Rojas y don Orlando Quesada, por haberme permitido realizar este trabajo y por la guía y apoyo brindados durante el desarrollo del mismo.

A don Julio y Álvaro Sancho, por permitirme realizar el experimento en su finca y con sus animales.

A todo el personal de la finca El Plantón, por toda la ayuda y apoyo brindado durante la realización de este trabajo y en especial a don Jhonny Calderón, por ser un gran amigo y por los consejos y tertulias durante todo el tiempo que estuve realizando el trabajo.

A las empresas Vi-cor[®] y Vetim, S.A., por el apoyo económico, que hizo posible la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EVALUADOR.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	ix
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
1. Importancia del consumo y calidad del calostro en las terneras de reemplazo.....	6
2. Importancia de la transferencia de inmunidad pasiva en la salud de las terneras.....	11
3. Sistema inmunológico de las terneras.....	15
4. Las levaduras.....	20
5. Utilización de las levaduras en rumiantes.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
1. Animales y tratamientos utilizados.....	29
2. Determinación de la calidad de calostro.....	32
3. Determinación de la concentración de inmunoglobulinas G en el calostro.....	32
4. Determinación indirecta de la transferencia de inmunidad pasiva de las terneras.....	33
5. Determinación de la concentración de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras.....	33
6. Determinación del estado de salud de las terneras.....	34
7. Determinación del crecimiento de las terneras.....	34
8. Análisis de la información.....	34

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
LITERATURA CITADA.....	48
ANEXOS.....	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Comparación de la composición química del calostro, la leche de transición (2 ^{do} -5 ^{to} día posparto) y la leche entera (a partir del 6 ^{to} día posparto).....	8
2	Composición nutricional de la pared celular y cultivo de levaduras (Celmanax [®]) suministrado a las vacas preparto....	29
3	Composición nutricional del alimento balanceado Parto Plus [®] suministrado a las vacas preparto.....	30
4	Composición nutricional del pasto kikuyo (<i>Kikuyuocloa clandestina</i>) consumido por las vacas preparto.....	30
5	Composición nutricional del alimento balanceado Inmucalf [®] suministrado a las terneras.....	31
6	Composición nutricional del heno de Transvala (<i>Digitaria decumbens</i>) suministrado a las terneras.....	32
7	Producción y calidad del calostro de las vacas en estudio.....	37
8	Peso al nacimiento, proteína sérica total (PST) y concentración de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras en estudio.....	39
9	Peso final y altura a la cruz promedio de las terneras en estudio.....	40
10	Ganancia diaria de peso, crecimiento semanal y conversión alimenticia promedio de las terneras.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Divisiones del sistema inmune.....	20
2	Representación gráfica del patrón de reconocimiento de los receptores de α -glucanos encontrados en los vertebrados y sus efectos a nivel celular.....	25
3	Consumo diario promedio de la dieta sólida de las terneras en estudio.....	41
4	Ganancia diaria de peso promedio de las terneras en estudio....	43
5	Crecimiento semanal de las terneras en estudio.....	44

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Reporte de resultados de la cuantificación de inmunoglobulinas G en calostro y suero sanguíneo bovino obtenidos mediante la prueba ELISA INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG, llevada a cabo en el Laboratorio de Virología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.....	62
2	Materiales y procedimiento de la prueba de ELISA INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG.....	63
3	Confirmación de la realización de la prueba de ELISA INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG, llevada a cabo en el Laboratorio de Virología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.....	66

RESUMEN

Se evaluó el efecto que tiene la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en vacas prontas, sobre la calidad del calostro y el estado inmunológico de las terneras.

El estudio fue realizado en la finca El Plantón, ubicada en Santa Rosa de Oreamuno, Cartago, en 30 vacas de la raza Jersey, de tercer parto promedio, condición corporal preparto de 3,5 y valor relativo promedio de 97, distribuidas en un modelo irrestricto al azar. Se utilizaron dos tratamientos con 15 repeticiones cada uno. El primero fue el control no suplementado y el segundo se suplementó diariamente a partir de los 21 días preparto con 40 g de la pared celular y cultivo de levaduras.

Se cuantificó la concentración de inmunoglobulinas totales y de inmunoglobulinas G en el calostro. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), en la concentración de inmunoglobulinas totales, obteniéndose valores promedio de $90,06 \pm 23,74$ mg/ml y $105,94 \pm 17,59$ mg/ml, para el grupo control y el suplementado, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), para la concentración de inmunoglobulinas G, obteniéndose valores promedio de $168,52 \pm 20,39$ mg/ml y $172,20 \pm 20,80$, para el grupo control y el suplementado, respectivamente.

Se cuantificó la concentración de proteína sérica total y de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), para ninguno de los dos parámetros, obteniéndose valores promedio de proteína sérica total de $8,57 \pm 1,27$ g/dL y $8,24 \pm 1,26$ g/dL para el grupo control y el suplementado, respectivamente. Para la concentración de inmunoglobulinas G, se obtuvo valores promedio de $75,54 \pm 34,59$ mg/ml y $69,79 \pm 34,41$ mg/ml, para el grupo control y el suplementado, respectivamente.

Se cuantificó la ganancia diaria de peso, el crecimiento semanal expresado como altura a la cruz, el consumo de dieta sólida y la conversión alimenticia de las terneras durante las primeras 8 semanas. Solamente se encontraron diferencias

significativas ($p < 0,05$), en el consumo acumulado de la dieta sólida en la semana 8, obteniéndose valores promedio de $1190,7 \pm 13,3$ g y $1136,4 \pm 11,7$ g para el grupo control y el suplementado, respectivamente. Para la ganancia diaria de peso se obtuvieron valores promedio de $382,86 \pm 61,20$ g y $410,94 \pm 51,22$ g, para el grupo control y el suplementado, respectivamente. Para el crecimiento semanal se obtuvieron valores promedio de $1,45 \pm 0,33$ cm y $1,70 \pm 0,31$ cm, para el grupo control y el suplementado, respectivamente. Para la conversión alimenticia se obtuvieron valores promedio de $1,28 \pm 0,11$ y $1,09 \pm 0,09$, para el grupo control y el suplementado, respectivamente.

Se determinó mediante la razón de posibilidades, que la incidencia de diarrea determinada mediante la utilización de una escala de calificación de heces, fue 3,5 veces más posible en el grupo control respecto al grupo suplementado y que la incidencia de neumonía fue 5 veces más posible en el grupo control, respecto al grupo suplementado.

Se concluye que la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras tuvo efecto mejorador sobre la concentración de inmunoglobulinas totales en el calostro de las vacas en estudio y un efecto mejorador en la salud de las terneras en estudio, reflejado en la menor incidencia de enfermedades respiratorias y del tracto digestivo.

INTRODUCCION

La producción agropecuaria es uno de los sectores productivos más importantes, ya que aprovecha los recursos del ecosistema y el funcionamiento ecológico del mismo, para proveer de alimentos y recursos económicos al ser humano.

En nuestro país y a nivel mundial, la actividad lechera ha ofrecido por mucho tiempo a la población, un producto higiénico y nutritivo, rico en proteínas, vitaminas y minerales, además de jugar un papel importante dentro de la economía del país. Según datos de la Cámara Nacional de Productores de Leche (2011), las empresas vinculadas a dicha actividad, representan un 3,6% del total de empresas que se dedican a la industria de alimentos, generando 3748 empleos directos a la población.

Debido a esto, la actividad lechera de nuestro país se ha planteado dos objetivos principales, el primero corresponde al abastecimiento de leche de buena calidad y a un bajo precio, y el segundo orientado a la producción de reemplazos, que aseguren este abastecimiento (Cámara Nacional de Productores de Leche 2011).

Es por esto, que la implementación de un adecuado programa de crianza de terneras, resulta en la obtención de reemplazos de calidad, y esto se logra a través del establecimiento de parámetros que permitan llevar a cabo una evaluación del mismo, especialmente si se piensa en el aspecto económico que involucra el sistema, pues se estima, que hasta un 20% del total de costos de producción de leche en una finca corresponden a la crianza de reemplazos (Heinrichs 1993). Esta evaluación puede realizarse mediante el uso de parámetros meta como transferencia de inmunidad pasiva, estado sanitario de los reemplazos, mortalidades, pesos y ganancias diarias de peso, edad a primer empadre, edad y peso al primer parto, condición corporal y costos, entre otros.

Con la intención de lograr un adecuado programa de crianza de reemplazos, en los últimos años se ha intensificado la búsqueda de suplementos o aditivos nutricionales, que ayuden al desarrollo de una adecuada inmunidad en las madres, y que éstas a su vez se la trasladen a sus hijas, lográndose primordialmente a través de una buena digestión y degradación de los alimentos a nivel ruminal, que desencadena en el abastecimiento de los requerimientos nutricionales por parte de los animales, y con esto, el desarrollo adecuado de un sistema inmune competente y preparado para los diferentes desafíos a los que el animal se debe enfrentar (Magalhaes *et al.* 2008).

Dentro de estos suplementos nutricionales, las levaduras juegan un papel importante, y mucha de la investigación sobre sus efectos en el desarrollo inmune de animales suplementados ha sido mayormente desarrollada en cerdos. En este sentido, se ha encontrado que la inclusión de la cepa SC47 de *Saccharomyces cerevisiae* puede actuar como un inmunoestimulador e inmunoregulador que puede incrementar la resistencia específica para un gran número de bacterias que afectan el tracto respiratorio y digestivo (Martínez 2004). Es importante señalar que en estos animales el efecto de la levadura se manifiesta cuando se ofrece previo al desafío y parece necesario ofrecerla al menos 21 días antes de éste, para así lograr la protección (Pérez *et al.* 2001), lo que bien se lograría explicar por la estimulación de una respuesta inmune inespecífica mediada por inmunidad celular (Martínez 2004).

OBJETIVOS

a. General:

1. Determinar el efecto de la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en vacas preparto sobre la calidad del calostro y el estado inmunológico de las terneras.

b. Específicos

1. Determinar la calidad del calostro producido por las vacas.
2. Cuantificar la concentración de inmunoglobulinas G en el calostro producido por las vacas.
3. Determinar la transferencia de inmunidad pasiva en las terneras.
4. Cuantificar la concentración de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras.
5. Determinar el estado de salud y crecimiento de las terneras.
6. Cuantificar el consumo de la dieta (líquida y sólida) de las terneras.
7. Determinar la conversión alimenticia de las terneras.

REVISIÓN DE LITERATURA

1. Importancia del consumo y calidad del calostro en las terneras de reemplazo

La nutrición y las prácticas de alimentación tienen un impacto muy significativo sobre la salud, el crecimiento y la productividad de las terneras, ya que cuando una ternera nace, representa una oportunidad para mantener o aumentar el tamaño del hato, así como para mejorarlo genéticamente o para aumentar el ingreso económico. De esta forma el principal objetivo de la crianza de terneras desde el nacimiento hasta el destete es la optimización del crecimiento y la reducción de los problemas de salud (Elizondo 2008).

Para lograr dicho objetivo, es necesario entender aspectos básicos de su fisiología y tener conocimiento de las opciones alimenticias que permitan llenar sus necesidades nutricionales. Así por ejemplo, las terneras nacen sin un sistema inmune bien desarrollado y funcional (Robinson *et al.* 1988), por lo que las terneras recién nacidas dependen casi totalmente de la adecuada transferencia pasiva de inmunoglobulinas (Igs) maternas presentes en el calostro. Así, la adquisición de estas inmunoglobulinas a través de la absorción intestinal, se convierte en la principal protección de las terneras contra las enfermedades, hasta que su propio sistema inmune llegue a ser completamente funcional (Elizondo 2007a).

De acuerdo con Donovan *et al.* (1998), aquellas terneras que no consumen la cantidad necesaria de calostro de buena calidad, son de 4 a 6 veces más propensas a enfermarse o morir, en comparación con aquellas que lo consumen, pues las enfermedades e infecciones principalmente a nivel de intestino, se convierten en la causa más común de mortalidad durante las primeras semanas de vida.

Según datos obtenidos por el sistema nacional de monitoreo de salud animal de los Estados Unidos (NAHMS 2007), se determinó que la tasa de mortalidad de

terneras en la etapa de pre-destete se encuentra entre 8-11%, y además se estima que una tercera parte de las muertes que se presentan en las primeras tres semanas de vida, se deben principalmente a una inmunidad pasiva deficiente.

El intestino delgado de las terneras recién nacidas posee la capacidad de absorber inmunoglobulinas solamente durante las primeras 24 horas de vida; por esta razón, alcanzar un consumo temprano y adecuado de un calostro de alta calidad, es el factor más importante de manejo que determina la salud y sobrevivencia de las terneras (Elizondo 2008).

En un artículo publicado por Elizondo (2007a), se indica que el calostro contiene más de 10 millones de células inmunes maternas viables por mililitro, entre las cuales se encuentran los linfocitos T y B, los neutrófilos, los macrófagos, factores de crecimiento y algunas hormonas como la insulina y el cortisol. Estos factores de crecimiento y hormonas juegan un papel muy importante en la adecuada estimulación del desarrollo del tracto gastrointestinal y del sistema inmune en las terneras recién nacidas, que las capacitan para poder desarrollarse adecuadamente.

Además, el calostro es la primera fuente de nutrimentos para las terneras después de que nacen, pues contiene prácticamente el doble de sólidos totales en comparación con la leche, así como un mayor contenido de proteína y grasa, pero con una concentración menor de lactosa, y los niveles de vitaminas y minerales se encuentran en mayores cantidades (Elizondo 2007a). Es especialmente rico en inmunoglobulinas (Igs) o anticuerpos (Ac) que le proporcionan inmunidad al ternero durante los dos primeros meses de vida, así como gammaglobulinas y proteínas, como se observa en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Comparación de la composición química del calostro, la leche de transición (2^{do}-5^{to} día posparto) y la leche entera (a partir del 6^{to} día posparto).

Componente	Calostro	Leche de transición	Leche entera
Sólidos totales, %	23,9	14,9	12,5
Grasa, %	6,7	4,1	3,2
Proteína, %	14,0	5,5	3,2
Inmunoglobulinas, %	6,0	1,7	0,1
Lactosa, %	2,7	4,4	4,9
Minerales, %	1,1	0,9	0,7
Vitamina A, µg/dl	295,0	93,5	34,0

Adaptado de Wattiaux (1996).

Para estimar la concentración de inmunoglobulinas en el calostro y poder determinar si éste es de buena o mala calidad, se utiliza un instrumento conocido como calostrómetro, el cual clasifica el calostro en una escala de colores, así uno de baja calidad le asigna el color rojo, a uno de calidad media el color amarillo y a un calostro de buena calidad le asigna el color verde (Elizondo 2007b).

