

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Efecto de la suplementación con pared celular hidrolizada y cultivos de levaduras sobre la calidad del calostro de yeguas y la transferencia de inmunidad pasiva en los potros

Yeilin Dayana Castro Silva

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

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2019

## TRIBUNAL EXAMINADOR

Este proyecto de graduación fue aceptado 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 en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

\_\_\_\_\_  
Ing. Augusto Rojas Bourillon, M.Sc.

Director de tesis

\_\_\_\_\_  
Ing. Jorge Alberto Elizondo Salazar, Ph.D.

Miembro del tribunal

\_\_\_\_\_  
Ing. Carlos Campos Granados, Lic.

Miembro del tribunal

\_\_\_\_\_  
Ing. José Ramón Molina Villalobos, Ph.D.

Miembro del tribunal

\_\_\_\_\_  
Ing. Carlos Arroyo Oquendo, M.Sc.

Director de Escuela

\_\_\_\_\_  
Bach. Yeilin Dayana Castro Silva

Sustentante

## **DEDICATORIA**

A mi mamá, por todo lo que ha luchado por mí, por lo que le ha costado y para que esté orgullosa.

## AGRADECIMIENTOS

A mi mamá Yolanda Silva Ávila por ser el apoyo que tanto he necesitado, por haberme enseñado a luchar por lo que quiero y por todo el amor que siempre me ha dado.

A mi papá Roberto Castro Montero por haberme dado lo necesario para estudiar, por haberme apoyado en todas mis decisiones y por el amor que sé que me tiene.

A mi hermano Luis Roberto Castro Silva por todo el apoyo que me ha dado para terminar con esta tesis y para que fuera feliz en el camino y por ese amor de hermano mayor que siempre ha tenido por mí.

A Jose por ayudarme en la parte más dura de este proyecto, por todos los consejos, por preocuparse por mí cuando me acercaba a las yeguas recién paridas y por acompañarme cuando lo necesitaba. Mil gracias por todo.

Al profe Augusto por ayudarme con este proyecto, por los consejos y el apoyo que me dio.

A Luis Alejandro por toda su ayuda y paciencia con la parte estadística de la tesis.

A todos los que alguna vez me acompañaron, fuera a dormir, a sangrar o a pesar. A Dani, Grethel, Majo, Keylor, Meli, Angie, gracias por ir a ayudarme en esas horas tan incómodas.

A don Manuel por permitirme hacer el trabajo en su criadero y a Ronald y los muchachos por ayudarme tanto con las yeguas.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Contenido	Página
TRIBUNAL EXAMINADOR	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
OBJETIVOS	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO	5
Formación del calostro	7
Composición del calostro	8
Factores que afectan la calidad de calostro	10
Importancia del calostro	11
Falla en la transferencia de inmunidad pasiva	13
Medición de la calidad del calostro	15
Levaduras en la suplementación de equinos	17
PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA	20
Descripción de la granja	20
Descripción de animales y tratamientos	20
Alimentación de las yeguas	21
Determinación de la calidad de calostro	24
Manejo de los animales	27
Determinación de la transferencia de inmunidad pasiva	28
Análisis de la información	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
Calidad del calostro	33
Transferencia de inmunidad pasiva	41
Crecimiento de los potros	51
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES	57
LITERATURA CITADA	59
ANEXOS	69

## ÍNDICE DE CUADROS

Título	Página
1 Contenido de inmunoglobulinas en calostro y leche de yegua.....	9
2 Interpretación de los resultados obtenidos con el refractómetro y calostrómetro.....	17
3 Composición nutricional de la pared celular y cultivo de levaduras (Celmanax <sup>®</sup> ) suministrado a las yeguas preparto.....	21
4 Contenido nutricional del alimento balanceado Corcel <sup>®</sup> alto desempeño.....	22
5 Contenido nutricional del pasto brachipará ( <i>Brachiaria arrecta x Brachiaria mutica</i> ) a una edad de cosecha de 60 d ofrecido a las yeguas en estudio.....	23
6 Contenido nutricional del heno de transvala ( <i>Digitaria decumbens</i> ).....	24
7 Valores de las características evaluadas del calostro mediante el calostrómetro y el refractómetro.....	33
8 Promedios de la concentración de IgG (mg/dl) en el suero sanguíneo de los potros a las 24 h de edad.....	41
9 Consumo de calostro calculado para los potros.....	45
10 Promedios de la concentración de IgG (mg/dl) en el suero sanguíneo de los potros y potras nacidos en el grupo control y tratamiento.....	49
11 Peso promedio de los potros al nacimiento y a los 15, 30 y 45 días de vida para los grupos control y tratamiento.....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b> Evolución media de la concentración de IgG en suero de la yegua (S yegua), en calostro y en suero de potrillos hasta los 90 días postparto.....	15
<b>2</b> Jeringa de 60 cc utilizada como ordeñador.....	25
<b>3</b> Obtención de las muestras de calostro por medio de las jeringas de 60 cc.....	25
<b>4</b> Medición de la calidad de calostro con el calostrómetro equino (Laboratorios Jorgensen, Loveland, Colorado).....	26
<b>5</b> Medición de la calidad del calostro con el refractómetro (ATAGO ATC-1).....	27
<b>6</b> Pesaje de potro con la balanza móvil.....	28
<b>7</b> Microtubos con muestras séricas y kit de inmunodifusión radial.	29

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de yeguas preñadas con un producto comercial compuesto por cultivo y pared celular hidrolizada de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) en la calidad del calostro y la transferencia de inmunidad pasiva a sus potros.

El estudio fue realizado en la Ganadería Meza, la cual se encuentra ubicada en Grecia, Costa Rica. Se utilizaron 20 yeguas Pura Raza Española preñadas que se dividieron en dos grupos con 10 repeticiones cada uno, en donde el primer grupo se mantuvo como un control no suplementado. El segundo consistió en un grupo suplementado donde a cada una de las yeguas se le ofreció diariamente 30 g del cultivo y pared celular de levaduras durante los últimos 30 días de gestación.

Se evaluó la calidad del calostro mediante el uso de un calostrómetro equino y un refractómetro. No se obtuvieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la calidad del calostro entre los tratamientos. Con el calostrómetro se encontraron valores promedio de densidad de  $1,07 \pm 0,006$  para el grupo control y  $1,08 \pm 0,006$  para el grupo tratamiento. Por otro lado, con el refractómetro se obtuvieron valores promedio de  $25,20 \pm 1,63$  Grados Brix para ambos grupos.

Se cuantificó la concentración de IgG (mg/dl) en el suero sanguíneo de los potros a las 24 horas de edad mediante el uso de un kit de inmunodifusión radial (RID). Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos con valores promedio de  $2548,95 \pm 234,39$  mg IgG/dl para el grupo control y  $1403,43 \pm 234,39$  mg IgG/dl para el grupo de tratamiento.

Se realizó el cálculo para estimar la cantidad de calostro que debió consumir cada potro para alcanzar la concentración de IgG en su suero sanguíneo. Se obtuvo un promedio de 3,68 L para el grupo control y 3,34 L para el grupo de tratamiento.



Se evaluó el crecimiento de los potros mediante pesajes cada 15 días, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos ( $p>0,05$ ). Se obtuvieron valores promedio de peso al nacimiento de  $38,24\pm 2,81$  kg para el grupo control y  $41,39\pm 3,18$  kg para el grupo tratamiento,  $65,44\pm 2,56$  kg para el grupo control y  $69,03\pm 2,97$  para el grupo tratamiento a los 15 días de vida,  $75,04\pm 2,59$  kg para el grupo control y  $78,83\pm 2,99$  kg para el grupo tratamiento a los 30 días de vida y  $92,66\pm 2,86$  kg para el grupo control y  $97,12\pm 3,23$  kg para el grupo tratamiento a los 45 días de vida.

La suplementación con cultivo y pared celular de levaduras no tuvo un efecto en la calidad del calostro producido por las yeguas, en la absorción de inmunoglobulinas G por parte de los potros ni en su crecimiento. La suplementación de las yeguas podría verse afectada por factores como dosis, tiempo de suplementación y manejo.