Otro factor a considerar, tiene que ver con el volumen de calostro que se le suministra a las terneras, pues también afecta considerablemente la adquisición de inmunidad pasiva. Según Rodríguez *et al.* (2010), cuando no se conoce con certeza el contenido exacto de inmunoglobulinas, se recomienda ofrecer a las terneras de 2 a 3 litros de calostro, inmediatamente después de que éstas nacen y se recomienda una segunda toma de igual cantidad cuando las terneras tengan 12 horas de haber nacido.

Para determinar que las terneras han adquirido una adecuada inmunidad pasiva, existe una metodología de laboratorio y tiene que ver con medir la concentración sérica de inmunoglobulinas. Debido a que es una metodología costosa, generalmente a nivel de campo el método más utilizado es una forma

indirecta, que consiste en la extracción del suero sanguíneo de las terneras entre 1 y 7 días de nacidas. Luego con ayuda de un refractómetro de mano, se determina la concentración de proteínas séricas totales. Para un adecuado nivel de inmunidad pasiva, el valor obtenido deberá ser mayor a 5,5 g/dL de suero sanguíneo (Rodríguez *et al.* 2010).

1.1 Factores que influyen sobre la calidad del calostro

La calidad del calostro se ve influenciada por varios factores, los cuales se detallan a continuación:

a) *Raza*: en un estudio realizado por Muller y Ellinger (1981), en Estados Unidos, se encontró que el calostro de vacas Jersey presentaba concentraciones mayores de inmunoglobulinas G (6,65%), inmunoglobulinas A (1,86%) y de inmunoglobulinas M (0,53%) que razas como Ayrshire, Pardo Suizo, Guernsey y Holstein, y dentro de éstas el calostro de vacas Holstein fue más bajo en inmunoglobulinas G (4,12%), mientras que el de Guernsey fue menor en inmunoglobulinas A (0,90%) e inmunoglobulinas M (0,39%).

En nuestro país, Sánchez (2010), realizó un estudio en la zona norte del país, evaluando la transferencia de inmunidad pasiva en terneras, y dentro de esta evaluación se determinó el efecto de la raza sobre la calidad del calostro, obteniéndose un promedio de $89,9 \pm 4,2$ mg/ml de inmunoglobulinas para Holstein y $90,2 \pm 7,1$ mg/ml para Jersey.

b) *Número de lactancia*: uno de los factores asociados a la calidad del calostro y a su alta variabilidad es el número de parto de la vaca, pues se espera que el calostro producido por vacas de primer parto presente menores concentraciones de inmunoglobulinas, respecto al producido por vacas con cuatro o más partos. Al respecto, varios estudios han demostrado un incremento en la concentración de Igs

conforme aumenta el número de lactancias (Robinson *et al.* 1988, Tyler *et al.* 1999, Gulliksen *et al.* 2008), lo que puede deberse a que los animales de mayor edad han sido desafiados por un mayor número de patógenos, con lo cual han tenido que desarrollar aún más su sistema de defensas. En este sentido Muller y Ellinger (1981), evaluaron la concentración de inmunoglobulinas en el calostro de acuerdo al número de parto, y encontraron que la concentración era inferior en novillas de primer parto (5,68%) que de tercero (7,91%) y cuarto (7,53%).

c) *Período seco*: en este sentido es importante tanto la duración como la nutrición de la vaca en este período. En cuanto a la duración, se menciona que períodos secos muy cortos (menores a tres semanas), no dan al animal tiempo suficiente para acumular inmunoglobulinas en la glándula mamaria, por lo que estas no pueden ser transferidas al calostro (Nousiainen *et al.* 1994).

Por otro lado la nutrición es importante, pues investigadores como Hough *et al.* (1990), que han analizado los efectos de nutrientes como la proteína cruda en la dieta y su efecto en la concentración de inmunoglobulinas en calostro, han determinado que esta concentración no se ve afectada al menos a las 24 horas posparto, y esto coincide con lo que mencionan otros autores como Burton *et al.* (1984), los cuales encontraron que la concentración de inmunoglobulinas en el calostro no se ve afectada, pero la absorción por parte de las terneras, si se afecta al hacer una restricción en algún componente de la dieta.

En cuanto al componente energético del calostro, éste depende básicamente del contenido de grasa del calostro bovino, el cual es marcadamente variable (Quigley *et al.* 1995). Estudios como los realizados por Weiss *et al.* (1994) informan que no hay efectos sobre el contenido de grasa del calostro aún con la adición de 200 g de grasa en la dieta durante el período preparto (14 días).

d) *Cantidad producida*: de acuerdo con Elizondo (2007a), el volumen de calostro producido en el primer ordeño posparto influye significativamente sobre la

concentración de inmunoglobulinas, ya que grandes volúmenes de calostro diluyen la concentración de inmunoglobulinas acumuladas en la glándula mamaria. Por lo tanto, la concentración de Igs es más alta en el calostro del primer ordeño y disminuye en los ordeños subsiguientes, y está inversamente relacionada con el nivel de producción de calostro al inicio de la lactancia, lo que significa que vacas altas productoras, pueden tener calostro con una concentración baja de inmunoglobulinas, aún en el primer ordeño después del parto (Morin *et al.* 1997).

e) *Otros*: existen otros factores que pueden afectar las concentraciones de inmunoglobulinas en el calostro, algunos de estos pueden ser programas de vacunación (Roy 1990), temperatura ambiental, pues el estrés calórico puede afectar la composición del calostro y el contenido de inmunoglobulinas (Nardone *et al.* 1997), el ordeño pre-parto o la pérdida de calostro de la ubre por goteo durante los últimos días de gestación que pueden ser motivo de bajas concentraciones de inmunoglobulinas (Elizondo 2007a). También es importante considerar el ambiente, pues las vacas preparto deben encontrarse en el mismo lugar en el cual van a parir para que el calostro contenga anticuerpos contra los agentes infecciosos que hay en ese lugar.

2. Importancia de la transferencia de inmunidad pasiva en la salud de las terneras

A pesar de que existen prácticas de manejo como la adición de uridina 5´monofosfato en los reemplazadores lácteos, que pueden ayudar a mejorar la respuesta inmune del neonato (Mashiko *et al.* 2009), la importancia del calostro y la transferencia en general de inmunidad pasiva no se pone en duda, y sigue siendo el factor principal para asegurar un estado sanitario activo adecuado para el ternero.

Según Elizondo (2007a), las terneras que presentan concentraciones bajas de inmunoglobulinas absorbidas en el suero sanguíneo son más susceptibles a enfermedades e infecciones, debidas a diversos agentes patógenos. Esto se

refuerza con estudios realizados por Corbeil *et al.* (1984), los cuales demostraron que aquellos animales que absorbieron menor cantidad de inmunoglobulinas, fueron más susceptibles a sufrir neumonía durante los primeros 2 meses de edad.

Por esta razón, una apropiada transferencia de inmunidad pasiva representa un factor determinante en la salud y supervivencia de las terneras (McGuirk y Collins 2004). En este sentido, Heinrichs *et al.* (1994), demostraron que terneros con concentraciones bajas de proteínas séricas en sangre entre las 24 y 48 horas de vida, tenían el doble de probabilidades de morir antes de los 2 meses de edad. Por otro lado, Pritchett *et al.* (1991), demostraron que un fallo parcial o total en la transferencia de inmunidad pasiva es el principal factor responsable de enfermedades neonatales y mortalidad en terneros, ya que la mayor línea de defensa para los patógenos invasores son las inmunoglobulinas provenientes del calostro (Denise *et al.* 1989).

2.1 Factores que afectan la transferencia de inmunidad pasiva

La transferencia de inmunidad pasiva en terneras se ve afectada por diversos factores, los cuales se detallan a continuación:

a) *Estado inmune de la ternera al nacimiento*: los bovinos tienen una placenta epiteliochorial que impide el paso de las macromoléculas al ternero, entre ellas las inmunoglobulinas, por lo que esta especie es prácticamente agammaglobulinémica al nacimiento, necesitando la ingestión y absorción de anticuerpos y otros factores que aporten una inmunidad pasiva (Aldridge *et al.* 1992).

Las terneras recién nacidas casi no tienen anticuerpos, a menos que se infecten en el útero. Los niveles circulantes de IgA, IgG₁ e IgG₂, auto producidos no alcanzan niveles significativos en los terneros hasta 16 a 32 días después del nacimiento, lo que significa que la respuesta inmune de los bovinos no es eficaz

durante al menos 2 a 4 semanas posnacimiento (Barrington y Parish 2001). Rajaraman *et al.* (1997) encontraron además que los terneros recién nacidos tienen una concentración muy baja de vitamina A y esto está muy relacionado con el correcto funcionamiento inmunológico, por lo que el ternero recién nacido depende en gran medida de la transferencia de inmunidad pasiva. Se cree que el papel principal para el componente celular del calostro es interactuar con el desarrollo de la inmunidad local y para modular la inmunización activa del intestino neonatal (Barrington y Parish 2001).

b) *Calidad del calostro*: durante mucho tiempo, se ha establecido que la ingesta de calostro ayuda en la adaptación de los terneros a su nuevo ambiente, pues éste es de suma importancia en la transferencia de inmunidad pasiva, en el desarrollo y función del tracto gastrointestinal (GI) y además influencia el sistema metabólico, el sistema endocrino y el estado nutricional neonatal (Stott y Fellah 1983).

Al respecto Quigley *et al.* (1998), encontraron que el calostro de las vacas que no están suplementadas con vitamina E durante el período seco, puede proporcionar cantidades inadecuadas de vitamina E a los terneros después del parto, y esto es importante, ya que algunas vitaminas no cruzan la barrera placentaria, y por ende el calostro es la principal fuente de estos nutrientes para el ternero después del nacimiento.

c) *Habilidad de la ternera para absorber inmunoglobulinas*: el mecanismo de absorción de estas moléculas, según Tizard (2009), es de suma relevancia en las primeras horas después del nacimiento ya que, el nivel de actividad de la proteasa en el tracto digestivo es baja y se reduce aún más por los inhibidores de la tripsina en el calostro, por lo tanto las proteínas del calostro no se degradan y se utilizan como alimento, llegando al intestino delgado de forma intacta. El mecanismo de absorción de estas moléculas es mediado por receptores en las células epiteliales del intestino, llamados FcRn. Estos también se expresan en la glándula mamaria y las células

acinares y probablemente están implicados en la secreción activa de IgG en el calostro. Una vez unidas al receptor FcRn, las moléculas de inmunoglobulinas sufren el proceso de endocitosis por parte de las células epiteliales intestinales y pasan a los conductos lactíferos y, posiblemente, a los capilares intestinales. Finalmente, las inmunoglobulinas absorbidas alcanzan el torrente sanguíneo, y los animales recién nacidos por lo tanto obtienen una transfusión masiva de las inmunoglobulinas maternas.

La absorción intestinal se da en las células por un tiempo limitado después del nacimiento (Elizondo 2007a). De acuerdo con Matte *et al.* (1982), la eficacia de absorción de IgG calostrual por el neonato disminuye con respecto al paso del tiempo, así durante las primeras 6 horas se absorbe el 65,8%, a las 12 horas se absorbe el 46,9%, a las 24 horas el 11,5%, a las 36 horas el 6,7% y a las 48 horas apenas el 6,0%. La absorción de macromoléculas en las células parece no ser selectivo; sin embargo, algunas sustancias no se transfieren a la sangre (Bush y Staley 1980). El cese de la transferencia de material desde las células epiteliales a la sangre se produce espontáneamente a una velocidad progresivamente mayor después de 12 horas de edad, con una media de tiempo de cierre aproximadamente a las 24 horas. Las proporciones de las diferentes clases de inmunoglobulinas en el suero de los terneros después de la ingestión de calostro reflejan las proporciones en el calostro cuando la absorción se ha completado (Bush y Staley 1980).

d) *Peso al nacimiento de la ternera*: este factor tiene diferentes consideraciones. Para Pellerin (1982), los terneros de peso muy elevado o muy bajo al nacimiento presentan tasas séricas de Igs menores, pero Dobbelaar *et al.* (1987), no encontraron asociación entre el peso del ternero al nacimiento y el contenido sérico de inmunoglobulinas de los mismos, luego de la ingestión de calostro.

e) *Acidez respiratoria*: la acidosis al nacimiento puede ser el resultado de un cierto número de desafíos que los terneros enfrentan durante el nacimiento y las primeras horas de vida. Algunos investigadores han determinado que existe una

correlación entre la acidosis respiratoria y la habilidad de los terneros neonatos para absorber las inmunoglobulinas del calostro. El mecanismo exacto que interfiere con la capacidad de absorción no es comprendido enteramente en la actualidad. Sin embargo existe información contradictoria con respecto al incremento del aumento de la presión de dióxido de carbono (pCO₂) arterial y la absorción de inmunoglobulinas del calostro (Quigley *et al.* 2001).

La cantidad total de inmunoglobulinas ingeridas por unidad de peso corporal está delimitada por la cantidad consumida de calostro y la concentración de éstas, por lo que al momento del nacimiento, es el factor más importante que determina la concentración de éstas en el suero (Hancock 1985). En contraste, la eficiencia de absorción de otras inmunoglobulinas como la IgM disminuye a medida que la ingesta aumenta, por lo que la ingestión de una mayor cantidad de IgM no aumenta la cantidad absoluta absorbida (Bush y Staley 1980).

Pritchett *et al.* (1991), han observado que terneras alimentadas con 2 L de calostro alto en inmunoglobulinas a las 0 y 12 h tuvieron concentraciones de IgG₁ en suero significativamente más altas a las 8, 12, 24 y 48 horas de nacidas que terneras alimentadas de manera semejante con calostro con concentraciones bajas.

3. Sistema inmunológico de las terneras

Es bien sabido que la resistencia efectiva contra las infecciones es fundamental, y es por esto que el organismo de las terneras no dispone únicamente de un mecanismo de defensa. Para ser eficaz y confiable, deben estar disponibles múltiples sistemas de defensa. Algunos de estos pueden ser efectivos contra diversos invasores, otros sólo pueden destruir ciertos organismos específicos; algunos actúan en la superficie del cuerpo para excluir a los invasores; otros actúan profundamente dentro del cuerpo para destruir los microorganismos que han violado

las defensas exteriores. Algunos defienden contra las bacterias invasoras, algunos contra los virus que viven dentro de las células, y algunos incluso contra grandes invasores, tales como hongos, parásitos, gusanos e insectos (Tizard 2009).

Con la intención de cumplir con estos objetivos, el cuerpo ha desarrollado un complejo sistema de superposición e interrelación de mecanismos de defensa, que juntos pueden destruir o controlar casi todos los invasores. Como menciona Tizard (2009), un fallo en estas defensas, ya sea porque el sistema inmunológico es destruido, como ocurre en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) o porque el microorganismo invasor puede superar o eludir las defensas, dará lugar a la enfermedad y posiblemente a la muerte. Un sistema inmune eficaz no es simplemente un sistema útil para el organismo, sino que es fundamental para la vida misma.

Debido a que la mayoría de situaciones de enfermedad o problemas sanitarios en las terneras son causadas por microorganismos, se debe tener en cuenta la capacidad de éstos para causar la enfermedad o para evadir las defensas del cuerpo. Esta capacidad se denomina virulencia. Así, un organismo altamente virulento tiene una capacidad mayor para vencer al sistema inmunológico y causar la enfermedad, en comparación con un microorganismo con baja virulencia. Si una bacteria puede causar enfermedad casi cada vez que invade un individuo sano, incluso en bajas cantidades, entonces se considera un patógeno primario. Ejemplos de patógenos primarios incluyen el virus del moquillo canino, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que causa el SIDA, y la *Brucella abortus*, que es la principal causa de abortos contagiosos en el ganado bovino. Otros patógenos pueden ser de tan baja virulencia que sólo causarán enfermedad si se administran en dosis muy altas o si las defensas inmunes del cuerpo se ven afectadas primero. Estos son patógenos oportunistas. Ejemplos de patógenos oportunistas incluyen bacterias tales como *Mannheimia haemolytica* y hongos tales como *Pneumocystis carinii*. Estos organismos rara vez, o nunca, causan enfermedades en los animales sanos (Tizard 2009).

3.1 Las defensas del cuerpo

La ternera cuenta con tres sistemas principales de defensa (Tizard 2009): las barreras físicas, la inmunidad innata y la inmunidad adquirida.

a) *Barreras físicas*: las defensas más eficaces del cuerpo implican la prohibición de entrada. Sin estas barreras defensivas, el éxito es casi imposible. El cuerpo emplea múltiples niveles de defensa, como resultado, un organismo que ha tenido éxito en superar la primera capa de defensa se enfrenta a continuación, con la necesidad de superar una segunda barrera más alta, y así sucesivamente. La primera y más obvia de estas capas es la piel, ya que ésta proporciona una barrera eficaz a la invasión microbiana. Si está dañada, pueden producirse infecciones, sin embargo, la cicatrización de heridas asegura que la barrera se restablezca rápidamente. En otras superficies del cuerpo, como en los tractos respiratorio y gastrointestinal, algunas defensas físicas simples incluyen los procesos de auto limpieza, como la tos, los estornudos, y el flujo de moco en las vías respiratorias; la diarrea y el vómito en el tracto gastrointestinal, y el flujo de la orina en el sistema urinario. La presencia de una flora normal bien establecida sobre la piel y en el intestino, también excluyen a muchos invasores potenciales.

b) *Inmunidad innata*: si bien es cierto las barreras físicas, son las primeras líneas de defensa del organismo, no son totalmente eficaces. Teniendo en cuenta el tiempo y la persistencia, un microorganismo invasor eventualmente puede superar simples obstáculos físicos. Sin embargo, los animales no están constantemente enfermos, porque los intentos de invasión son bloqueados antes de que puedan resultar en la enfermedad y esta es la principal tarea del sistema inmune innato. Esta segunda capa de defensa por lo tanto, consiste en responder rápidamente con mecanismos de defensa celulares y químicos. La inmunidad innata se basa en el hecho de que los microorganismos invasores difieren químicamente de los componentes normales del cuerpo. Así, los animales tienen enzimas que pueden digerir las paredes celulares de las bacterias y proteínas de unión a carbohidratos

que se adhieren a las bacterias y aceleran su destrucción. Los animales también tienen células que pueden reconocer las moléculas comúnmente asociadas con microorganismos invasores y los matará. El cuerpo de un animal puede enfocar sus mecanismos de defensa innatos en los sitios de invasión microbiana en el complejo conjunto de reacciones que llamamos inflamación. Durante la inflamación, los cambios en los tejidos provocados por la invasión microbiana o por daños en los tejidos producen un aumento del flujo de sangre y la acumulación de células que pueden atacar y destruir los invasores, estas células, llamadas neutrófilos y macrófagos, pueden destruir la mayoría de los organismos invasores y así evitar su propagación a las zonas no infectadas del cuerpo.

Así como existen células especializadas en atacar a los microorganismos invasores, también existen enzimas que se activan por la presencia de invasores y éstas forman lo que se conoce como el sistema del complemento. Ejemplos de estas enzimas son la lisozima que se encarga de digerir los carbohidratos y las proteínas de unión a carbohidratos de las bacterias. Algunas de estas moléculas pueden circular todo el tiempo, mientras que otras son inducidas por la presencia de bacterias o tejidos dañados. Estas proteínas se pueden unir a los organismos invasores y acelerar su destrucción. El sistema inmune innato carece de cualquier forma de memoria, y cada infección se trata de forma idéntica. Por lo tanto, la intensidad y la duración de los procesos tales como la inflamación, se mantienen sin cambios no importa cuántas veces se encuentra un invasor específico. Por otra parte, siempre está listo para responder inmediatamente una vez que se detecta un invasor.

c) *Inmunidad adquirida*: la inflamación y los otros componentes del sistema inmune innato son críticos para la defensa del cuerpo. Aquellos animales que no tienen una respuesta innata efectiva morirán a causa de infecciones. Sin embargo, estos mecanismos innatos no pueden ofrecer la solución definitiva para la defensa del cuerpo. Lo que realmente se necesita es un sistema de defensa que reconozca y destruya los invasores y aprender del proceso, en caso de que estos vuelvan a

invadir serán destruidos con mayor eficacia. Este tipo de respuesta adaptativa es la función del sistema inmune adquirido, al cual le toma varios días para convertirse en efectivo. El sistema inmune adquirido es un sistema complejo y sofisticado que ofrece la mejor defensa del cuerpo. Su importancia se ve fácilmente cuando es destruido. Una diferencia clave entre los sistemas inmunes innatos y adquiridos reside en el uso de los receptores para reconocer a los invasores extraños. El sistema innato utiliza receptores preexistentes que pueden unirse a moléculas y patrones moleculares que se encuentran comúnmente en muchos microbios diferentes. En contraste, las células del sistema inmune adquirido generan aleatoriamente un enorme número de receptores estructuralmente únicos y estos se pueden unir a una enorme variedad de moléculas extrañas.

El sistema inmune adquirido puede reconocer a los invasores extranjeros, destruirlos, y conservar la memoria del encuentro. Si el animal se encuentra con el mismo organismo una segunda vez, el sistema inmune responde más rápidamente y más eficazmente. Esto se debe primordialmente a la diversidad de posibles invasores, los cuales se dividen en dos grandes categorías. La primera consiste en los organismos que se originan fuera del cuerpo y éstos incluyen la mayoría de las bacterias y hongos, así como muchos protozoos y helmintos invasores. La segunda categoría está formada por los organismos que tienen su origen o que viven en el interior de las células y éstos incluyen los virus y las bacterias intracelulares o protozoos. Por lo tanto, el sistema de inmunodeficiencia adquirida consiste en dos ramas principales que defienden contra cada una de estas dos categorías de los invasores. Así, una rama del sistema inmune se dirige contra los invasores extracelulares. Las proteínas llamadas anticuerpos promueven la destrucción de los invasores. Este tipo de respuesta inmune se denomina a veces la respuesta inmune humoral (Figura 1), ya que los anticuerpos se encuentran en los fluidos corporales (o "humores"). La otra rama principal del sistema inmune se dirige contra los invasores intracelulares que invaden las células. Células especializadas se encargan de destruir a las células infectadas o anormales. Por lo tanto, este tipo de respuesta se llama la respuesta inmune mediada por células.

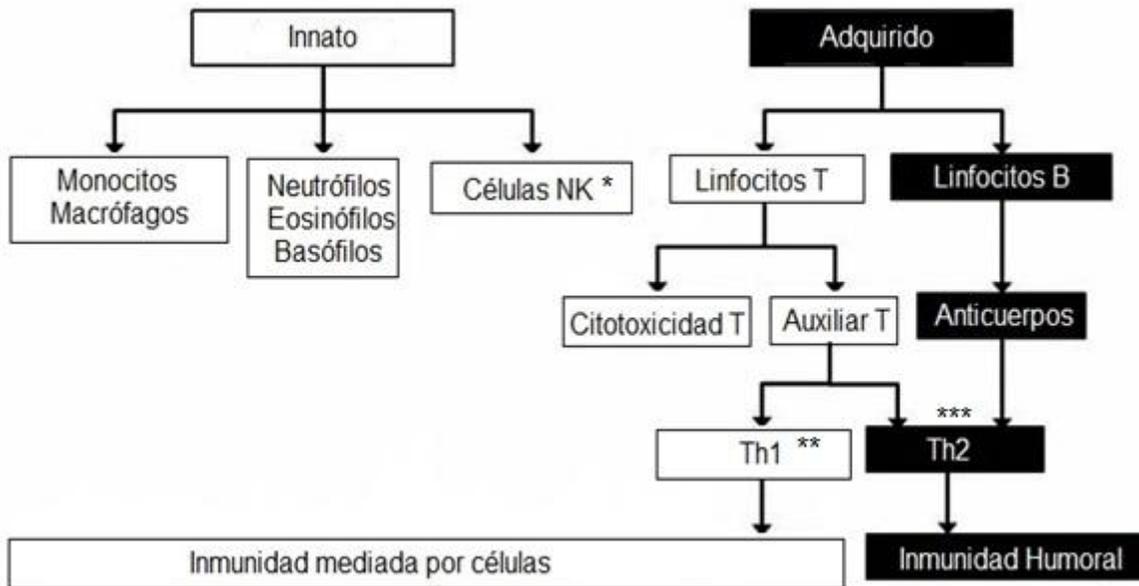


Figura 1. Divisiones del sistema inmune (Adaptado de Warren 2008).

*Células NK: Asesinas naturales (del inglés Natural killer).

**Th1: Células ayudantes T1 (del inglés T helper 1).

***Th2: Células ayudantes T2 (del inglés T helper 2).

Debido a la importancia que tiene el adecuado desarrollo del sistema inmune en las terneras, en los últimos años se ha intensificado la búsqueda de suplementos o aditivos nutricionales, que ayuden al desarrollo de una adecuada inmunidad en las madres, y que estas a su vez se la trasladen a sus hijas, lográndose primordialmente a través de una buena digestión y degradación de los alimentos a nivel ruminal, que desencadena en el cumplimiento de los requerimientos nutricionales por parte de los animales, y con esto, el desarrollo adecuado de un sistema inmune competente (Magalhaes *et al.* 2008). Dentro de estos suplementos, las levaduras juegan un papel importante, y sus efectos se detallan a continuación.

4. Las levaduras

La levadura es un hongo heterotrófico que no contiene clorofila, de acuerdo con Alvarado y Vega (2002), vive en una gran variedad de ambientes naturales y

forma colonias, y su clasificación dependerá del tipo de azúcar que fermente. Son microorganismos unicelulares, adaptados a vivir en medios adversos, con valores de pH extremos, salinidad y en medios con o sin presencia de oxígeno.

La utilización de levaduras en dietas y formulación de alimentos para rumiantes tiene una larga historia. En el año de 1925, se publicó por primera vez un reporte sobre el uso de levaduras como suplemento alimenticio para vacas lecheras y la levadura utilizada fue el desecho de la industria cervecera (Steckley *et al.* 1979, Johnson y Remillard 1983).

Las levaduras han sido usadas durante muchos años como una fuente de proteína de alta calidad en las dietas para animales. Su alto contenido en vitaminas, enzimas y otros importantes co-factores también las hacen atractivas como una ayuda digestiva con efectos positivos en animales rumiantes y monogástricos (Auclair 2000). El caso de las levaduras es muy interesante, pues durante décadas ha sido utilizado como agente preventivo y terapéutico para la diarrea y otros problemas gastrointestinales en humanos. Las levaduras son incorporadas a las dietas con el propósito de mejorar la salud y sobre todo el desempeño de los animales y mejorar sus características zootécnicas.

La utilización de las levaduras beneficia al hospedero en varios aspectos (Ducluzeau y Bensaada 1982): pueden actuar como probióticos o prebióticos (mananoligosacáridos); producción de minerales (por selección de cepas ricas en Se y Cr o por enriquecimiento del medio de cultivo con estos minerales), de vitaminas (hidrosolubles del complejo B) y de enzimas (fitasas); promueven el crecimiento; mejoran la eficiencia alimenticia; mejoran la absorción de nutrientes mediante el control de la diferenciación y proliferación de las células epiteliales del intestino; eliminan y controlan microorganismos intestinales que producen enfermedades subclínicas o clínicas; estimulan la inmunidad no específica y específica en el intestino; reducción del olor de las excretas.

4.1 Tipos de levaduras de uso zootécnico

Las levaduras de uso zootécnico se pueden clasificar de la siguiente forma (Hubbert 1987, Lee *et al.* 2000, Conzelmann *et al.* 1988):

a) Levadura muerta: corresponde principalmente a subproductos de la elaboración de alimentos para humanos (panificación y cervecería), pues son expuestas a altas temperaturas en dichos procesos.

b) Levadura viva: como su nombre lo indica son colonias de levaduras vivas, generalmente mezcladas con materias primas.

c) Cultivos de levaduras: están compuestos por una mezcla de microorganismos (hongos unicelulares y levaduras), enzimas, vitaminas, medios de cultivo y factores no identificados relacionados con la levadura, que tienen efectos benéficos en la fermentación ruminal. Los cultivos de levaduras presentan varias características importantes: no son patógenos, ni tóxicos; no se absorben en el tracto digestivo; no dejan residuos en los tejidos animales; se utilizan en pequeñas cantidades; proliferan *in vivo* e *in vitro*; promueven el crecimiento de bacterias celulolíticas; son estables a temperaturas elevadas y no causan mutación.

d) Componentes de la pared celular: los principales componentes de la pared celular de las levaduras son los mananoligosacáridos y los β -glucanos, en proporciones más o menos iguales, y pequeñas cantidades de N-acetil glucosamina. Estas moléculas, realizan un papel muy activo en el incremento de la inmunidad innata de los animales, además son capaces de inhibir la colonización por patógenos en el tracto digestivo, absorben micotoxinas, estimulan la secreción de una proteína que se conjuga con la manosa del hígado, la cual se une a la cápsula de las bacterias invasoras y desencadenan el sistema de fijación del complemento.