## INTRODUCCIÓN

En la industria equina, la etapa neonatal que va desde el nacimiento hasta el día 15 de vida de cada potro es la más limitante, ya que es donde se presentan la mayor cantidad de enfermedades que comprometen la vida del recién nacido. En esta etapa, es común que se presenten varios trastornos simultáneamente, lo que dificulta un diagnóstico preciso (Estepa et al. 2007, Franco y Oliver 2014). Para evitar las complicaciones de salud en esta etapa es necesaria la administración de calostro de buena calidad. El calostro es la primera secreción de la glándula mamaria de los mamíferos después del parto y en él se encuentran inmunoglobulinas de gran importancia para el potro ya que le brindan protección. En el calostro también se encuentran factores de crecimiento, leucocitos, lactoferrina y otros componentes que protegen y nutren a la cría (Elizondo 2007a, Auad et al. 2010). La lactoferrina se encarga de capturar el hierro, de esta manera previene que las bacterias patógenas colonicen el tracto intestinal y se produzcan diarreas. Además, el calostro posee un importante aporte energético para el potro recién nacido (Lizcano y López 2009).

La ingesta del calostro en la primer etapa de vida es esencial para disminuir la mortalidad de los potros debido a que durante la gestación de la yegua, la placenta no permite el paso de las inmunoglobulinas hacia el feto. Al consumir el calostro, los anticuerpos que ha producido la madre en distintas situaciones son transferidos al neonato, brindando protección durante los primeros días hasta que el sistema inmunológico se desarrolle lo suficiente como para generar una respuesta inmune ante agentes patógenos (Becerra et al. 2008).

El calostro que los potros necesitan ingerir es producido por la yegua en las últimas dos semanas de gestación debido a cambios hormonales. Es importante que el potro sea calostrado en las primeras doce horas de vida, ya que posterior a este periodo la concentración de las inmunoglobulinas presentes en el calostro

disminuye hasta desaparecer a las 24 horas (Lizcano y López 2009). Mientras que la absorción intestinal por parte de la cría se da en las primeras 4 a 6 horas después del parto y finaliza luego de las 16 horas, donde se da la absorción de nutrientes (Galindo 2009).

El consumo de calostro de mala calidad es una de las causantes de que al menos un 25% de las crías presenten falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP) en algún nivel (Lizcano y López 2009). Otras causantes de FTIP en potros son bajo o nulo consumo de calostro y secreción de calostro por parte de la yegua antes del parto. Para evitar la presencia de la FTIP, los potros deben tener una concentración de inmunoglobulinas de entre 400 y 800 mg/dl en su suero sanguíneo después de haber ingerido el calostro. Un animal con FTIP es susceptible a cualquier agente infeccioso que pueda causar enfermedad y muerte (Galindo 2009). Según Tizard 2018, un potro con un valor menor a 800 mg/dl tiene más posibilidades de sufrir infecciones, mientras que si la IgG no alcanza los 400 mg/dl la cría sufrirá de infecciones graves.

Por esta razón se han investigado formas de modificar la calidad del calostro y se ha observado un efecto mediante la manipulación de la energía digestible de la dieta. Hammer et al. (2011) cuantifica aumentos de inmunoglobulinas G (3,9 g/L) en yeguas consumiendo 32,8 Mcal ED/día en comparación con aquellas con consumos de 43,4 Mcal ED/día suministradas en el último tercio de la gestación.

De forma similar, la concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo de las yeguas puede ser modificada mediante la suplementación de aditivos tales como levaduras. Koke (2014) utilizó una dosis de 1 g de cultivo de levaduras por cada 45 kg de peso vivo en 16 yeguas cuarto de milla para evaluar si la suplementación tenía algún efecto en la concentración de inmunoglobulinas posterior a la vacunación. Se midieron IgG (T), IgGa, IgGb, IgA e IgM en suero

sanguíneo mediante una prueba ELISA. El autor informa de mejoría solamente en la IgG(T) en las yeguas preñadas.

En otro estudio, se evaluó el efecto de la suplementación con cultivo de levaduras sobre la concentración de inmunoglobulinas en los potros. Se utilizó la misma dosis que en el estudio mencionado anteriormente, se recolectaron muestras sanguíneas al nacimiento, 12 y 24 horas y 30, 60, 90 y 120 días de vida. Se analizaron las concentraciones de IgG, IgGa, IgGb, IgG(T), IgA, IgM e IgE, pero no hubo diferencias significativas entre el grupo control y el tratamiento para ninguna de las inmunoglobulinas (Leimbach 2015).

Estudios suplementando pared celular y cultivos de levaduras (Celmanax®) 4 semanas antes del parto sobre la calidad del calostro de vacas lecheras reportan valores de inmunoglobulinas totales mayores para el grupo de vacas suplementadas (105,94 mg/ml) que para el grupo control (90,06 mg/ml). En cuanto a la concentración de inmunoglobulinas G no hubo diferencias significativas entre tratamientos (Campos-Granados y Rojas-Bourillon 2015).

Debido a la importancia del calostro en la vida del potro, se han desarrollado productos comerciales que buscan aumentar la concentración de Igs tanto en calostro como en el suero sanguíneo de las yeguas de cría. Para evaluar su efecto se han elaborado este tipo de estudios, sin embargo, en Costa Rica no hay información al respecto en caballos, solamente existen estudios en vacas como el mencionado anteriormente. Por esta razón y por la necesidad de calostro de buena calidad, es importante realizar experimentos como este en el país. El objetivo del presente estudio es evaluar si la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en las dietas de yeguas preñadas mejora la calidad del calostro producido.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Evaluar el efecto de la suplementación con levaduras en yeguas preñadas sobre la concentración de inmunoglobulinas G del calostro y en el suero sanguíneo de los potros que lo consumen.

### **Objetivos específicos**

- Determinar la calidad del calostro de yeguas suplementadas con levaduras al final de la gestación.
- Cuantificar la concentración de IgG en el suero sanguíneo de los potros a las 24 h de vida.

## ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

La inmunidad pasiva ocurre naturalmente cuando los anticuerpos maternos son transferidos a la cría por medio de la placenta o el calostro. Estos brindan protección inmediata al individuo pero en el cuerpo no se desarrolla memoria contra ningún patógeno (Lizcano y López 2009).

En el caso de los equinos, el feto no obtiene inmunoglobulinas de su madre durante la gestación ya que el tipo de placenta (epiteliocorial) no lo permite, de ahí la importancia de administrar calostro al neonato para su protección contra enfermedades infecciosas (Becerra et al. 2008, Lizcano y López 2009, Auad et al. 2010, Espinoza 2015, Leimbach 2015). Por esta razón se busca aumentar las concentraciones de inmunoglobulinas g (IgG) en el suero sanguíneo de yeguas preñadas, de esta manera se mejora la cantidad de IgGs en el calostro (Koke 2014).

Las inmunoglobulinas son un grupo de moléculas capaces de reconocer y eliminar agentes extraños. Un anticuerpo es una inmunoglobulina que presenta la habilidad de adherirse al antígeno (Robertson 2004). Las Igs se encuentran en el calostro, que es la primera secreción de la glándula mamaria de los mamíferos después del parto y se acumulan en ella durante las últimas semanas de la preñez (Auad et al. 2010). El calostro es secretado durante los primeros 3 a 5 días después del parto, luego se convierte en leche de transición y finalmente en leche madura (Srivastava et al. 2014).

El calostro es de aspecto espeso, pegajoso y posee un color amarillento, su producción se da por influencia hormonal y contiene inmunoglobulinas o anticuerpos concentrados del suero sanguíneo de la yegua (Lizcano y López 2009, Espinoza 2015). El calostro contiene más energía, proteína, vitaminas y minerales que la leche, gracias a esto el potro obtiene los nutrientes necesarios para cubrir sus demandas energéticas en los primeros días mediante reservas de glucógeno y lípidos (Lizcano y López 2009, Pastrana 2013). Gracias a esto pueden generar calor

y mantener su temperatura, además es estimulante intestinal y funciona como un laxante, ayudando a la cría con la expulsión del meconio (Lizcano y López 2009, Pastrana 2013).