5. Utilización de levaduras en rumiantes

La mayoría de componentes de la dieta de los rumiantes son degradados por numerosos microorganismos anaeróbicos presentes en el fluido ruminal. Esta situación le confiere al ecosistema del rumen un papel clave en la respuesta del rumiante a la dieta y por consiguiente a la consecución de los objetivos de la actividad lechera como lo son, altos niveles de producción y un adecuado desarrollo inmunológico de los animales, que desencadene en menor incidencia de enfermedades y desórdenes metabólicos.

En la industria bovina, las levaduras parecen ser el enlace crucial entre la salud animal y la producción comercial, debido a que se ha probado científicamente que éstas ayudan a los rumiantes en la conversión alimenticia, ganancia de peso, y capacidad inmunológica. La incidencia de múltiples enfermedades se ha reducido en gran medida al agregar levaduras en las dietas (Magalhaes *et al.* 2008).

La utilización de levaduras en dietas para rumiantes ha sido estudiada en diferentes universidades del mundo. De acuerdo con Desnoyers *et al.* (2008), el éxito en la utilización de estos organismos se debe principalmente a los carbohidratos complejos que favorecen la salud del intestino a través de al menos tres mecanismos:

a) *Absorción de patógenos entéricos*: la pared celular de la levadura contiene mananooligosacáridos (MOS), los cuales ocupan el sitio en el cual se adhiere el patógeno a la pared intestinal, previniendo así el ataque de éstos al tracto digestivo. Este efecto se debe a que las bacterias patógenas poseen unas fimbrias específicas de manosa, que utilizan para adherirse al epitelio. Los MOS se adhieren a estas fimbrias, bloqueando la capacidad de adhesión de las bacterias, y reduciendo así la colonización del tracto digestivo con patógenos, y también han demostrado ser capaces de neutralizar toxinas alimentarias, reduciendo así el esfuerzo de detoxificación del hígado.

b) *Modulación del sistema inmune*: hay un estímulo de los niveles de respuesta inmunológica, tanto humoral como celular, que promueve la proliferación de microorganismos benéficos que trabajan en la exclusión de microorganismos patógenos creando así una competencia entre éstos. Se ha reportado que tienen gran cantidad de propiedades anti-infecciosas sin inducir la activación de leucocitos o la estimulación de citoquinas pro-inflamatorias (Antje *et al.* 1995, Cisneros *et al.* 1996, Onderdonk *et al.* 1992). Estrada *et al.* (1999), reportaron mejoras en la proliferación de linfocitos y en otros parámetros inmunes en la sangre, que incluyeron, respuestas de anticuerpos a los antígenos específicos, respuestas a la proliferación de linfocitos antígenos, números de leucocitos diferenciales y la concentración de hierro y zinc, en toretes de engorde. Eicher *et al.* (2011), encontraron disminuciones en la detección de casos positivos, adherencia y patogenicidad de la *Salmonella Dublín* y en la respuesta inmune innata en los terneros recién nacidos, al ser suplementados con β -glucanos y ácido ascórbico.

c) *Los β -glucanos y el receptor Dectina-1*: la capacidad de los β -glucanos para modular la inmunidad se ve influenciada por la longitud del polímero, grado de ramificación, y la estructura terciaria. A pesar de que aún no se conoce del todo, se sabe que estos atributos influyen en la forma en que los carbohidratos interactúan con sus receptores, particularmente el Dectina-1. De acuerdo con Tsoni y Brown (2008), las partículas grandes de β -glucanos, tales como el curdlano y el zimosán, son capaces de activar directamente a los leucocitos, potenciando la fagocitosis, la actividad antimicrobiana, y la producción de citoquinas, quimiocinas y otras mediadoras de procesos inflamatorios. Las de tamaño intermedio, tales como el fosfato de glucano fosfato, son activos in vivo, sin embargo, no parece desencadenar respuestas de leucocitos in vitro, pese a que hay evidencia de que pueden activar los factores de transcripción, incluyendo NF κ B, inducir la producción de un número limitado de citoquinas, y modular la inflamación mediante la estimulación de la vía de la fosfoinositida-3-quinasa. Las de tamaño pequeño o peso molecular bajo, tales como la laminarina, son biológicamente inactivos, tanto in vitro como in vivo. Es notable que a pesar de que los vertebrados no poseen β -glucanos, la longevidad de

estos carbohidratos en los sistemas de mamíferos es lo que contribuye a su actividad.

La respuesta de los vertebrados a los β -glucanos parece estar mediada principalmente por los receptores de la superficie celular y, a pesar de que la opsonización (proceso de marcado de células extrañas de parte del fagocito para su destrucción) se da esta no contribuye al reconocimiento de las partículas de β -glucanos, por lo que no se han descrito moléculas de plasma conocidas que puedan reconocer a estos carbohidratos. La actividad del receptor de β -glucano ha sido identificado tanto en células inmunes como en células no inmunes, incluyendo monocitos, macrófagos, neutrófilos y células de Langerhans, eosinófilos, células asesinas naturales (NK), células endoteliales, células epiteliales alveolares y fibroblastos (Brown y Gordon 2005). Un número de receptores celulares han sido implicados en estas actividades, incluyendo el Receptor Complementario 3 (CR3), la lactosilceramida (LacCer), los receptores Scavenger y la Dectina-1 (Figura 2). Se cree que el reconocimiento celular está mediado por combinaciones de estos receptores (Battle *et al.* 1998), pero sólo para la Dectina-1 se ha demostrado claramente su papel en las respuestas celulares a estos carbohidratos.

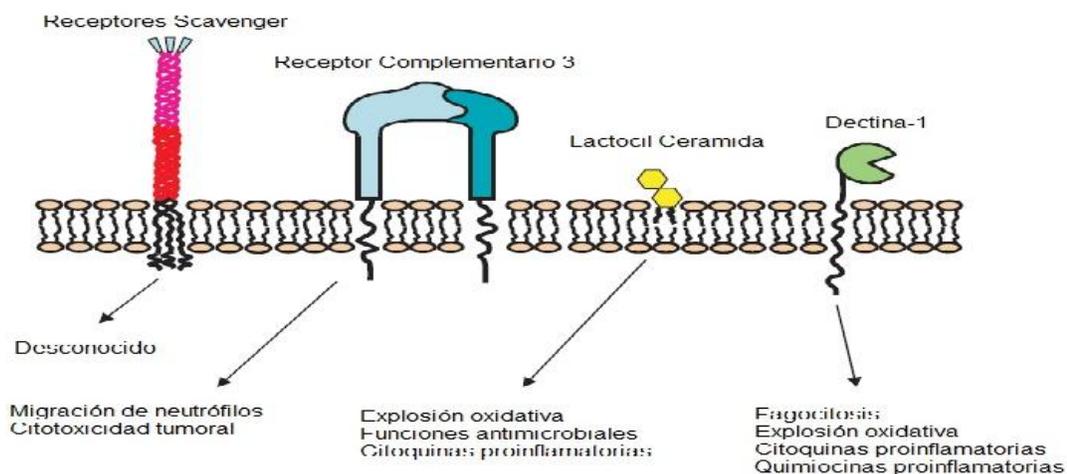


Figura 2. Representación gráfica del patrón de reconocimiento de los receptores de β -glucanos encontrados en los vertebrados y sus efectos a nivel celular (Adaptado de Brown y Gordon 2005).

La incorporación de estos aditivos microbiales se ha convertido en una práctica común en las lecherías, pero la mayoría de estudios se han realizado en vacas en producción y en estudios in vitro. Algunos de estos estudios in vitro han demostrado que las levaduras y los cultivos de levaduras estimulan el desarrollo de las bacterias celulolíticas, las cuales se encargan de la degradación de la fibra a nivel ruminal, situación beneficiosa tanto para animales adultos, como para las terneras en desarrollo (Maghalaes *et al.* 2008).

Algunas cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, han favorecido el establecimiento de las bacterias fibrolíticas en el tracto digestivo, lo que acelera la actividad microbiana en el rumen, que favorece la transición de dietas líquidas a dietas sólidas en animales jóvenes (Maghalaes *et al.* 2008).

Esta mejora en la actividad microbiana en el rumen, puede explicar las mejoras observadas en el crecimiento de terneras alimentadas con levaduras. Esta situación es clave en el momento en que las terneras hacen la transición de dietas, pues el riesgo de diarreas tiende a disminuir con el uso de levaduras (Maghalaes *et al.* 2008).

5.1 Suplementación con levaduras en terneras

En diversos estudios se ha encontrado que la suplementación con cultivos de levaduras tiene efectos positivos sobre el desarrollo del sistema inmune y gastrointestinal en las terneras. Al respecto Lesmeister *et al.* (2004), encontraron que al incluir 2% de cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* en preiniciadores se obtuvieron mejores ganancias de peso y consumos de materia seca, ambos indicadores del buen desarrollo inmune de las terneras. También Seymour *et al.* (1995), reportaron disminuciones en la incidencia de altas temperaturas corporales en terneras cuando se suplementó con 1% de cultivos de levaduras en la ración total, así como una disminución en la utilización de antibióticos durante los primeros 46 días de vida. Fonty y Chaucheyras-Durand (2006), sugieren que los beneficios y

mejoras en el desempeño de las terneras se pueden asociar con la mejora en el crecimiento y actividad de las bacterias degradadoras de fibra y hongos, estabilización del pH ruminal, disminución en la acumulación de ácido láctico, mejora en la colonización del rumen y el desarrollo del proceso de fermentación durante el período de destete. Además, las levaduras proveen factores de crecimiento para los microorganismos ruminales, aumento de condiciones anaeróbicas en el rumen y competencia con otros microorganismos.

Cole *et al.* (1992), reportaron que terneros expuestos a un desafío con Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR, por sus siglas en inglés), suplementados con cultivos de levaduras tuvieron mejores respuestas en cuanto a consumo de materia seca y ganancias de peso, con respecto a aquellos que no se suplementaron.

Eicher *et al.* (2010), encontraron mejoras en la respuesta inmune innata de terneros sometidos a estrés de transporte, cuando éstos eran suplementados con cultivos y pared celular de levaduras, lo que supone una forma muy interesante de contrarrestar los posibles efectos negativos que siempre involucra el transporte de animales, en especial de animales jóvenes.

En cuanto a mejora en inmunidad, Galvao *et al.* (2005), reportan que terneras suplementadas con levaduras en el alimento preiniciador, tuvieron una disminución significativa en días con diarrea, así como una menor utilización de antibióticos.

5.2 Suplementación con levaduras en vacas adultas

De igual forma, la mayoría de experiencias en la utilización de levaduras en la suplementación de vacas son positivas, pues como reportan Piva *et al.* (1993), se observan mejoras en el consumo de materia seca, producción de leche y composición de la leche en las vacas suplementadas con respecto a las que no fueron suplementadas, y determinaron que dicha mejora está directamente relacionada con la etapa de lactancia, el forraje suministrado, la estrategia de

alimentación y la relación forraje:concentrado. Wohlt *et al.* (1998), encontraron que si esta suplementación se realiza desde que la vaca está en el período de preparto se mejora el consumo de materia seca y la producción de leche en vacas Holstein hasta las 18 semanas de lactancia. Dann *et al.* (2000), también encontraron aumentos en el consumo de materia seca durante los primeros siete días posparto, etapa crítica de consumo para las vacas lecheras, así como una disminución en la pérdida de condición corporal en esta etapa, asociada al mayor consumo de materia seca. Robinson y Garrett (1999), encontraron mejorías en los parámetros ruminales, tales como pH, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y digestibilidad total de los nutrientes que ingresan al rumen, así como mejorías en el consumo de materia seca de la dieta de producción, con altos niveles de carbohidratos solubles y proteína. Ibrahim *et al.* (2010), reportaron mejoras en contenido de microorganismos ruminales asociado a que las levaduras proveen de factores de crecimiento para éstos, así como aumentos en concentración de AGV, mejora en condición corporal (CC) al parto y disminución en la pérdida de CC posparto. Nocek *et al.* (2011), encontraron mejoras en producción de leche, grasa y proteína láctea y mejoras en la salud de la glándula mamaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales y tratamientos utilizados

El experimento se realizó en la finca lechera El Plantón ubicada en Santa Rosa de Oreamuno, Cartago, en 30 vacas preparto de la raza Jersey, con similar número de parto (3°), condición corporal preparto (21 días) de 3,5 y con valor relativo promedio de 97, el cual fue obtenido en el programa de computación Vampp® Bovino.

Se utilizaron dos tratamientos con 15 repeticiones cada uno. El primero fue el control no suplementado y el segundo se suplementó diariamente a partir de los 21 días previos a la fecha proyectada de parto con 40 g de la pared celular y cultivo de levaduras, cuya composición nutricional se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición nutricional de la pared celular y cultivo de levaduras (Celmanax®) suministrado a las vacas preparto.

Nutriente*, %	Contenido
Humedad	12,00
Proteína Cruda mínima	20,00
Extracto Etéreo mínimo	1,00
Fibra Cruda máxima	10,00

*Fuente: Vi-cor® Dairy Products.

La dieta de las vacas preparto consistía de 3 kg de alimento balanceado Parto Plus® de Dos Pinos, cuya composición nutricional se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Composición nutricional del alimento balanceado Parto Plus® suministrado a las vacas preparto.

Nutriente*	Contenido
Humedad máximo (%)	13,0
Proteína Cruda (%)	14,0
Extracto Etéreo (%)	3,0
Fibra Cruda (%)	10,0
Energía Digestible mínimo (kcal/kg)	3350,0
Calcio mínimo (%)	0,1
Calcio máximo (%)	0,2
Fósforo mínimo (%)	0,3
Monensina sódica (mg/kg)	50,0

*Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad, Dos Pinos.

Además del alimento balanceado, las vacas consumían a libre voluntad en el potrero pasto kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*), cuya composición nutricional se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Composición nutricional del pasto kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) consumido por las vacas preparto.

Nutriente*, %	Contenido
Materia Seca	16,50
Proteína Cruda	23,00
Extracto Etéreo	3,63
Fibra Detergente Neutro	61,00
Fibra Detergente Ácido	32,30
Lignina	5,88
Cenizas	10,60

*Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad, Dos Pinos.

1.1 Manejo y alimentación de las terneras

El método de suministro de calostro para todas las terneras nacidas, fue mediante chupón, en una sola toma de 3 litros en las primeras dos horas después del nacimiento.