### **Sistema inmune del potro**

Todo organismo tiene una serie de barreras físicas, químicas y biológicas que lo protegen de los agentes patógenos. La piel es la primera de ellas y actúa como una barrera ante los gérmenes, al igual que las vellosidades y las mucosas. Si algún agente logra entrar al cuerpo a través de estas barreras físicas, son atacados por la segunda línea de defensa constituida por células fagocíticas, las cuales los destruyen. Finalmente, como tercera línea de defensa se encuentran los anticuerpos como las inmunoglobulinas que pueden adherir al antígeno (Robertson 2004, Elizondo 2007b).

Muchas de estas barreras se desarrollan durante la gestación al igual que órganos linfoides como el timo, que es el primero en formarse. Se han encontrado linfocitos en la circulación periférica a partir del día 120 y producción de inmunoglobulinas en el suero de fetos equinos mayores a 185 días de gestación (Giguère y Polkes 2005). Debido a la estructura epiteliocorial de la placenta de la yegua, los potros no reciben inmunoglobulinas durante la gestación, por lo que dependen de la transferencia pasiva de las mismas por medio del calostro (McKinnon et al. 2011, Espinoza 2015, Walther et al. 2015, Freccero et al. 2016). Los neonatos son susceptibles a una gran cantidad de agentes infecciosos que normalmente son relacionados con inmunodeficiencias. Este tipo de infecciones son menos prevalentes en caballos adultos, lo cual sugiere que esta sensibilidad se encuentra relacionada con la edad (Boyd et al. 2003).

El neonato presenta un sistema inmune desarrollado, sin embargo, no es capaz de generar una respuesta defensiva ya que no ha estado expuesto a ningún agente patológico y no posee células de memoria (McKinnon et al. 2011, Espinoza

2015, Walther et al. 2015, Freccero et al. 2016). Los neonatos pueden tener reacciones inmunes de tipo primario y con bajas concentraciones de anticuerpos, lo que los hace susceptibles a cualquier tipo de infección (Suárez et al. 2011).

Una parte muy importante de la defensa del hospedero contra infecciones es el sistema del complemento. Su activación se da mediante dos vías, la clásica que requiere de interacción antígeno-anticuerpo y la alternativa que es iniciada por componentes de la superficie celular como la pared celular de bacterias u hongos que son reconocidos como agentes extraños para el organismo. La activación de este sistema conlleva a la lisis de algunos microorganismos, inflamación, neutralización de virus y opsonización del antígeno. En el caso de los neutrófilos, su quimiotaxis y fagocitosis es baja a la hora del nacimiento pero aumenta significativamente después de la ingesta de calostro (Giguère y Polkes 2005).

Después de que el calostro ha sido ingerido y se da la desaparición de los anticuerpos maternos y la estimulación antigénica adecuada, la síntesis de anticuerpos comienza en el potro. El sistema inmune produce primero IgM y luego las otras clases de inmunoglobulinas. La síntesis endógena de IgG e IgM comienza en las primeras 4 semanas de vida, la producción de anticuerpos aumenta paulatinamente, siendo hasta los dos meses de edad que se detectan IgE e IgGb (McKinnon et al. 2011, Espinoza 2015, Walther et al. 2015, Freccero et al. 2016).

### **Formación del calostro**

La calostrogénesis es el resultado de la transferencia de inmunoglobulinas del suero sanguíneo de la madre hacia las secreciones de la glándula mamaria, inicia varias semanas antes del parto y finaliza justo antes del mismo. El calostro es formado durante la gestación de la yegua mediante el pasaje selectivo de Igs de la circulación general a la glándula mamaria, esta transferencia es posible gracias a las altas concentraciones de estrógenos y los decrecientes niveles de progesterona



en los últimos meses de gestación (Pastrana 2013, Campos-Granados y Rojas-Bourillón 2015).

Estos niveles de hormonas permiten la transferencia de la IgG mediante receptores que se encuentran en las células secretoras de la glándula y se logra una máxima concentración de Igs en las últimas dos semanas de la preñez. La IgG y la IgM se originan en el suero sanguíneo, mientras que la IgA se sintetiza en la glándula mamaria (Lizcano y López 2009, Pastrana 2013).

La IgG es transferida mediante un sistema de transporte específico a través de la barrera mamaria. Las células alveolares mamarias tienen al receptor Fc, este se une con las inmunoglobulinas libres en el líquido extracelular (LEC) y provocan que las moléculas ingresen por medio de endocitosis (Pastrana 2013).

### **Composición del calostro**

Existen varios tipos de inmunoglobulinas, la IgG, IgA, IgM, IgGa e IgGb, siendo la IgG la que se encuentra en mayor cantidad en el suero equino y el calostro (Koke 2014, Leimbach 2015, Freccero et al. 2016). Un 63% de la composición del calostro son proteínas y el 37% restante es representado por factores de crecimiento, citoquinas, lactoferrina y leucocitos, los cuales también brindan protección al potro. De las proteínas presentes en el calostro, un 40% son IgGs y sus anticuerpos asociados (Auad et al. 2010). Además, posee varios componentes que ayudan a los glóbulos blancos durante el combate de bacterias invasoras (Lizcano y López 2009).

En el Cuadro 1 se observa que la IgG se encuentra en mayor cantidad en el calostro, seguida por la IgA y en tercer lugar la IgM. Conforme el calostro se convierte en leche, la IgA cambia de lugar con la IgG en términos de concentración (Robertson 2004). Por ser la IgG la de mayor cantidad en el calostro, la

concentración de esta inmunoglobulina en el suero sanguíneo de la cría es un indicador adecuado de la transferencia de inmunidad pasiva (Elizondo 2007b).

Cuadro 1. Contenido de inmunoglobulinas en calostro y leche de yegua.

Fluido	IgG	IgA	IgM
Calostro (mg/dl)	1500-5000	500-1500	100-350
Leche (mg/dl)	20-50	50-100	5-10

Fuente: Robertson (2004).

La IgG provee protección durante más tiempo y usualmente es el primer anticuerpo que circula en una respuesta inmune secundaria (segunda exposición a un antígeno específico). La IgA está asociada a la inmunidad de las mucosas, ya que previene que se adhieran microorganismos patógenos a la superficie de las mismas y con ello protege a los animales lactantes de infecciones gastrointestinales. Se encuentra en la leche y en áreas de secreción de sustancias y sus niveles son indicadores de la inmunidad equina en general. La IgM participa principalmente en infecciones en el torrente sanguíneo, es la primera inmunoglobulina que se produce en respuesta a antígenos y se lleva a cabo mientras se da la producción de IgG (Robertson 2004, Koke 2014, Leimbach 2015).

En el calostro también se encuentran linfocitos T que destruyen de manera directa a las células infectadas y linfocitos B que producen anticuerpos. Además, contiene una serie de componentes inmunológicos inespecíficos como la lisozima, una enzima que contribuye al desarrollo y mantenimiento de la flora intestinal, y la lactoferrina, la cual actúa como bactericida y proteína antiviral. Esta se encarga de transportar el hierro hasta los glóbulos rojos lo que provoca una deficiencia del mismo en las bacterias que lo requieren, también evita que lo tomen los virus previniendo de esta forma la presencia de diarrea (Lizcano y López 2009).

Además, el calostro posee vitaminas A y D que ayudan en el crecimiento, calcio, fósforo, magnesio, sodio, citrato, células fagocíticas que actúan como macrófagos presentadores de antígenos y diversos factores de crecimiento (Lizcano y López 2009).

### **Factores que afectan la calidad de calostro**

Un calostro de calidad adecuada posee una concentración de 60 g de inmunoglobulinas totales/litro. Esta se puede ver afectada por diversos factores como prelactación, raza y edad de la yegua (Robertson 2004, Walther et al. 2015).

**Prelactación:** Algunas yeguas pueden presentar pérdida del calostro antes del parto porque la producción del mismo supera la capacidad de almacenamiento de la ubre y el esfínter del pezón cede ante la presión. En estos casos, es importante ordeñar a la yegua y almacenar el calostro para suministrarlo al potro apenas nazca, de esta manera se evita el desperdicio del calostro y posibles deficiencias de inmunoglobulinas en la cría (Lizcano y López 2009). Esta es una de las causas más importantes de falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP) en potros ya que yeguas con lactancia prematura por 24 h antes del parto, tienden a tener concentraciones de IgG menores que aquellas que no la presentan (Robertson 2004).

**Raza:** Existen reportes que demuestran que la raza de la yegua puede afectar la concentración de inmunoglobulinas en el calostro. En un estudio, se midieron las concentraciones de IgG en calostro de yeguas pura sangre inglés y árabes y se observó un valor mayor en las hembras árabes ( $9,691 \pm 1,639$  mg/dl) que en las madres pura sangre ( $4,608 \pm 2,138$  mg/dL). Las yeguas árabes y cuarto de milla presentan mejor calidad de calostro que yeguas pura sangre inglés. Sin embargo, se necesita más investigación para determinar la influencia de este factor con exactitud (Robertson 2004, Walther et al. 2015).

Edad: Se han reportado estudios en los que se observa una asociación entre una edad mayor a 12 años de la madre y la presencia de FTIP en la cría. Sin embargo, hay otros estudios que indican que según la edad de la yegua no se presentan diferencias significativas en la concentración de IgGs en calostro. Experimentos futuros con muestras más grandes pueden aclarar el efecto de la edad (Robertson 2004).

Otras variables que pueden influenciar en la calidad de calostro son el número de lactancia, nutrición y condición corporal de la yegua, además de programas de vacunación, temporada del año y temperatura (Walther *et al.* 2015).

### **Importancia del calostro**

El estado inmune del potro es importante para los criadores ya que son susceptibles a múltiples enfermedades, estas pueden provocar gastos excesivos en tratamientos y poner en peligro la vida del animal (Hodge *et al.* 2016). La ingesta de calostro de buena calidad en el periodo después del nacimiento es crítica para que se dé la inmunidad pasiva (Davis *et al.* 2005).

El calostro es vital tanto por la protección que brinda al potro como por la energía que el mismo obtiene al tomarlo. La IgG, por ejemplo, es de vital importancia para el neonato ya que lo protege de posibles invasiones de virus, bacterias y hongos. En el caso de la energía, la fuente con la que nace la cría es muy baja, sus reservas de azúcar le alcanzan por apenas dos horas cuando no ha comido nada; las reservas de grasa son también muy pocas. Por esto, se le debe suministrar calostro al animal para evitar tanto enfermedades como desnutrición y debilidad (Lizcano y López 2009, Hou *et al.* 2016).

El potro debe ingerir al menos 500 ml de calostro cada dos horas, en 3 ó 4 tomas durante las primeras 12 horas de vida. Por esta razón, es importante estar atento de que el potro recién nacido mame lo más rápido posible y que se continúe

alimentando frecuentemente. Si una cría es incapaz de amamantarse por su propia cuenta, se debe ordeñar a la madre y suministrar el calostro con chupón o en un recipiente. Si está muy débil, puede utilizarse una sonda que llegue al estómago. El calostro es específico para cada especie, por lo que no se debe alimentar un potro con el calostro de otro animal, ya que no cumple las necesidades de la cría (Lizcano y López 2009).

La cantidad de calostro que el potro debe consumir depende de varios factores como: el peso del recién nacido, el grado de transferencia pasiva, el tiempo de administración y la calidad del calostro. Como medida, se ofrece un litro de calostro con una densidad relativa de por lo menos 1,06 a un potro de 50 kg al nacimiento (Videla 2006).

Después de la ingestión, las inmunoglobulinas (Igs) son absorbidas en el intestino delgado del potro por células epiteliales especializadas que se mantienen por 24 a 36 horas (Estepa 2007, Lizcano y López 2009, Auad et al. 2010, Walther et al. 2015). Esta absorción se da gracias a que las inmunoglobulinas se adhieren a un receptor Fc especializado que se ubica en las células epiteliales intestinales y se da de manera no selectiva mediante pinocitosis (Pastrana 2013). La mayor absorción de estas moléculas se da justo después del nacimiento, entre las primeras 6 y 8 horas y va declinando conforme pasa el tiempo. Tres horas después se reduce en un 22%, a las 12 horas de vida ya ha disminuido drásticamente para detenerse a las 24 horas (Davis et al. 2005, Galindo 2009, Lizcano y López 2009, Espinoza 2015, Walther et al. 2015, Freccero et al. 2016). La disminución en la absorción de las inmunoglobulinas se da por una sustitución de los enterocitos especializados por enterocitos maduros (Pastrana 2013).

La concentración de inmunoglobulinas en calostro también disminuye con el tiempo debido al aumento de la actividad funcional de la glándula mamaria, lo que provoca una dilución del calostro al aumentar la secreción. Entre las 9 y 12 horas se

reducen en un 50% y llega a un 85% a las 48 horas. Por esto es que luego de 24 horas, el calostro deja de ser importante inmunológicamente y se mantiene como una fuente nutritiva. De aquí la importancia de que la cría tome el calostro en las primeras 12 horas de vida. Luego de unos días, se convierte en leche (Galindo 2009, Lizcano y López 2009, Pastrana 2013).

### **Falla en la transferencia de inmunidad pasiva**

El neonato debe comenzar a alimentarse en las primeras dos horas después del nacimiento, un potro que no puede amamantarse después del parto, puede ingerir una baja o nula cantidad de inmunoglobulinas y por tanto, se produce falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), lo que provoca una alta incidencia de enfermedades neonatales de tipo infeccioso (Davis et al. 2005, Auad et al. 2010). La FTIP significa que la transferencia de inmunoglobulinas del calostro de la madre en las primeras 12 a 24 h de vida del potro fue insuficiente (Walther et al. 2015).

Para valorar el estado del potro, se realiza una evaluación de la cantidad de IgG en sangre (Estepa et al. 2007, Hou et al. 2016). Se toman muestras sanguíneas entre las 12 y 24 horas después del nacimiento para verificar que ha absorbido la cantidad de inmunoglobulinas adecuadas (Lizcano y López 2009). Un valor menor a 400 mg de IgG/dl de suero sanguíneo a las 24 horas de vida representa una falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP) (Galindo 2009, Franco y Oliver 2014). Actualmente, el mejor método para evaluar concentración de inmunoglobulinas séricas es la inmunodifusión radial (Davis et al. 2005).

La FTIP se divide en tres niveles; falla total cuando los potros tienen menos de 400 mg IgG/dl, falla parcial cuando los potros tienen entre 400 y 800 mg IgG/dl y absorción total cuando presentan más de 800 mg IgG/dl (Galindo 2009, Franco y Oliver 2014). Alrededor de un 25% de los potros sufren algún nivel de FTIP. Para alcanzar el nivel de absorción total el calostro brindado debe tener una densidad

relativa de al menos 1,05, valor que equivale a un promedio de 2200 mg/dl (Videla 2006, Lizcano y López 2009).

Cuando se presenta esta falla en la transferencia de inmunidad pasiva se dan deficiencias de anticuerpos a la hora de proteger al potro de patógenos (Koke 2014). La FTIP se da por muchos factores, los cuales se pueden dividir en tres grupos: ausente, reducida o retardada ingestión de calostro, ingestión de calostro de baja calidad y absorción insuficiente (Walther et al. 2015, Freccero et al. 2016). Entre estos factores se encuentran una concentración baja de inmunoglobulinas en el calostro de la madre, partos prematuros, administración de una baja cantidad de calostro, alteración en la absorción intestinal de las Igs en el potro, herida o enfermedad en el potro, lactancias preparto o hembras mal alimentadas o enfermas (Galindo 2009, Auad et al. 2010, Franco y Oliver 2014, Davis et al. 2015).

Esta condición es uno de los factores de riesgo para las tasas de morbilidad y mortalidad durante el período neonatal (Franco y Oliver 2014, Hou et al. 2016), ya que el animal se encuentra susceptible a cualquier agente infeccioso por no tener un mecanismo de defensa (Galindo 2009). Las crías con FTIP que no son diagnosticadas o tratadas tienen mayor posibilidad de desarrollar septicemia, artritis séptica, enteritis, neumonía, entre otras enfermedades. Estas mismas si no se abordan adecuadamente, son las que provocan más muerte en los neonatos (Galindo 2009, Walther et al. 2015).