La dieta de las terneras consistía de 4 litros diarios de leche entera, alimento balanceado Inmucalf® de Dos Pinos a partir del día 3 de nacidas, cuya composición nutricional se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Composición nutricional del alimento balanceado Inmucalf® suministrado a las terneras.

Nutriente*	Contenido
Humedad máxima, %	13,00
Proteína Cruda mínimo, %	18,00
Extracto Etéreo mínimo, %	3,00
Fibra Cruda máximo, %	6,00
Energía Digestible mínimo, kcal/kg	3300,00
Energía Neta de Ganancia, Mcal/kg	1,65
Calcio mínimo, %	0,80
Calcio máximo, %	1,00
Fósforo mínimo, %	0,60
Sal común mínimo, %	0,45
Sal común máximo, %	0,55
Monensina sódica, mg/kg	100,00

Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad, Dos Pinos.

A partir de la semana 7, se les ofrecía a las terneras heno de Transvala (*Digitaria decumbens*), cuya composición nutricional se muestra en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Composición nutricional del heno de Transvala (*Digitaria decumbens*) suministrado a las terneras.

Nutriente*, %	Contenido
Materia Seca	80,10
Proteína Cruda	5,92
Extracto Etéreo	2,28
Fibra Detergente Neutro	63,92
Fibra Detergente Ácido	57,70
Lignina	9,20
Cenizas	12,80

*Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad, Dos Pinos.

2. Determinación de la calidad de calostro

Una vez que las vacas parían se procedía a ordeñar el calostro del primer ordeño con equipo automático, luego se pesaba y se tomaba una muestra a 25°C para la posterior determinación de la concentración de inmunoglobulinas totales (mg/ml), mediante el uso de un calostrómetro de mano (Colostrometer™ Biogenics, Mapleton, Oregon, USA).

3. Determinación de la concentración de inmunoglobulinas G en el calostro

Después de determinar la cantidad total de inmunoglobulinas, se procedió a tomar una muestra de calostro de aproximadamente 50 ml, para congelarlo, y luego determinar la concentración de inmunoglobulinas G (IgG) (mg/ml), mediante la prueba de ELISA, INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG Kit producido en Estados Unidos por Zeptometrix Corporation. La lectura de la prueba fue realizada en el Laboratorio de Virología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

4. Determinación indirecta de la transferencia de inmunidad pasiva de las terneras

Se procedió a tomar una muestra de sangre, mediante el método propuesto por Trotz-Williams *et al.* (2008), de venopunción yugular, tomando una muestra de aproximadamente 10 ml de sangre, de las terneras entre 24-48 horas de nacidas.

Seguidamente las muestras se manejaron de acuerdo al método propuesto por Jonhson *et al.* (2007), en el cual las muestras se almacenaron a una temperatura aproximada de 4°C por un período de tiempo no mayor a 24 horas. Una vez que se cumplía ese período de tiempo, se centrifugaba cada una de las muestras a 3000 rpm durante 15 minutos. Una vez centrifugadas, se tomó una o dos gotas del líquido sobrenadante del tubo (suero sanguíneo) y se procedió a realizar la lectura por medio de un refractómetro de mano (Atago Master-SUR/N , Bellevue, Washington, USA), el cual provee una lectura de la concentración de la proteína sérica total (g/dL de suero sanguíneo).

5. Determinación de la concentración de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras

Una vez determinado indirectamente el estado inmunológico de las terneras, se procedió a determinar la concentración de inmunoglobulinas G (mg/ml), presentes en el suero sanguíneo de las terneras de 24-48 horas de nacidas. Para este procedimiento se tomaba una muestra de aproximadamente 10 ml de suero sanguíneo, para congelarlo y luego determinar la concentración de IgG mediante la prueba de ELISA, INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG Kit producido en Estados Unidos por Zeptometrix Corporation. La lectura de la prueba fue realizada en el Laboratorio de Virología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

6. Determinación del estado de salud de las terneras

Se registró diariamente el estado de salud de las terneras verificando la incidencia de problemas digestivos (diarreas) y respiratorios (neumonías), durante las primeras 8 semanas de nacidas. En el caso de los problemas respiratorios, se observó diariamente si los animales tosían y si había presencia de moco en las fosas nasales.

Se realizó diariamente la calificación de las heces producidas por las terneras, mediante la metodología propuesta por Larson *et al.* (1977), durante las primeras 8 semanas de nacidas.

7. Determinación del crecimiento de las terneras

Se registró semanalmente el peso, altura a la cruz, consumo de alimento balanceado y heno de las terneras durante las primeras 8 semanas de nacidas.

Con los datos promedio de consumo de alimento balanceado, consumo de heno y ganancia de peso, se determinó la conversión alimenticia de las terneras.

8. Análisis de la información

Calidad de calostro

La información recolectada se analizó mediante un diseño irrestricto al azar con covarianza del factor número de parto de la vaca donde:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + X + \epsilon_{ij}$$

Y = calidad de calostro.

μ = media general.

T_i = efecto del *i*-ésimo tratamiento (2).

X = covarianza.

ϵ_{ij} = error experimental.

Una vez obtenidos los datos, se realizó una prueba de diferencia de medias de Duncan, mediante el uso del paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2011).

Transferencia de inmunidad pasiva

La información recolectada se analizó mediante un diseño irrestricto al azar con covarianza de los factores peso al nacimiento de la ternera y calidad de calostro donde:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + X + \epsilon_{ij}$$

Y = transferencia de inmunidad pasiva.

μ = media general.

T_i = efecto del i ésimo tratamiento (2).

X = covarianza.

ϵ_{ij} = error experimental.

Una vez obtenidos los datos, se realizó una prueba de diferencia de medias de Duncan, mediante el uso del paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2011).

Concentración de IgG en calostro y suero sanguíneo, consumo de dieta, ganancia de peso, peso, altura a la cruz y conversión alimenticia

La información recolectada fue analizada mediante el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Y = variable a evaluar.

μ = media general.

T_i = efecto del i ésimo tratamiento (2).

ϵ_{ij} = error experimental.

Una vez obtenidos los datos, se realizó una prueba de diferencia de medias de Duncan, mediante el uso del paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2011).

Incidencia de diarrea y neumonía

La información recolectada se analizó mediante la prueba denominada razón de posibilidades (Edwards 1963), cuyo modelo es el siguiente:

	Animales enfermos	Animales no enfermos	Total
Grupo control	A	B	A + B
Grupo suplementado	C	D	C + D
Total	A + C	B + D	N

Una vez obtenidos los datos se procedió a calcular la posibilidad de que un evento sucediera con respecto al otro y éste se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$RP = \frac{A * D}{B * C}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad del calostro

La cantidad de calostro producido promedio, la concentración promedio de inmunoglobulinas totales y la concentración promedio de inmunoglobulinas G, del calostro de primer ordeño producido por la vacas en estudio, se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Producción y calidad del calostro de las vacas en estudio.

Tratamiento	N	Calostro, kg/animal	Inmunoglobulinas totales, mg/ml	Inmunoglobulinas G, mg/ml
Control	15	3,70 ± 1,59	90,06 ± 23,74 ^a	168,52 ± 20,39
Suplementado	15	4,00 ± 1,30	105,94 ± 17,59 ^b	172,20 ± 20,80

^{a,b} Medias con letras diferentes en una misma columna difieren entre sí (p 0,05), según la prueba de Duncan.

La concentración de inmunoglobulinas totales fue mayor (p 0,05) para el grupo suplementado con respecto al grupo control, lo que sugiere que la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras durante el período preparto (21 días), tuvo un efecto positivo sobre la respuesta inmune de las vacas en estudio, lo que les permitió acumular y depositar mayor cantidad de inmunoglobulinas en el calostro. Como señalan algunos autores (Burton *et al.* 1984, Bush y Staley 1980, Denise *et al.* 1989), el uso de cultivo de levaduras tiene impacto sobre el comportamiento sanitario, productivo y reproductivo de los animales, sobre todo ante eventos de estrés como el parto y los períodos preparto y posparto, en los cuales pueden intervenir agentes patógenos oportunistas, los cuales aprovechan la caída del sistema inmune, provocando enfermedades.

Al respecto Tizard (2009), menciona que el mecanismo de producción y deposición de inmunoglobulinas en el calostro, es un proceso mediado por receptores a nivel de glándula mamaria, que funciona adecuadamente cuando el

sistema inmune del animal se encuentra en perfectas condiciones, por lo que aquellos animales que producen calostro de mayor calidad, en cuanto a concentración de inmunoglobulinas totales, son reflejo de un sistema inmune competente y preparado para la defensa del cuerpo.

De acuerdo con Tizard (2009), la cantidad de inmunoglobulinas transferidas a través del calostro representa las consecuencias de su historial de exposición a los antígenos, respuestas de las células B, y la mutación somática. Esta concentración de inmunoglobulinas en efecto representa las experiencias inmunológicas de la vaca.

En cuanto a la concentración de inmunoglobulinas G, no se encontró tendencia lineal de los datos con respecto a la concentración de inmunoglobulinas totales ($R^2=0,15$).

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), lo cual difiere con los resultados encontrados por Rodríguez (2008), donde se determinaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la concentración de inmunoglobulinas G en el calostro (204 mg/ml vs 178 mg/ml), siendo el valor más alto para el grupo de vacas suplementadas con levadura durante el período preparto.

Algunas investigaciones realizadas por Cuarón (2002), en cerdas suplementadas con levadura en su dieta, durante 21 días preparto, muestran mejoras significativas en la concentración de IgG en calostro, encontrándose mejoras de hasta un 15,63%, en comparación a cerdas no suplementadas. Chau *et al.* (2009), encontraron mejoras significativas en la concentración, no solo de IgG, sino también de IgA e IgM, tanto en calostro como en suero sanguíneo de los lechones. Esto es importante porque los anticuerpos maternos actúan sobre el sistema inmunológico del recién nacido durante un periodo crítico de tiempo y parecen ejercer una larga vida de influencia en el desarrollo inmunológico del recién nacido (Tizard 2009).

Transferencia de inmunidad pasiva

La proteína sérica total (PST) y la concentración de inmunoglobulinas G promedio, presentes en el suero sanguíneo de las terneras en estudio, se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Peso al nacimiento, proteína sérica total (PST) y concentración de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras en estudio.

Tratamiento	N	Peso al nacimiento, kg	Proteína sérica total, g/dL	Inmunoglobulinas G, mg/ml
Control	15	24,2 ± 2,1	8,57 ± 1,27	75,54 ± 34,59
Suplementado	15	24,5 ± 3,3	8,24 ± 1,26	69,79 ± 34,41

No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), en el contenido de proteína sérica total y en la concentración de inmunoglobulinas G presentes en el suero sanguíneo de las terneras, lo que difiere con los resultados obtenidos en un estudio realizado por Rodríguez (2008), en el cual se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de IgG en el suero de las terneras en favor del grupo de terneras cuyas madres fueron suplementadas con levadura en el período preparto (61 mg/ml vs 51 mg/ml). Otros autores como Cuarón (2002), encontraron mejorías en la concentración de IgG en suero sanguíneo de lechones cuyas madres fueron suplementadas con levaduras en el período preparto, lo que señala una mejor respuesta inmune de las cerdas, expresada en una mayor concentración de inmunoglobulinas en el calostro, y por lo tanto, una inducción de esa mejoría a los lechones vía calostro.

Al analizar los datos de inmunoglobulinas totales e inmunoglobulinas G, se encontró una tendencia lineal de los datos ($R^2=0,74$), sin embargo no existe diferencia en la tasa de incremento (pendiente) entre los grupos.

Era de esperar, basados en la mayor concentración de inmunoglobulinas en el calostro de las vacas suplementadas preparto, que se presentara una mayor

concentración de proteína sérica total (PST) y de IgG en el suero sanguíneo de las terneras, similar a lo cuantificado en los experimentos previamente mencionados. La diferencia podría asociarse a la saturación del sistema de absorción de inmunoglobulinas en las terneras, ya que éste es un proceso mediado por células a nivel intestinal (Tizard 2009).

Comportamiento productivo

El peso final y la altura a la cruz promedio a la semana ocho de las terneras en estudio, se presentan en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Peso final y altura a la cruz promedio de las terneras en estudio.

Tratamiento	N	Peso final, kg	Altura a la cruz final, cm
Control	15	46,5 ± 7,1	80,2 ± 2,1
Suplementado	15	47,5 ± 4,2	81,1 ± 2,5

No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), para ninguno de los dos parámetros antes mencionados, lo que difiere con los resultados obtenidos por otros autores (Cole *et al.* 1992, Hill *et al.* 2009), los cuales encontraron mayor peso final y mayor altura a la cruz ($p < 0,05$), en terneras suplementadas con cultivo de levaduras con respecto a terneras no suplementadas.

Al analizar el consumo de alimento (Figura 3), en la semana 8 se determinó que las terneras del grupo control consumieron más dieta sólida ($p < 0,05$), pero obtuvieron menores ganancias de peso, por lo que el grupo de terneras de madres suplementadas presentó mejores conversiones alimenticias.