En un estudio en Argentina se analizaron muestras de suero sanguíneo de yeguas y sus potros, además de muestras en el calostro, para estudiar su contenido de IgG, los resultados se muestran en la Figura 1. En ella se demuestra que el neonato no posee inmunoglobulinas G a la hora de su nacimiento y que va aumentando en cantidad conforme pasan las horas después de haber consumido el calostro de su madre y se da la absorción del mismo. Se evidencia también la alta cantidad de inmunoglobulinas presentes en el calostro (Auad et al. 2010).

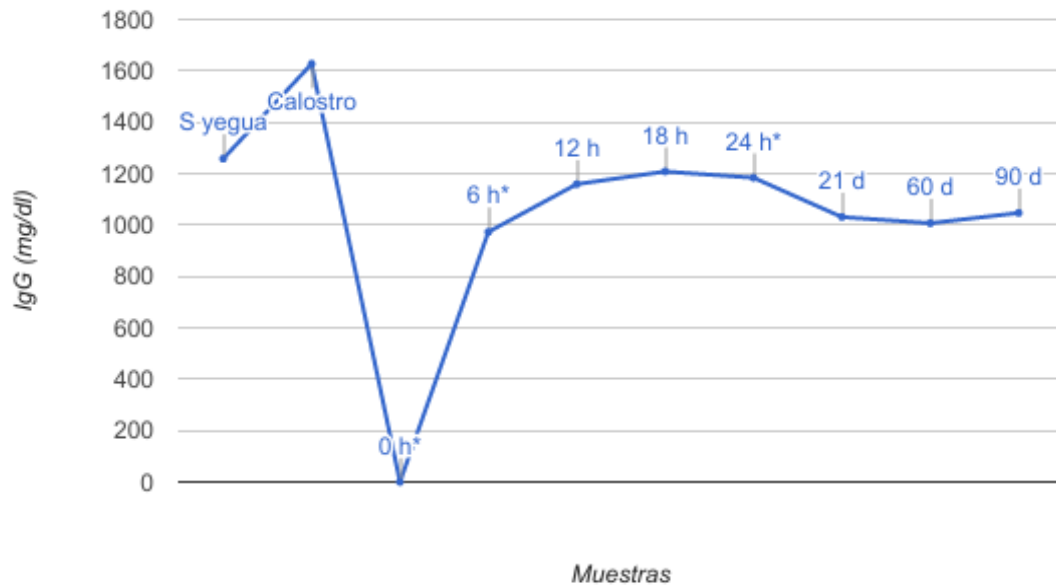


Figura 1. Evolución media de la concentración de IgG en suero de la yegua (S yegua), en calostro y en suero de potrillos hasta los 90 días postparto. (\*)Corresponde a  $p < 0,05$ . Modificado de: Auad et al. (2010).

### Medición de la calidad del calostro

Existen diferentes técnicas para la medición de la calidad de calostro. La inmunodifusión radial (RID por sus siglas en inglés), es la técnica más precisa para la evaluación de cantidad de IgG. Sin embargo, se realiza en laboratorio y requiere de 18 a 24 h aproximadamente para mostrar los resultados por lo que no se puede aplicar en finca (Bielman et al. 2010, Hou et al. 2016). Este método es también utilizado para la medición de inmunoglobulinas en suero sanguíneo. Para esto, el suero es colocado en una matriz que contiene anticuerpos específicos contra cada inmunoglobulina (IgA, IgG, IgM). La inmunoglobulina se precipita formando un anillo, el cual es medido para conocer la concentración de la misma (Davis et al. 2005).

El método de inmunodifusión radial utiliza una base de gel de agarosa con un anticuerpo específico. Al agregar el suero sanguíneo en los pozos dentro del gel, el antígeno difunde hacia el gel y genera un gradiente de concentración hasta llegar a



una zona de equivalencia. En este punto, el inmunocomplejo deja de ser soluble y precipita formando un anillo visible, la concentración del antígeno tiene relación directa con el diámetro del anillo, por cuanto entre más grande el anillo, mayor concentración (Pastrana 2013).

Otra manera de medir la calidad del calostro es mediante el uso de calostrómetros, estos se adecúan al uso en finca ya que se tardan unos cuantos minutos en la medición, sin embargo, son afectados por la temperatura de la muestra y son frágiles (Bielman et al. 2010). Este mide la densidad del calostro, entre mayor sea su valor, mayor cantidad de IgGs. La precisión de la medida depende de la utilización de un volumen exacto de 15 ml (McCue 2016). La interpretación de los resultados con este dispositivo se muestra en el Cuadro 2.

También se usa el refractómetro, un dispositivo que mide el índice refractométrico de líquidos en una escala Brix. En el caso del calostro mide la refracción de la luz que incide sobre una gota del mismo, determina proteínas totales en g/dl o mg/dl (Lizcano y López 2009). Mediante su uso se puede medir la cantidad de proteínas totales en sangre, la cual es una medida indirecta de la concentración de IgG y no es afectado por la temperatura de la muestra. En el calostro de yeguas, se observó que medidas tomadas con el refractómetro estaban altamente correlacionadas ( $R^2 = 0,85$ ) con las concentraciones de inmunoglobulinas determinadas por el RID (Bielman et al. 2010).

En yeguas, se reporta un volumen promedio de 5,1 L de calostro con un rango de 3,2 a 7 L, con un contenido de 440 g de IgG en promedio. Se han observado valores de sólidos totales y grasa de 24,25 y 26,28%, respectivamente. Diferencias en la composición de calostro de distintas especies, especialmente altos niveles de grasa y sólidos totales, pueden alterar los resultados con el uso del refractómetro (Bielman et al. 2010).

Existe en el mercado un refractómetro de calostro equino ARS, el cual presenta los sólidos totales como un porcentaje, entre mayor sea el valor, mayor cantidad de sólidos totales y, por tanto, mayor nivel de IgG en el calostro (McCue 2016). En el Cuadro 2, se observa la forma de interpretación de los resultados obtenidos con este dispositivo.

Cuadro 2. Interpretación de los resultados obtenidos con el refractómetro y calostrómetro.

Calidad del calostro	Gravedad específica	Concentración de IgG (g/L)	Brix (%)
Malo	< 1,06	0-28	<15
Moderado	1,06-1,07	28-50	15-20
Bueno	1,08-1,09	50-80	20-30
Muy bueno	≥ 1,10	>80	>30

Modificado de: McCue (2014), McCue (2016).

### Levaduras en la suplementación de equinos

Durante las dos últimas décadas, se han utilizado probióticos como aditivos alimenticios de los animales de producción, de manera que se mejora la eficiencia digestiva y productiva del animal al disminuir la prevalencia de patógenos y estimular el sistema inmune en general en muchas especies animales. Se ha observado que la levadura *Saccharomyces cerevisiae* produce un efecto inmunoestimulante en general, en el que se aumentan las concentraciones de inmunoglobulinas en caballos y bovinos (Leimbach 2015, Vhora et al. 2016).

La adición de levaduras como probióticos en las dietas de caballos facilita el mantenimiento de una flora intestinal sana, además de que produce una mejora en la asimilación de la dieta y promueve el crecimiento y rendimiento de los animales. En los equinos específicamente, la suplementación con levaduras tiene como

objetivo el manejo del estrés, la mejora de la fermentación intestinal y la calidad y cantidad de leche producida (Leimbach 2015, Vhora et al. 2016).

Las levaduras contienen unos polisacáridos estructurales llamados glucanos que funcionan como adyuvantes e inmunoestimulantes al aumentar la actividad de macrófagos, células T, B y NK (asesinas naturales, por sus siglas en inglés). De las levaduras también se derivan los mananoligosacáridos (MOS), los cuales estimulan la fagocitosis y actividad de los macrófagos (Rondón 2004, Koke 2014).