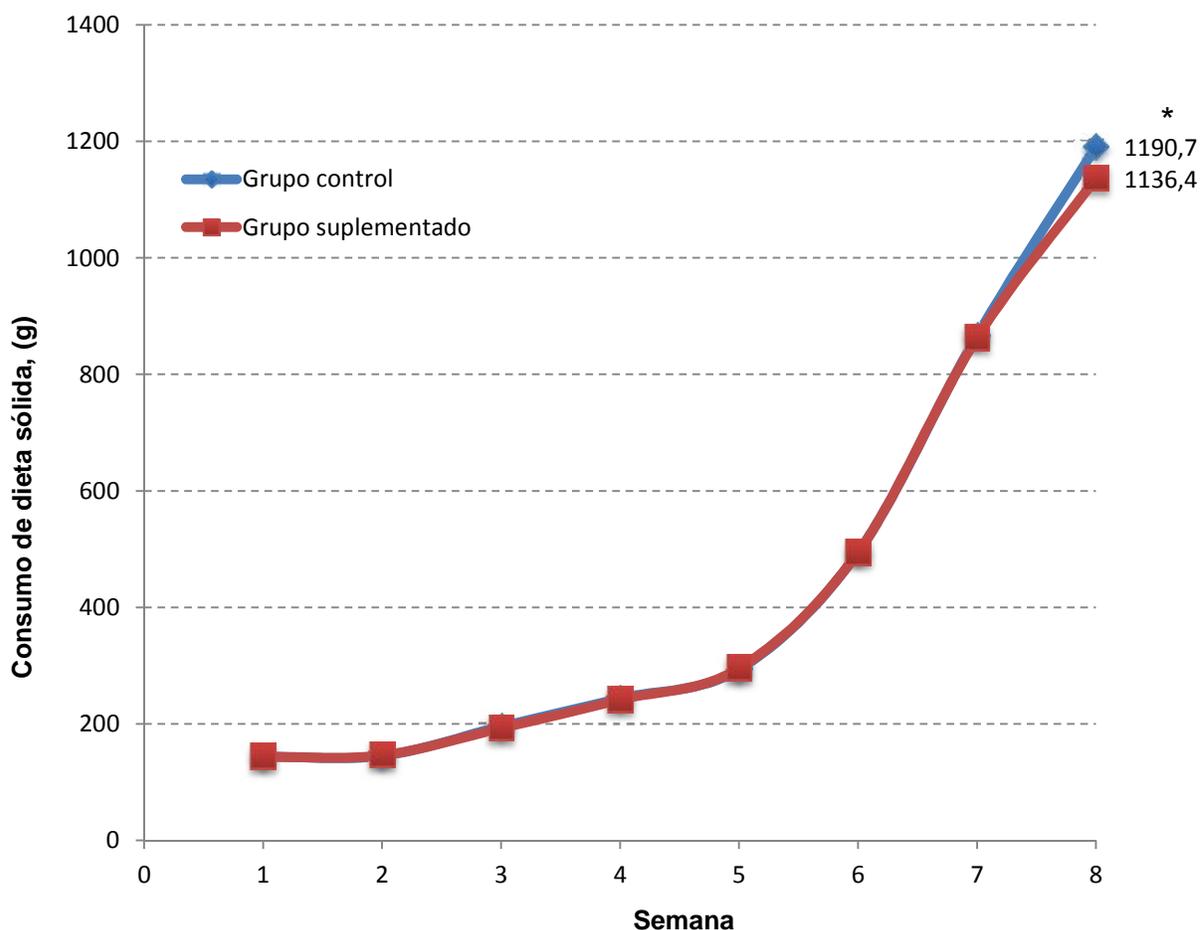


Figura 3. Consumo diario promedio de la dieta sólida de las terneras en estudio.
* p 0,05.

Este menor consumo de las terneras, de acuerdo con Chaucheyras-Durand y Fonty (2001), se atribuye a que los cultivos de levadura favorecen el establecimiento de bacterias fibrolíticas en el tracto digestivo, lo que potencialmente acelera las actividades microbianas en el rumen y favorecen la transición de dietas líquidas a sólidas en terneras. Williams *et al.* (1991), sugirieron que la suplementación de la dieta con los cultivos de levadura, pueden aumentar la regulación del pH del rumen a través de la reducción en la producción de ácido láctico, lo que tiene mucha influencia sobre el consumo y el aprovechamiento de los nutrientes por parte de la ternera.

También se promueve un aumento en la producción de butirato, una disminución en la producción de ácido láctico, y, posteriormente, el aumento del pH del rumen, lo que actúa de forma sinérgica en el desarrollo del rumen de la ternera. Además se puede atribuir mejoras en la digestibilidad del alimento balanceado, la producción y eficiencia microbiana y el flujo de aminoácidos al duodeno (Erasmus *et al.* 1992, Mutsvangwa *et al.* 1992, Yoon y Stern 1996). Este aumento del flujo de nitrógeno microbiano y de aminoácidos al duodeno, junto con el aumento en la producción de butirato contribuye al crecimiento de las terneras y su desarrollo general.

La ganancia diaria de peso promedio, el crecimiento semanal promedio (altura a la cruz) y la conversión alimenticia promedio de las terneras en estudio, se presentan en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Ganancia diaria de peso, crecimiento semanal y conversión alimenticia promedio de las terneras.

Tratamiento	N	GDP, g	CS, cm	Conversión alimenticia
Control	15	382,86 ± 61,20	1,45 ± 0,33	1,28 ± 0,11
Suplementado	15	410,94 ± 51,22	1,70 ± 0,31	1,09 ± 0,09

GDP = ganancia diaria de peso, CS = crecimiento semanal.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$), lo cual difiere con lo encontrado por otros autores (Lesmeister *et al.* 2004, Quigley *et al.* 1992, Seymour *et al.* 1995, Wagner *et al.* 1990), los cuales reportaron mejores ganancias de peso, y mejores conversiones alimenticias en terneras suplementadas con cultivo de levaduras. Esto se pudo deber al bajo número de repeticiones utilizados en el experimento.

La ganancia diaria de peso promedio distribuida en las primeras ocho semanas de las terneras, se puede apreciar en la Figura 4. Se puede observar como en la semana 8, las ganancias de peso fueron mayores ($p > 0,05$) en favor del grupo

de terneras de madres suplementadas con cultivo de levaduras preparto, lo que se debe principalmente, a que en esta semana fue en la que se presentó la mayor incidencia de neumonía en las terneras del grupo control.

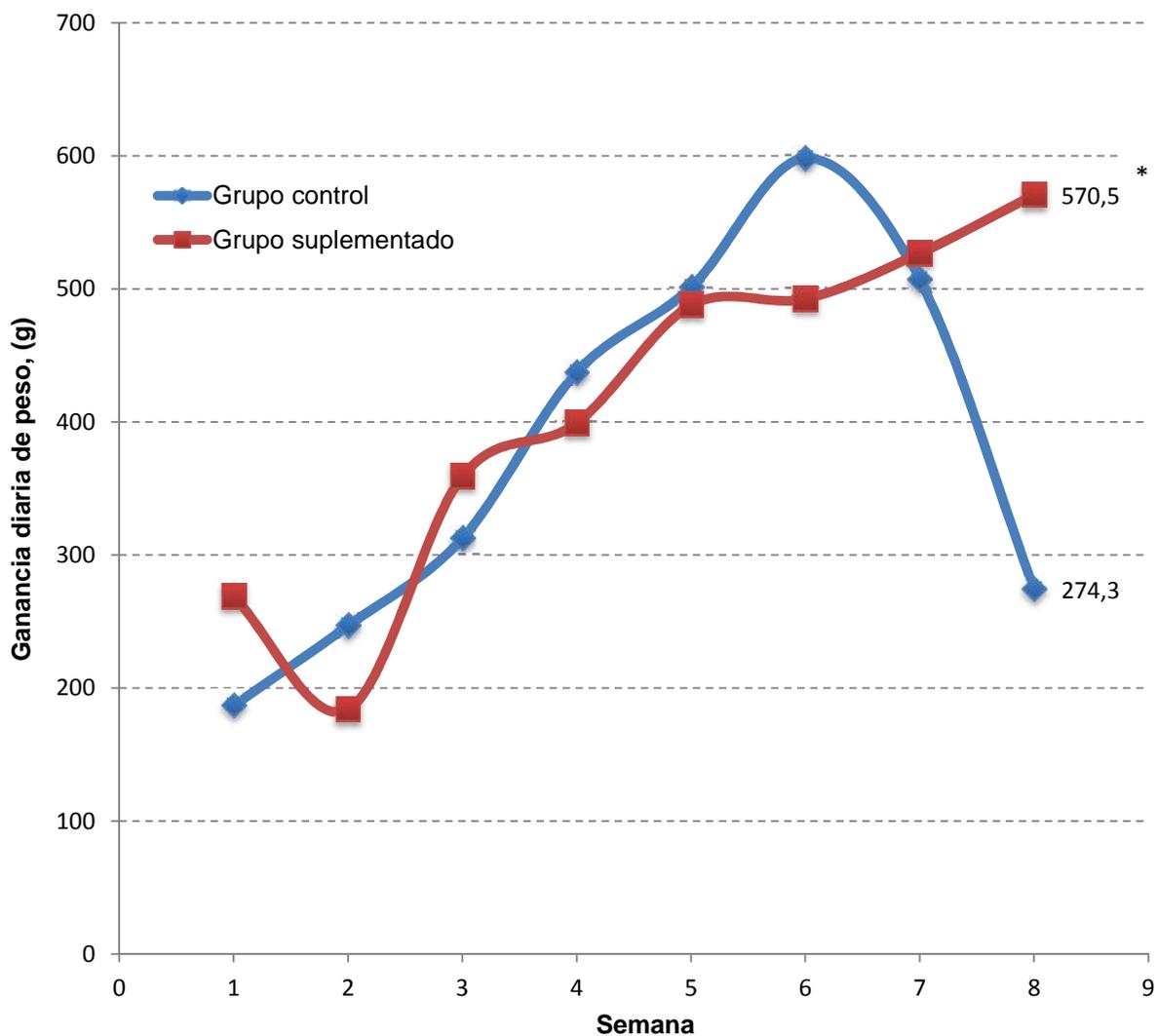


Figura 4. Ganancia diaria de peso promedio de las terneras en estudio.
* p 0,05.

El crecimiento semanal promedio distribuido en las primeras ocho semanas de las terneras, se puede apreciar en la Figura 5. Se puede observar como en la semana 8, el crecimiento semanal fue mayor ($p < 0,05$) en favor del grupo de terneras de madres suplementadas con cultivo de levaduras preparto, lo que se debe principalmente, a que en esta semana fue en la que se presentó la mayor incidencia de neumonía en las terneras del grupo control.

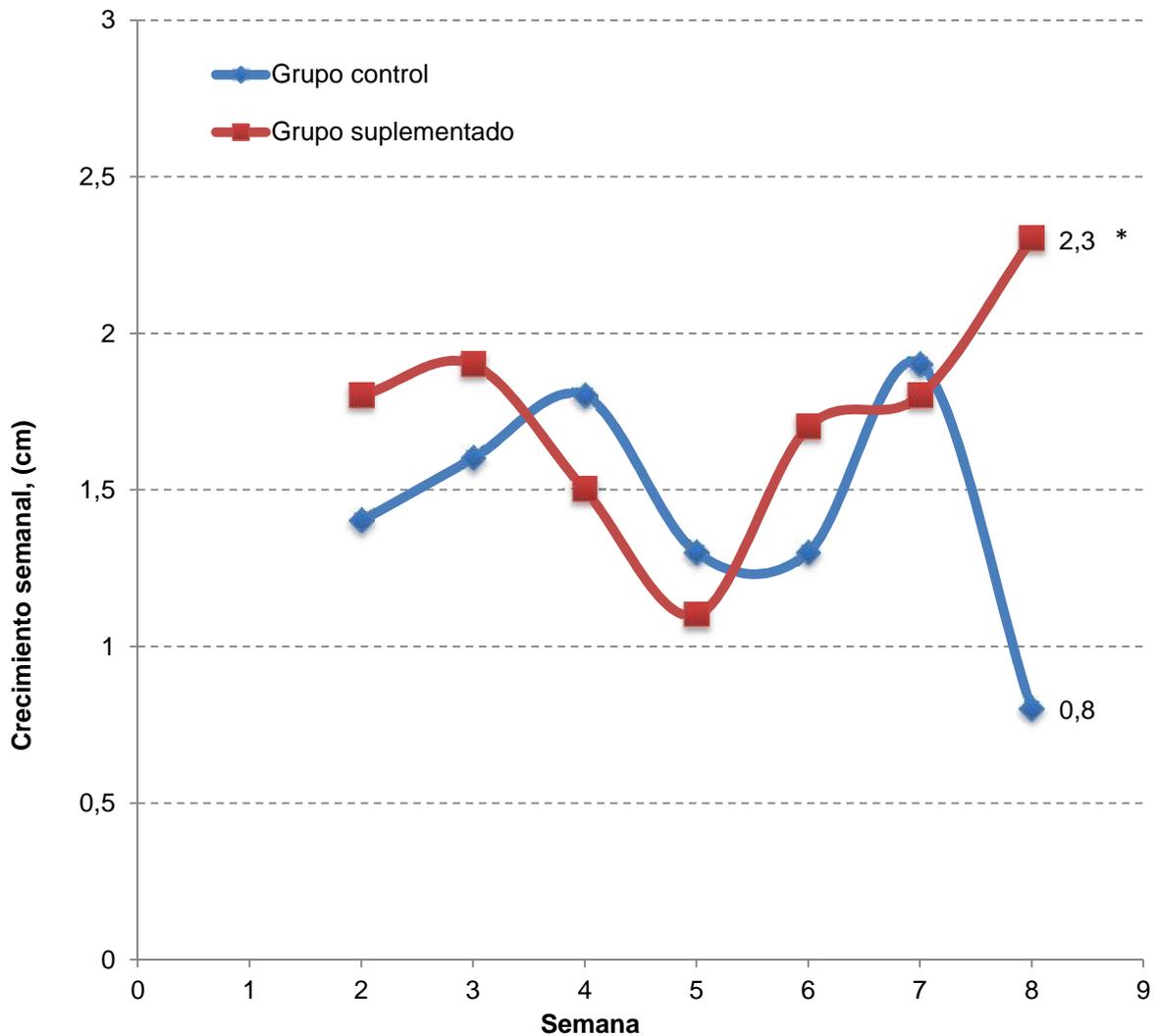


Figura 5. Crecimiento semanal de las terneras en estudio.
* $p < 0,05$

Estado de salud de las terneras

Mediante la escala de calificación de heces propuesta por Larson *et al.* (1977), se determinó que no hay diferencias entre color, olor y consistencia de las heces de las terneras del grupo suplementado y del grupo control. Sin embargo, se encontraron diferencias con respecto a la fluidez de las heces, determinándose que la incidencia de diarrea en las terneras durante las primeras 8 semanas, fue 3,5 veces más posible en las terneras del grupo control, respecto al grupo de terneras de madres suplementadas con el cultivo de levaduras.

Al analizar los datos de la incidencia de neumonía de las terneras en las primeras ocho semanas, se determinó que fue 5 veces más posible en las terneras del grupo control, respecto al grupo de terneras de madres suplementadas.

Al respecto, varios autores (Galvao *et al.* 2005, Murphy *et al.* 2007, White *et al.* 2002), coinciden en que el consumo de β -glucanos presentes en la pared celular y cultivo de levaduras, mejoran la función del sistema inmune innato, estimulando la activación de los neutrófilos, los macrófagos y principalmente de las citoquinas pro-inflamatorias. Además estas moléculas poseen propiedades fisicoquímicas, tales como solubilidad, estructura primaria, peso molecular, ramificación y carga, que podrían explicar las diferencias en la respuesta inmune (Vetvicka *et al.* 2008), así como propiedades anti-infecciosas y la mejora en las funciones de los linfocitos (Antje *et al.* 1995, Cisneros *et al.*, 1996, Onderdonk *et al.* 1992). Además, se ha demostrado que la administración de β -glucanos mejoran la resistencia a las enfermedades respiratorias provocadas por *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis* (Brown y Gordon 2001).

En el caso de los neutrófilos, Murphy *et al.* (2007), mencionan que la mejoría en la respuesta se puede determinar al medir la actividad de estos en la defensa contra los patógenos, situación particularmente importante en las terneras, pues estas suelen ser afectadas por una amplia gama de patógenos bacterianos, virales, y

por protozoos que causan enfermedades del tracto digestivo, las cuales se manifiestan principalmente con diarreas. Además, se ha demostrado que estas moléculas tienen la capacidad de inhibir el crecimiento y la actividad microbiana, lo cual resulta en beneficios potenciales para la salud animal, que en algunas ocasiones no se acompaña de mejoras en el comportamiento productivo (ganancia de peso, altura a la cruz, consumo).

Se ha comprobado también que estas moléculas estimulan la fagocitosis y la producción de citoquinas inflamatorias por los macrófagos (Brown 2006, Brown y Gordon 2001), además tienen la capacidad de estimular los monocitos por la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) (Rubin-Bejerano *et al.* 2007, Thornton *et al.* 1996; Vetvicka *et al.* 1996, Xia *et al.* 1999).

El aporte más significativo de los β -glucanos, de acuerdo con Warren (2008), es la mejora en la producción de las citoquinas, que son los mensajeros químicos que se unen a algunos receptores específicos en la superficie celular e inducen cambios en el crecimiento, el desarrollo, o la actividad de las células. Estas son sintetizadas por una variedad de células inmunes, especialmente macrófagos y linfocitos, pero también pueden ser producidos por otras células tales como las células endoteliales y musculares. Esto se ve reflejado en la mejor respuesta de las terneras del grupo de madres suplementadas contra el desafío de campo de los patógenos involucrados en la incidencia de enfermedades respiratorias.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en las vacas prontas en estudio, tiene un efecto mejorador en la concentración de inmunoglobulinas totales en el calostro.

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de proteína sérica total y de inmunoglobulinas G en el suero sanguíneo de las terneras del grupo control, con respecto al grupo de terneras de madres suplementadas.

En cuanto al comportamiento productivo, no se encontraron diferencias en el peso al nacimiento, la ganancia diaria de peso, el crecimiento semanal expresado como altura a la cruz y la conversión alimenticia de las terneras, pero si una disminución significativa en el consumo de la dieta sólida durante la semana 8 para el grupo de terneras cuyas madres fueron suplementadas con la pared celular y el cultivo de levaduras.

En cuanto al estado inmunológico y de salud de las terneras en estudio, se observó una disminución en la incidencia de enfermedades respiratorias (neumonía) y de diarreas en las terneras cuyas madres fueron suplementadas, con respecto a las terneras del grupo control.

Se recomienda aumentar el número de repeticiones y un análisis de costos, así como realizar análisis de conteo de células somáticas, como indicador adicional de la calidad del calostro, así como análisis de proteína en la orina de las terneras, para valorar la capacidad de absorción de inmunoglobulinas de las terneras.

Se recomienda también, llevar a cabo pruebas de sangre a las terneras, para determinar las concentraciones de macrófagos, monocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, citoquinas y quimosinas pro-inflamatorias, lo que permitiría demostrar si existe la mejoría en el sistema inmune innato que señalan otros autores.

LITERATURA CITADA

- ALDRIDGE, B., GARRY, F., ADAMS, R. 1992. Role of colostral transfer in neonatal calf management: Failure of acquisition of passive immunity. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 14: 265-270.
- ALVARADO, E., VEGA, R. 2002. Uso de levadura viva, enzimas y ácidos carboxílicos en ganado lechero en condiciones tropicales. Seminario Internacional de Microbiología Aplicada a Nutrición Animal. Guadalajara, México.
- ANTJE, M., PETRUS, H., MCNAMEE, R., JONES, E., BROWDER, I., WILLIAMS, D. 1995. Comparison of the carbohydrate biological response modifiers Drestin, schizophyllan and glucan phosphate by aqueous size exclusion chromatography with in-line argon ion multiangle laser light scattering photometry and differential viscometry detectors. *J. of Chromatography* 66: 283-290.
- AUCLAIR, E. 2000. Yeast as an example of the mode of action of probiotic in monogastric and ruminant species. Improving safety from feed to food. *Feed Manufacturing in the Mediterranean Region*. Zaragoza, España. 1: 45-53.
- BARRINGTON, G., PARISH, S. 2001. Bovine neonatal immunology. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 17: 463-476.
- BATTLE, J., HA, T., LI, C., DELLA BEFFA, V., RICE, P., KALBFLEISCH, J. 1998. Ligand binding to the (1 3) beta-d-glucan receptor stimulates NFKappa B activation, but not apoptosis in U397 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249: 499-504.

- BROWN, G. 2006. Dectin-1: A signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat. Rev. Immunol.* 6: 33-43.
- BROWN, G., GORDON, S. 2001. Immune recognition: A new receptor for β -glucans. *Nature.* 413: 36-37.
- BROWN, G., GORDON, S. 2005. Immune recognition of fungal β -glucans. *Cellular Microbiology.* 7(4): 471-479.
- BURTON, J., HOSEIN, A., GRIEVE, G., WILKIE, B. 1984. Immunoglobulin absorption in calves as influenced by dietary protein intakes of their dams. *Can. J. Anim. Sci.* 64: 185-189.
- BUSH, L., STALEY, T. 1980. Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *J. Dairy Sci.* 63: 672-680.
- CÁMARA NACIONAL DE PRODUCTORES DE LECHE. 2011. Información del sector lechero. Costa Rica. Consultada el 30 de octubre de 2012. Disponible en: http://www.proleche.com/info_sector.htm.
- CHAU, G., COLLIERA, C., WELSH, T., CARROLL, J., LAURENZA, J. 2009. Beta-1,3-glucan effect on sow antibody production and passive immunization of progeny. *Food and Agricultural Immunology.* 20(3): 185-193.
- CHAUCHEYRAS-DURAND, F., FONTY, D. 2001. Establishment of cellulolytic bacteria and development of fermentative activities in the rumen of gnotobiotically-reared lambs receiving the microbial additive *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 57-68.

- CISNEROS, R., GIBSON III, C., TZIANABOS, A. 1996. Passive transfer of poly-(1-6)-b-glucotriosyl-(1-3)-b-glucopyranose glucan protection against lethal infection in an animal model of intra-abdominal sepsis. *Infection and Immunity* 64: 2201-2205.
- COLE, N., PURDY, C., HUTCHESON, D. 1992. Influence of yeast culture on feeder calves and lambs. *J. Anim. Sci.* 70: 1682-1690.
- CONZELMANN, A., PUOTI, R., LESTER, L., DESPONDS, C. 1988. Two different types of lipid moieties are present in glycosyl phosphatid ylinositol-anchored membrane proteins of *Saccharomyces cerevisiae*. *Embo J.* 11: 457-466.
- CORBEIL, L., WATT, B., CORBEIL, R., BETZEN, T., BROWNSON, R., MORRILL, J. 1984. Immunoglobulin concentrations in serum and nasal secretions of calves at the onset of pneumonia. *Am. J. Vet. Res.* 45: 773-778.
- CUARON, J. 2002. Efecto de un producto de levadura viva activa sobre la función inmune en cerdos. V Seminario Internacional de Microbiología aplicada a Nutrición Animal. Saf Mex. Guadalajara, México.
- DANN, H., DRACKLEY, J., McCOY, G., HUTJENS, M., GARRETT, J. 2000. Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 83: 123-127.
- DENISE, S., ROBISON, J., STOTT, G., ARMSTRONG, D. 1989. Effects of passive immunity on subsequent production in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 72: 552-554.

- DESNOYERS, M., GIGER-REVERDIN, S., BERTIN, G., DUVAUX-PONTER, C., SAUVANT, D. 2008. Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. J. Dairy Sci. 92: 1620-1632.
- DI RIENZO, J., CASANOVES, F., BALZARINI, M., GONZALEZ, L., TABLADA M., ROBLEDO, C. InfoStat Versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- DOBBELAAR, P., NOORDHUIZEN, J., VAN KEULEN, K. 1987. An epidemiological study of gammaglobulin levels in newborn calves. Prev. Vet. Med. 5: 51-62.
- DONOVAN, G., DAHOO, A., MONTGOMERY, D., BENNETT, F. 1998. Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy in Florida, USA. Prev. Vet. Med. 34: 31-46.
- DUCLUZEAU, R., BENZAADA, M. 1982. Effets compares de l'administration unique ou en continue de *Saccharomyces boulardii* sur l'établissement de diverses souches de *Candida* dans le tractus digestif de souris gnotoxeniques. Ani. Microbiol. 133B: 491-501.
- EDWARDS, A. 1963. The measure of association in a 2x2 table. Journal of the Royal Statistical Society. 126(1): 109-114.
- EICHER, S., PATTERSON, J., ROSTAGNO, M. 2011. -Glucan plus ascorbic acid in neonatal calves modulates immune functions with and without *Salmonella enterica* serovar Dublin. J. Veterinary Immunology and Immunopathology 142: 258-264.

- EICHER, S., WESLEY, I., SHARMA, V., JOHNSON, T. 2010. Yeast cell-wall products containing β -glucan plus ascorbic acid affect neonatal *Bos taurus* calf leukocytes and growth after a transport stressor. *J. Anim. Sci.* 88: 1195-1203.
- ELIZONDO, J. 2007a. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agronomía Mesoamericana.* 18(2): 271-281.
- ELIZONDO, J. 2007b. Importancia del calostro en la crianza de terneras. *Revista ECAG Informa.* 40: 53-55.
- ELIZONDO, J. 2008. Parámetros de manejo en la crianza de terneras. Optimizando la eficiencia en las explotaciones lecheras. *Revista ECAG Informa.* 45: 31-34.
- ERASMUS, L., BOTHA, P., KISTNER, A. 1992. Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75: 3056-3065.
- ESTRADA, A., VAN KESSEL, A., LAARVELD, B. 1999. Effect of administration of oat β -glucan on immune parameters of healthy and immunosuppressed beef steers. *Can. J. Vet. Res.* 63: 261-268.
- FONTY, G., CHAUCHEYRAS-DURAND, F. 2006. Effects and modes of action of live yeasts in the rumen. *Bratislava Biology.* 61: 741-750.
- GALVAO, K., SANTOS, J., COSCIONI, A., VILLASEÑOR, M., SISCHO, W., BERGE, A. 2005. Effect of feeding live yeast products to calves with failure of passive transfer on performance and patterns of antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli*. *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 427-440.

- GULLIKSEN, S., LLE, K., SOLVEROD, L., OSTERAS, O. 2008. Risk factors associated with colostrum quality in norwegian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91: 704-712.
- HANCOCK, D. 1985. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. *J. Dairy Sci.* 68: 163-183.
- HEINRICHS, A. 1993. Raising dairy replacements to meet the needs of the 21st century. *J. Dairy Sci.* 76: 3179-3187.
- HEINRICHS, A., WELLS, S., HURD, H., HILL, G., DARGATZ, D. 1994. The National dairy heifer evaluation project: A profile of heifer management practices in the United States. *J. Dairy Sci.* 77: 1548-1555.
- HILL, S., HOPKINS, B., DAVIDSON, S., BOLT, S., DIAZ, D., BROWNIE, C., BROWN, T., HUNTINGTON, B., WHITLOW, L. 2009. The addition of cottonseed hulls to the starter and supplementation of live yeast or mannanoligosaccharide in the milk for young calves. *J. Dairy Sci.* 92: 790-798.
- HOUGH, R., McCARTHY, F., KENT, H., EVERSOLE, D., WAHLBERG, M. 1990. Influence of nutritional restriction during late gestation on production measures and passive immunity in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68: 2622-2627.
- HUBBERT, J. 1987. Fungal additives for lactating cows. Department of Animal Science, University of Arizona, United States. Fact Sheet #1: 3-9.
- IBRAHIM, R., KELLY, A., O'GRADY, L., GATH, V., McCARNEY, C., MULLIGAN, F. 2010. The effect of body conditioning score at calving and supplementation with *Saccharomyces cerevisiae* on milk production, metabolic status and rumen fermentation of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 93: 5318-5328.

- JOHNSON, J., GODDEN, S., MOLITOR, T., AMES, T., HAGMAN, D. 2007. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immunity and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 90: 5189-5198.
- JOHNSON, D., REMILLARD, R. 1983. Nutrient digestibility of brewers single cell protein. *J. Anim. Sci.* 56: 735-739.
- LARSON, L., OWEN, F., ALBRIGHT, J., APPLEMAN, R., LAMB, R., MULLER, D. 1977. Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *J. Dairy Sci.* 60: 989-991.
- LEE, S., HA, J., CHENG, K. 2000. Influence of an anaerobic fungal culture administration on in vivo ruminal fermentation and nutrient digestion. *Ani. Feed Sci. and Tech.* 88(3-4): 201-212.
- LEISMEISTER, K., HEINRICHS, A., GABLER, M. 2004. Effects of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) culture on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 87: 1832-1839.
- MAGALHAES, V., SUSCA, F., LIMA, F., BRANCO, A., YOON, I., SANTOS, J. 2008. Effect of feeding yeast culture on performance, health and immunocompetence of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 91: 1497-1509.
- MARTINEZ, M. 2004. Comportamiento productivo y respuesta específica de inmunoglobulinas G en presencia de *Saccharomyces cerevisiae* en la dieta de ganado bovino. Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, México. 12 p.

- MASHIKO, T., NAGAFUCHI, S., KANBE, M., OBARA, Y., HAGAWA, Y., TAKAHASHI, T., KATOH, K. 2009. Effects of dietary uridine 5´monophosphate on immune responses in newborn calves. *J. Anim. Sci.* 87: 1042-1047.
- MATTE, J., GIRARD, C., SEOANE, J., BRISSON, G. 1982. Absorption of colostral immunoglobulin G in the newborn dairy calf. *J. Dairy Sci.* 65(9): 1765-1770.
- McGUIRK, S., COLLINS, M. 2004. Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20: 593-603.
- MORIN, D., McCOY, G., HURLEY, W. 1997. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *J. Dairy Sci.* 80: 747-753.
- MULLER, L., ELLINGER, D. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64: 1727-1730.
- MURPHY, E., DAVIS, J., BROWN, A., CARMICHAEL, M., GHAFFAR, A., MAYER, E. 2007. Oat β -glucan effects on neutrophil respiratory burst activity following exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39: 639-644.
- MUTSVANGWA, T., EDWARDS, I., TOPPS, J., PATERSON, G. 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (YEA-SACC) on patterns of rumen fermentation, food intake, and growth of intensively fed bulls. *Anim. Prod.* 55: 35-40.
- NARDONE, A., LACETERA, N., BERNABUCCI, U., RONCHI, B. 1997. Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. *J. Dairy Sci.* 80: 838-844.