Además de la levadura como tal, se han desarrollado productos comerciales con cultivos de levaduras y se han utilizado en caballos para estimular la flora microbiana en el intestino y mejorar la digestibilidad de los nutrientes (Perrone et al. 2013). Aquellos que contienen mananoligosacáridos han sido usados como probióticos y prebióticos en las dietas tanto de humanos como de animales domésticos. Estos suplementos brindan nutrientes para la flora intestinal, promoviendo que los microorganismos benéficos proliferen y desplacen a los microorganismos no benéficos. El uso de este tipo de productos se asocia a que los sistemas digestivo e inmune sean más funcionales y saludables (Srivastava et al. 2014, Vhora et al. 2016). Los MOS, además del efecto positivo en el sistema inmune, actúan como sitios de adherencia en el intestino para algunas bacterias patógenas, lo que provoca que cuando estas se adhieran a ellos, salgan del tracto gastrointestinal sin poder desencadenar la enfermedad (Robertson 2004, Castro y Rodríguez 2005).

Algunos de estos productos comerciales contienen paredes celulares y cultivos de levaduras, los cuales actúan como inmunoestimulador e inmunoregulador, incrementando la resistencia a bacterias que afectan los sistemas digestivo y respiratorio, mejorando la respuesta en la capacidad inmunológica. Esta inclusión antes del parto estimula al sistema inmune para que sea competente en la defensa del cuerpo, lo cual es importante ya que cuando este se encuentra en

óptimas condiciones se da una producción de calostro de mejor calidad (Campos-Granados y Rojas-Bourillon 2015).

La pared celular de las levaduras estimula el sistema inmune en mamíferos gracias a mecanismos relacionados con glucanos, de esta manera, se promueven aspectos de este sistema principalmente en relación a respuestas inflamatorias. Esto debido a que se activan receptores de glucanos presentes en los leucocitos sanguíneos periféricos y macrófagos extravasculares, esto provoca la ampliación de las defensas del animal (Castro y Rodríguez 2005). También se utilizan levaduras vivas en los equinos para mejorar la digestibilidad de los nutrientes, aumentar la absorción de minerales y mejorar las tasas de crecimiento (Perrone et al. 2013).

## PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA

### Descripción de la granja

El experimento se desarrolló en la Ganadería Meza, ubicada en Peralta, Grecia, Costa Rica con una altitud de 760 m.s.n.m., una precipitación anual promedio de 2084,5 mm y una temperatura promedio de 23,8 °C (IMN 2018). Esta finca se dedica a la cría de caballos de Pura Raza Española e Iberoamericana para su venta tanto dentro como fuera del país. La explotación está dividida en dos áreas, una de cría en donde se mantienen las yeguas, los potros en desarrollo y algunos machos reproductores y capones que se montan en el lugar, y otra donde se encuentran los demás machos enteros y los caballos que serán llevados a competencias.

Las yeguas se mantienen de manera permanente en los potreros de la misma granja; sin embargo, para el experimento se llevaron las yeguas prontas a unas cuadras que funcionaron como parideras y se mantuvieron en éstas hasta que se preñaran nuevamente o según la disponibilidad de espacio.

### Descripción de animales y tratamientos

Se utilizaron en total 20 yeguas preñadas Pura Raza Española, se tomó en cuenta el número de parto de cada animal ya que a mayor número de partos, se espera una mejor calidad del calostro (Walther et al. 2015). Se utilizaron dos grupos de 10 yeguas cada uno, el primer grupo se mantuvo como un control no suplementado y el segundo recibió una suplementación durante los últimos 30 días antes de la fecha proyectada de parto, con 30 g diarios de Celmanax®, el cual está compuesto por pared celular hidrolizada y cultivos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*). En el Cuadro 3 se muestra la composición nutricional del producto comercial utilizado, éste fue agregado sobre el alimento balanceado ofrecido a las 12 md. Las yeguas por suplementar fueron llevadas a las cuadras ya mencionadas

para asegurar el consumo del producto. La separación de las yeguas en los dos grupos se realizó según la disponibilidad de espacio en las cuadras, en el momento en que una yegua se acercaba a los últimos 30 días de preñez se revisaban los espacios, si se encontraba uno disponible se incluía la yegua en el grupo de tratamiento, por el contrario, si no se encontraban cuadras disponibles, la yegua se incluía en el grupo control.

Cuadro 3. Composición nutricional de la pared celular y cultivo de levaduras (Celmanax<sup>®</sup>) suministrado a las yeguas parto.

Nutriente, %	Contenido
Humedad	12,00
Proteína cruda mínima	20,00
Extracto etéreo mínimo	1,00
Fibra cruda máxima	10,00

Fuente: VICOR Dairy Products.

### Alimentación de las yeguas

Para la alimentación de las yeguas se ofreció 2 kg (base fresca) de alimento balanceado Corcel<sup>®</sup> alto desempeño producido en la planta de alimentos balanceados de la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L., pasto brachipará (*B.arrecta x B.mutica*) de manera *ad libitum*, producido en la finca a una edad de cosecha de 60 días y 3,5 kg (base fresca) de heno de pasto transvala (*Digitaria decumbens*). El contenido nutricional del alimento balanceado Corcel<sup>®</sup> alto desempeño se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Contenido nutricional del alimento balanceado Corcel® alto desempeño.

Nutriente	Contenido
Materia seca, %	88,00
Proteína cruda, %	14,00
Fibra cruda, %	10,00
Energía digestible, Mcal/kg	3,35
Ca, %	1,32
P, %	0,55

Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad, Dos Pinos (Marzo 2016).

La composición nutricional para el pasto brachipará se muestra en el Cuadro 5. La energía digestible del pasto se obtuvo mediante la siguiente fórmula (NRC 2007):  $ED \text{ (Mcal/kg)} = 4,22 - 0,11 \times (\%FDA) + 0,0332 \times (\%PC) + 0,00112 \times (\%FDA)^2$ .

Cuadro 5. Contenido nutricional del pasto brachipará (*B.arrecta* x *B.mutica*) a una edad de cosecha de 60 d.

Nutriente	Contenido
Materia seca, %	29,70*
Proteína cruda, %	12,10*
Fibra detergente ácida, %	41,70*
Fibra detergente neutro, %	66,40*
Extracto etéreo, %	1,91*
Lignina, %	4,09*
Cenizas, %	11,37*
Energía digestible, Mcal/kg	1,92**

\*Fuente: Laboratorio de Aseguramiento de Calidad, Dos Pinos. \*\*NRC (2007) (Enero 2016).

El contenido nutricional del heno de transvala se muestra en el Cuadro 6.



Cuadro 6. Contenido nutricional del heno de transvala (*Digitaria decumbens*).

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*
Energía digestible, Mcal/kg	1,79**

\*Fuente: Campos-Granados y Rojas-Bourillon (2015). \*\*NRC (2007).

### Determinación de la calidad de calostro

Las muestras de calostro se obtuvieron vía manual, mediante la utilización de jeringas plásticas de 60 cc modificadas (Lizcano y López 2009). Para esto se retiró el émbolo, se hizo un corte en el barril de la jeringa, aproximadamente a 1 cm por encima de donde se coloca la aguja y se posicionó el émbolo del lado contrario, en la parte final del barril (Figura 2). Para la obtención de la muestra, se colocó el pezón en la abertura de la jeringa y se jaló el émbolo lentamente, de esta manera se succionó el calostro fácilmente (Figura 3).

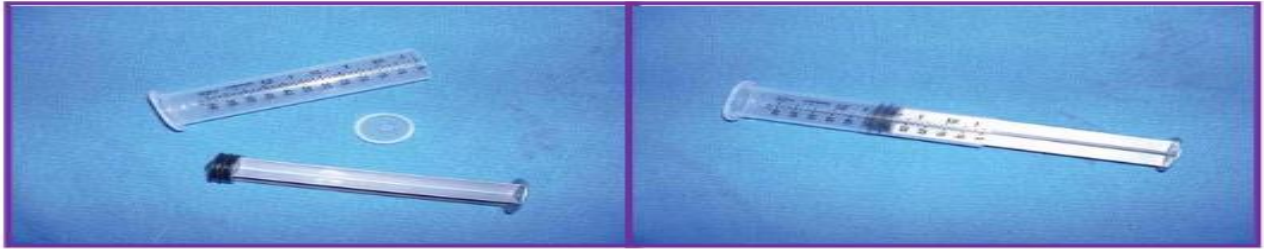


Figura 2. Jeringa de 60 cc utilizada como ordeñador. Fuente: Lizcano y López (2009).



Figura 3. Obtención de las muestras de colostro por medio de las jeringas de 60 cc.

Para determinar la calidad del colostro se utilizó un calostrómetro equino (Laboratorios Jorgensen, Loveland, Colorado). Se obtuvo una muestra de colostro de 15 ml mediante el ordeño de los dos pezones de las yeguas y se colocó en el calostrómetro. Este instrumento fue introducido en una probeta plástica con agua destilada para realizar la medición de la calidad del colostro según la flotación del mismo en el agua (Figura 4).



Figura 4. Medición de la calidad de calostro con el calostrómetro equino (Laboratorios Jorgensen, Loveland, Colorado).

Con el fin de valorar la técnica de refractometría para determinar la concentración de grados Brix en el calostro, se utilizó un refractómetro óptico (ATAGO ATC-1), con compensación automática de temperatura entre 10 y 35 °C con una escala hasta 32 grados Brix. Primero se realizó una medición con agua destilada para asegurar la correcta calibración del refractómetro y después de la limpieza del aparato se realizó la medida del calostro (Figura 5). La interpretación de los resultados obtenidos se realizó con la información proporcionada en el Cuadro 2.



Figura 5. Medición de la calidad del calostro con el refractómetro (ATAGO ATC-1).

El calostro de las 20 yeguas en el estudio fue evaluado con el calostrómetro y refractómetro; sin embargo, con respecto a los resultados del calostrómetro no se puede contar con un dato debido a que en el momento en que se introdujo el calostrómetro en el agua destilada se hundió completamente, lo que condujo a la pérdida de la muestra.

### **Manejo de los animales**

Las crías fueron pesadas después del nacimiento con una balanza móvil y se mantuvo una vigilancia para verificar que fueran capaces de ponerse en pie e ingerir calostro de su madre. Se supervisaron durante 6 horas para asegurar que se estuvieran alimentando. Transcurridas las seis horas, los potros fueron pesados nuevamente para estimar un consumo de calostro por diferencia de pesos, este método de pesaje antes y después de que el animal mame ha sido utilizado para evaluar la cantidad de leche ingerida por los potros, con lo que se ha logrado

estimar la producción de leche de las yeguas, además se ha utilizado en cerdos para estimar el consumo de calostro (Doreau y Boulot 1989, Devillers et al. 2004, Mauro et al. 2005). Se realizó un seguimiento del crecimiento de los potros mediante el pesaje cada 15 días hasta las 6 semanas de vida (Figura 6). Durante cada visita a la finca se evaluó la salud general de los potros, anotando la presencia de diarreas o algún otro problema evidente.



Figura 6. Pesaje de potro con la balanza móvil.

Se evaluó la condición corporal de las yeguas antes y después del parto en una escala de 5, en la cual 3 indica que la yegua posee un estado adecuado, el 2 que posee un estado moderado de condición y el 4 muestra un animal con un leve exceso de peso (García et al. 2009). Se observó el estado de salud de las yeguas y los potros en cada visita realizada a la explotación.

### **Determinación de la transferencia de inmunidad pasiva**

Se extrajo una muestra de aproximadamente 10 ml de sangre de los potros a las 24 h de nacidos por venopunción yugular en un tubo sin aditivos. Las muestras

fueron sometidas a un centrifugado de 3000 rpm durante 10 minutos para separar el suero (Hodge et al. 2016). Posteriormente, fueron divididas en 2 alícuotas para mantener una cantidad de muestras extra y se mantuvieron en congelación hasta que se dieron todos los partos. Luego de este periodo, fueron sometidas a descongelación para realizar la medición de la concentración de inmunoglobulinas G. Se utilizó el método de inmunodifusión radial (Equine IgG Test Kit 200-3000 mg/dl Triple J Farms, Bellingham, WA) (Figura 7).



Figura 7. Microtubos con muestras séricas y kit de inmunodifusión radial.

Posteriormente se utilizó una micropipeta para obtener 5 microlitros y colocarlos en los pozos del kit, el cual contiene gel de agarosa para hacer la medición. Cada muestra adicionada en el kit fue identificada mediante un mapa, en el cual se documentó el número de pozo y el número de la muestra. Finalmente, el plato fue almacenado en una bolsa plástica con una toalla humedecida para evitar que el gel se secase.

El análisis fue realizado en el laboratorio de fertilización *in vitro* de la Escuela de Medicina Veterinaria en la Universidad Nacional. Las muestras fueron homogenizadas en un vortex de esta manera se aseguró que en toda la muestra se encontrara la misma concentración, después fueron decantadas en un microtubo

para facilitar su manejo (Figura 7). Los microtubos fueron numerados del 1 al 20, cada número representando a una de las yeguas y se documentó para mantener la identificación de las muestras.

### **Análisis de la información**

La información fue analizada mediante el software estadístico de código abierto R, versión 3.5.1 (R Core Team 2018). Cuando en el análisis de los datos se observaron diferencias significativas se utilizó el paquete *emmeans* (complemento de R) (Lenth 2018) para obtener las medias de mínimos cuadrados (también conocidas como medias marginales) y determinar la diferencia existente entre los grupos.

Para el ajuste de los modelos se usó el paquete *nlme* (complemento de R) y se siguieron las indicaciones de Pinheiro et al. (2018).

#### *Calidad del calostro:*

La información recolectada con el calostrómetro y el refractómetro se analizó mediante un diseño irrestricto al azar con covarianza del factor número de parto de la yegua, utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta\pi + \epsilon_{ij}$$

Dónde:  $Y_{ij}$  es la medida de calidad de calostro obtenida con el calostrómetro o refractómetro para la  $j$ -ésima yegua, que recibe el tratamiento  $i$ -ésimo.

$\mu$  es el promedio general.

$\tau_i$  es el efecto del tratamiento  $i$ -ésimo.

$\pi$  es la covariable del número de partos de la yegua, con su coeficiente  $\beta$ .

$\epsilon_{ij}$  es el error aleatorio para la medición de la yegua  $j$  que recibió el tratamiento  $i$ .

#### *Transferencia de inmunidad pasiva:*

La información correspondiente a la absorción de inmunoglobulinas se analizó mediante un diseño irrestricto al azar con covarianza de los factores número de parto y peso al nacimiento, usando del siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_1\pi + \beta_2\eta + \beta_3\gamma + \epsilon_{ij}$$

Dónde:  $Y_{ij}$  es la medida de concentración de inmunoglobulina G para el  $j$ -ésimo potro, que recibe el tratamiento  $i$ -ésimo.

$\mu$  es el promedio general.

$\tau_i$  es el efecto del tratamiento  $i$ -ésimo.

$\pi$  es la covariable del número de partos de la yegua, con su coeficiente  $\beta_1$ .

$\eta$  es el efecto del peso al nacimiento del potro, con su coeficiente  $\beta_2$ .

$\gamma$  es el efecto de la concentración de proteínas del calostro, medido con el refractómetro, con su coeficiente  $\beta_3$ .

$\epsilon_{ij}$  es el error aleatorio para la medición de la yegua  $j$  que recibió el tratamiento  $i$ .

#### *Crecimiento de los potros:*

Con respecto al crecimiento de los potros, los datos recolectados fueron analizados mediante un modelo de medidas repetidas, con la siguiente estructura de efectos fijos:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + S_j + Sex_k + \beta_1M + \beta_2P + \beta_3t + \beta_4t^2 + \beta_5T^*t + \beta_6T^*t^2 + \epsilon_{ijkl}$$

Donde  $Y_{ijkl}$  es la observación del peso para el animal  $l$ -ésimo.

$\mu$  es el promedio general.

$T_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento (control, tratamiento).

$S_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo padre (...).

$Sex_k$  es el efecto del sexo de la cría.

$\beta_i$  con  $i = 1, 2, \dots, 6$  son los coeficientes de regresión lineal para las variables cuantitativas.

$M$  es la covariable del peso de la madre

$P$  es la covariable del peso del padre

$t$  y  $t^2$  son las covariables del tiempo de medición y tiempo de medición al cuadrado



(nótese que se agrega como predictor cuantitativo, ya que los tiempos de medición no son equidistantes)

$T^*t$  y  $T^*t^2$  son, respectivamente, las interacciones entre el tratamiento y el tiempo y el tratamiento y el cuadrado del tiempo.