- NAHMS (NATIONAL ANIMAL HEALTH MONITORING SYSTEM). 2007. Part I: Reference of dairy cattle health and management health and management practices in the United States. USDA: APHIS Veterinary Services, Ft. Collins, CO.
- NOCEK, J., HOLT, M., OPPY, J. 2011. Effects of supplementation with yeast culture and enzymatically hydrolyzed yeast on performance of early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94: 4046-4056.
- NOUSIAINEN, J., KORHONEN, H., SYVAOJA, E., SAVOLAINEN, S., SALONIEMI, H., HALONEN, H. 1994. The effect of colostral immunoglobulin supplement on the passive immunity, growth and health of neonatal calves. *Agric. Sci. Finly* 3: 421-428.
- ONDERDONK, A., CISNEROS, R., HINKSON, P., OSTROFF, G. 1992. Anti-infective effect of poly-b-1-3-glucopyranose glucan in vivo. *Infection and Immunity* 60: 1642-1647.
- PELLERIN, J. 1982. L'inmunité néo natale des bovins. *Revue Méd. Vét.* 133: 521-537.
- PEREZ, V., SOLORIO, S., MARTINEZ, M., CASTAÑEDA, E., CUARON, J. 2001. *Saccharomyces cerevisiae* for growing-finishing pigs in a septic environment. *J. Anim. Sci.* 79: 1052-1055.
- PIVA, G., BELLADONA, S., FUSCONI, G., SICBALDI, F. 1993. Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components and milk manufacturing properties. *J. Dairy Sci.* 76: 2717-2722.

- PRITCHETT, L., GAY, C., BESSER, T., HANCOCK, D. 1991. Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 74: 2336-2341.
- QUIGLEY, J., DREWRY, J., MARTIN, K. 1998. Estimation of plasma volume in Holstein and Jersey calves. *J. Dairy Sci.* 81: 1308-1312.
- QUIGLEY, J., MARTIN, K., DOWLEN, H., LAMAR, K. 1995. Addition of soybean trypsin inhibitor to bovine colostrum: Effects on serum immunoglobulin concentrations in Jersey calves. *J. Dairy Sci.* 78: 886-892.
- QUIGLEY, J., STROHBEHN, C., KOST, C., O'BRIEN, M. 2001. Formulation of colostrum supplements, colostrum replacers and acquisition of passive immunity in neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 84: 2059-2065.
- QUIGLEY, J., WALLIS, L., DOWLEN, H., HEITMANN, R. 1992. Sodium bicarbonate and yeast culture effects on ruminal fermentation, growth, and intake in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 75: 3531-3538.
- RAJARAMAN, V., NONNECKE, B., HORST, R. 1997. Effects of replacement of native fat in colostrum and milk with coconut oil on fat-soluble vitamins in serum and immune function in calves. *J. Dairy Sci.* 80: 2380-2390.
- ROBINSON, J., STOTT, G., DENISE, S. 1988. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. *J. Dairy Sci.* 71: 1283-1287.
- ROBINSON, P., GARRETT, J. 1999. Effect of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. *J. Anim. Sci.* 77: 988-999.

- RODRIGUEZ, J., NOGUERA, L., ELIZONDO, J. 2010. Manejo de las terneras recién nacidas para lograr una adecuada inmunidad pasiva. *Revista ECAG Informa*. 52: 20-22.
- RODRIGUEZ, M. 2008. Efecto de levadura viva concentrada de tipo zootécnico en la dieta de vacas Holstein preparto, sobre la concentración de inmunoglobulina G en el calostro y en el suero de los neonatos. Tesis para optar por el grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 41p.
- ROY, J. 1990. *The Calf*. Vol. I. Management of Health. Quinta Edición. Butterworth-Heinemann. Boston, Massachusetts, USA. 258 p.
- RUBIN-BEJERANO, I., ABEIJON, C., MAGNELLI, P., GRISAFI, P., FINK, G. 2007. Phagocytosis by human neutrophils is stimulated by a unique fungal cell wall component. *Cell Host Microbe* 2: 55-67.
- SANCHEZ, J. 2010. Práctica en el Programa de Transferencia Tecnológica de la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. Ciudad Quesada, San Carlos. Práctica para optar por el título de Bachiller en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. 31p.
- SEYMOUR, W., NOCEK, J., SICILIANO-JONES, J. 1995. Effects of a colostrum substitute and of dietary brewers yeast on the health and performance of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 78: 412-420.
- STECKLEY, J., GRIEVE, D., MACLEOD, G., MORAN, E. 1979. Brewers yeast slurry: A source of supplementary protein for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64: 459-465.

- STOTT, G., FELLAH, A. 1983. Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *J. Dairy Sci.* 66: 1319-1328.
- THORNTON, B., VETVICKA, V., PITMAN, M., GOLDMAN, R., ROSS, G. 1996. Analysis of the sugar specificity and molecular location of the betaglukan-binding lectin site of complement receptor type 3 (CD11b/CD18). *J. Immunol.* 156: 1235-1246.
- TIZARD, I. 2009. *Veterinary Immunology: An Introduction*. Octava Edición. Saunders Elsevier. Missouri, United States. 529p.
- TROTZ-WILLIAMS, L., LESLIE, K., PEREGRINE, A. 2008. Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *J. Dairy Sci.* 91: 3840-3849.
- TSONI, V., BROWN, G. 2008. β -Glucans and Dectin-1. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1143: 45-60.
- TYLER, J., STEEVENS, B., HOSTETLER, D., HOLLE, J., DENBIGH, J. 1999. Colostral immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows. *Am. J. Vet. Res.* 60: 1136-1139.
- VETVICKA, V., THORNTON, B., ROSS, G. 1996. Soluble beta-glucan polysaccharide binding to the lectin site of neutrophil or natural killer cell complement receptor type 3 (CD11b/CD18) generates a primed state of the receptor capable of mediating cytotoxicity of iC3b-opsonized target cells. *J. Clin. Invest.* 98: 50-61.
- VETVICKA, V., VETVICKOVA, J., FRANK, J., YVIN, J. 2008. Enhancing effects of new biological response modifier beta-1-3 glucan sulfate PS3 on immune reactions. *Biomed. Pharmacother.* 62: 283-288.

- WAGNER, D., QUIÑONEZ, J., BUSH, L. 1990. The effect of corn wheat-based diets and yeast culture on performance, ruminal pH, and volatile fatty acids in dairy calves. *Agri.-Pract.* 11:7-12.
- WARREN, L. 2008. Potential immuno-stimulatory nutrients for the equine athlete. Proceedings of the 4th European Equine Nutrition & Health Congress. Wageningen University, Netherlands: 28-45.
- WATTIAUX, M. 1996. Raising dairy heifers. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. University of Wisconsin, United States. 126p.
- WEISS, W., HOGAN, J., SMITH, K., WILLIAMS, S. 1994. Effect of dietary fat and vitamin E on α -tocopherol and β -carotene in blood of peripartum cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1422-1429.
- WHITE, L., NEWMAN, M., CROMWELL, G., LINDEMANN, M. 2002. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 80: 2619-2628.
- WILLIAMS, P., TAIT, C., INNES, G., NEWBOLD, C. 1991. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. *J. Anim. Sci.* 69: 3016-3026.
- WOHLT, J., CORCIONE, T., ZAJAC, P. 1998. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets base corn silage during early lactation. *J. Dairy Sci.* 81: 1345-1352.

- XIA, Y., VETVICKA, V., YAN, J., HANIKYROVA, M., MAYADAS, T., ROSS, G. 1999. The beta-glucan-binding lectin site of mouse CR3 (CD11b/CD18) and its function in generating a primed state of the receptor that mediates cytotoxic activation in response to iC3b-opsonized target cells. *J. Immunol.* 162: 2281-2290.
- YOON, I., STERN, M. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 411-417.

Anexo 1. Reporte de resultados de la cuantificación de inmunoglobulinas G en calostro y suero sanguíneo bovino obtenidos mediante la prueba de ELISA INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG, llevada a cabo en el Laboratorio de Virología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

Muestra	ID Muestra	D:O	Muestra	ID Muestra	D:O
Calostro (1)	316	2,427	Sueros (31)	560	0,239
2	1864	2,536	32	2261	1,047
3	438	2,350	33	2262	1,276
4	1889	1,943	34	2263	0,155
5	2066	2,359	35	2264	0,969
6	408	2,423	36	2265	0,889
7	1669	2,629	37	2266	0,980
8	1993	2,097	38	2267	1,271
9	2088	2,237	39	2268	1,557
10	393	2,472	40	2269	1,085
11	481	2,650	41	2270	1,344
12	1478	2,457	42	2271	0,870
13	2106	2,150	43	2272	0,981
14	376	2,501	44	2273	1,403
15	2001	2,436	45	2274	0,487
16	394	1,705	46	2275	1,345
17	2027	2,423	47	2276	0,714
18	2018	2,491	48	2277	1,338
19	1914	2,549	49	2278	0,903
20	1920	1,574	50	2280	1,642
21	336	2,270	51	2283	0,492
22	2006	2,015	52	561	1,007
23	440	2,294	53	562	1,420
24	1926	2,558	54	563	0,782
25	295	2,548	55	564	0,337
26	1918	2,465	56	565	0,533
27	1593	2,624	57	566	1,757
28	2094	2,266	58	567	1,804
29	2008	2,016	59	568	1,383
30	1917	2,237	60	569	1,454
			61-Blanco		0,054

ID: Identificación. DO: Densidad óptica a 450 nm.

Anexo 2. Materiales y procedimiento de la prueba de ELISA INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG.

ELISA IgG Bovina-Cuantitativa IMMUNOTEK ZMC Catálogo # 0801198

USO

Diseñado para medir IgG bovina en calostro, leche, suero, plasma y otros fluidos biológicos.

PRINCIPIO

Placas de poliestireno recubiertas con anticuerpos anti IgG bovina constituyen la fase de captura del ensayo. Estos anticuerpos se unen uniformemente a todas las subclases de IgG, la cual, a su vez reacciona con el anticuerpo detector conjugado con peroxidasa. La actividad de la enzima es cuantificada con el sustrato TMB.

REACTIVOS y MATERIALES

- Microplaca (1 x 96 pozos) sensibilizada con anti IgG bovina.
- Anticuerpo detector (12 ml) conjugado con peroxidasa. Estándar IgG bovina (7ml).
- Diluyente (100ml): PBS, Tritón x 100 y 2-cloroacetomida.
- Buffer de lavado (125 ml): PBS, Tween 20 y 2-cloroacetomida.
- Sustrato (12ml): TMB.
- Solución de frenado (12 ml).
- Sellos de placa (1 paquete): 10 sellos.
- Bolsa de plástico (1).

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

- Solución de lavado de placas: diluya la solución 10X de lavado 1:10 con agua destilada o desionizada. Mezcle cuidadosamente. Se puede almacenar a 2-8°C hasta por 1 semana.

- Curva estándar de IgG bovina: Marque 6 tubos del 1 al 6. El estándar se provee a 125 ng/ml.
- Dilución de las muestras: El calostro bovino normalmente contiene 50-80mg/ml de IgG. Preparar una dilución de 1: 1.000.000 de las muestras de calostro.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Permita que todos los reactivos se “atemperen” a ambiente. Marque los tubos para los estándares y las muestras. Si no se empleará la totalidad de la placa, remueva las tiras sobrantes, colóquela en una bolsa sellable con desecantes y almacene a 2-8°C. Seguidamente realice lo siguiente:

1. Identifique cada tira de la placa.
2. Destine un pocillo para blanco de sustrato y déjelo vacío.
3. Pipetee 200 µl de los estándares en pocillos duplicados.
4. Pipetee 200 µl de las muestras en pocillos duplicados.
5. Cubra la placa con sellador e incube 30 minutos a 37°C.
6. Descarte el contenido de los pocillos y lave 4 veces con 300 µl de solución de lavado, escurriendo sobre papel toalla.
7. Pipetee 100 µl del anticuerpo detector conjugado en todos los pocillos excepto en el del blanco.
8. Cubra con sellador de placa e incube 30 minutos a 37°C.
9. Descarte el contenido de los pocillos y lave como en el paso 6.
10. Pipetee 100 µl de sustrato TMB en todos los pocillos de la placa incluido el blanco.
11. Incube 30 minutos a temperatura ambiente. Se desarrollará un color azul en los pocillos positivos a IgG bovina.
12. Pipetee 100 µl de solución de frenado en todos los pocillos.
13. Leer a 450 nm.

Validez de la prueba:

Se requiere que la densidad óptica del estándar de la muestra de 0 ng/ml y el blanco de sustrato sea inferior a 0,200.

CÁLCULO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Elabore un gráfico para las concentraciones y densidades ópticas de los estándares y extrapole manualmente o calcule con una función de regresión lineal la concentración de IgG bovina en las muestras.

Anexo 3. Confirmación de la realización de la prueba de ELISA INMUNO-TEK Quantitative Bovine IgG, llevada a cabo en el Laboratorio de Virología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COSTA RICA
Escuela de Medicina Veterinaria
Unidad de Diagnóstico e Investigación en Virología Veterinaria
Laboratorio de Virología
Reporte de Análisis

Heredia, 30 de Mayo del 2013

Egresado
Carlos Campos Granados
Universidad de Costa Rica
Email: carloscamposgranados@gmail.com
S.D.

Estimado Carlos,

En archivo adjunto te remito los resultados del análisis de IgG bovina realizados a las muestras de suero y calostro remitidas por usted a nuestro laboratorio. La fecha de recepción del material fue el pasado 24-04/2013, bajo el protocolo 87-04/2013. La técnica utilizada para la determinación de anticuerpos IgG bovinos fue ELISA empleando el kit IMMUNOTEK- ZMC Catálogo # 0801198, que usted nos proporcionará.

Incluyo además, una traducción del prospecto del kit. Para el cálculo de la concentración de IgG debes realizarlo manualmente o con la ayuda de un análisis de regresión lineal.

Agradeciendo tu confianza y apoyo.



Dr. Carlos Jiménez S., CMV # 254.