$\epsilon_{ijkl}$  es el error asociado a la medición del animal  $l$ -ésimo.

Como factor aleatorio se incluyó el potrero. Se probaron diferentes estructuras de covarianza de medidas repetidas, para encontrar que el mejor ajuste (determinado mediante el criterio de información de Akaike - AIC - y la observación de los semivariogramas) se obtuvo mediante una matriz gaussiana.

Para obtener el peso de las yeguas fue necesario hacer una corrección para eliminar el peso del feto según los meses de preñez. Para tal fin se utilizó la siguiente fórmula (NRC 2007):  $1 \times 10^{-7} X^{3,5512}$  que provee el valor del peso fetal como un porcentaje del peso al nacimiento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Calidad del calostro

Los resultados de la calidad del calostro para los grupos de control y tratamiento se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Densidad y grados Brix de los calostros obtenidos de las yeguas en los diferentes tratamientos.

Grupo	N	Densidad mg/ml	N	Grados Brix
Control	9	1,07±0,006	10	25,20±1,63
Tratamiento	10	1,08±0,006	10	25,20±1,63

La suplementación con cultivo de levaduras y pared celular hidrolizada no tuvo efectos sobre la calidad del calostro. Un calostro de calidad adecuada debe poseer 60 g de inmunoglobulinas totales/litro, esta concentración se puede ver afectada por diversas razones relacionadas directamente con la yegua o su ambiente (Robertson 2004, Walther et al. 2015). Entre estos factores se encuentran la prelactación, se ha observado que esta es una de las causas más importantes de FTIP en potros ya que la yegua comienza a expulsar el calostro antes del parto, por lo que al nacer la cría tienen menos disponibilidad del calostro de su madre y con ello de inmunoglobulinas. También se ha reportado una asociación entre una edad mayor a 12 años de la madre y la presencia de FTIP en la cría (Robertson 2004, Lizcano y López 2009). Otras variables que pueden influenciar la calidad de calostro son el número de lactancia, nutrición, condición corporal y raza de la yegua, además de programas de vacunación, temporada del año y temperatura (Walther *et al.* 2015).

En un estudio de Tyler-McGowan et al. (1997) se evaluó la FTIP en potros y se midió la gravedad específica del calostro de 57 yeguas mediante un

calostrómetro (Jorver, Jorgensen Laboratories Inc, Loveland, CO, USA). Las muestras de calostro fueron recolectadas antes de que el potro se amamantara. En este caso, el valor promedio obtenido fue de  $1,064 \pm 0,016$  y se obtuvo un rango de 1,030 a 1,100.

Cauchard et al. (2004) inmunizaron yeguas con dos vacunas diferentes para evaluar si existía una mejoría en la concentración de inmunoglobulinas en el calostro. Utilizaron un grupo control y dos grupos de tratamiento en los cuales el número uno recibió una vacuna que consistía en un antígeno proteico de VapA (proteína A asociada con virulencia de *R. equi*) y el número dos recibió otra vacuna que consistía en una preparación de *R. equi* muerto con formaldehído. Los resultados son expresados como títulos de anticuerpos, se encontraron diferencias significativas en los valores de IgG en los calostros de las yeguas del grupo 1 ( $49.110 \pm 12.977$ ;  $P < 0.0001$ ) y del grupo 2 ( $43.204 \pm 30.644$ ;  $P = 0.0005$ ) al compararlos con los calostros de las yeguas del grupo control ( $7.155 \pm 8.601$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos 1 y 2 ( $P > 0.05$ ).

Krakowski et al. (1999) evaluaron el efecto de la inmunización con 1,3/1,6 glucano y levamisol en el calostro de yeguas. Se encontraron diferencias significativas en la gravedad específica y concentración de IgG de los calostros de yeguas inmunizadas contra los calostros de las yeguas control, la concentración de IgG en calostro fue medida mediante inmunodifusión radial. En el caso de las yeguas inmunizadas con levamisol, se obtuvo un promedio de 1,07 medido con un calostrómetro y de 16.633 mg de IgG/ dl. En el grupo de glucano se obtuvo un promedio de 1,07 de gravedad específica y de 14.311 mg de IgG/dl, mientras que para el grupo control se obtuvo un promedio de 1,05 mediante el calostrómetro y 6.155 mg de IgG/dl.

Pese a que tanto el calostrómetro como el refractómetro para Grados Brix son utilizados para determinar la calidad del calostro, se considera al calostrómetro como un instrumento más difícil de utilizar debido a que es sensible a la temperatura del calostro a medir (Quigley et al. 2013) y que la precisión del resultado depende de un volumen exacto de 15 ml (McCue 2016). Se ha observado en estudios hechos en vacas lecheras que la gravedad específica del calostro depende de otros factores como raza, número de lactación, mes del parto y está más asociado a la concentración proteica del calostro que a la de IgG. Esto plantea mayores limitantes para la utilización de este instrumento en la categorización del calostro (Morin et al. 2001).

Por otro lado, el refractómetro para grados Brix es un instrumento fácil de usar y que no es afectado por la temperatura de la muestra (Bielman et al. 2010). Según Korosue et al. (2012), el refractómetro es más preciso, tiene más repetibilidad y es más fácil de usar en campo para evaluar la calidad del calostro que el calostrómetro. Al utilizar un refractómetro para evaluar la calidad del calostro de yegua se debe obtener como resultado un porcentaje de 20 a 30 Grados Brix para ser considerado de buena calidad (McCue 2014, McCue 2016). En un estudio de Bielman et al. (2010), se realizó la correlación entre el uso de refractómetros ópticos y digitales con la inmunodifusión radial para muestras de calostro congelado de vacas lecheras. En este caso, para el refractómetro óptico se obtuvo una correlación de 0,71 ( $P < 0,001$ ;  $n = 272$ ) y para el digital 0,73 ( $P < 0,001$ ;  $n = 273$ ), lo que indica que es un instrumento apropiado para la medición de la calidad del calostro.

A pesar de sus desventajas, los dos instrumentos fueron utilizados en el presente proyecto para obtener mayor información de la calidad del calostro y observar si los resultados eran similares entre ellos. Sin embargo, no se encontraron diferencias sobre la valoración de la calidad del calostro en las lecturas obtenidas

con ninguno de los dos dispositivos, lo que permite considerar que por facilidad de uso el refractómetro es un instrumento confiable para estimar calidad de calostro.

Surwase (2016) evaluó la calidad del calostro de las yeguas mediante el uso de un refractómetro para Grados Brix y un calostrómetro. En este caso se midió el calostro de 12 yeguas, con el calostrómetro se obtuvo un promedio de  $1,27 \pm 0,09$ , mientras que con el refractómetro se obtuvo un promedio de  $26,9\% \pm 0,97$ .

En Thorson et al. (2010) se evaluó el efecto de la nutrición de las yeguas y la suplementación con selenio y metionina en el último tercio de la gestación. La calidad del calostro fue evaluada mediante un inmunoensayo turbidimétrico para obtener la concentración de IgG, además se utilizó un refractómetro y calostrómetro para obtener grados Brix y densidad respectivamente y con esto medidas indirectas de IgG. No se encontraron diferencias significativas en la concentración de IgG en calostro debido a la suplementación con selenio y metionina. Se obtuvieron valores menores de IgG ( $P = 0,03$ ) y de grados Brix ( $P = 0,01$ ) en el calostro de las yeguas que fueron alimentadas con granos.

En los tratamientos donde solo se ofreció pasto y pasto con la suplementación se obtuvieron valores de IgG de 114,1 y 139,1 g/L respectivamente; mientras que para los tratamientos de pasto y granos y pasto, granos y suplementación se obtuvieron valores de 78,1 y 74,8 g/L respectivamente. En cuanto a los grados Brix, los datos obtenidos para los tratamientos de pasto y pasto con suplementación fueron de 32,1 y 32,2 %, respectivamente; mientras que para los tratamientos de pasto con granos y pasto, granos y suplementación fueron de 26,1 y 26,5%, respectivamente. En los valores de densidad del calostro medida por un calostrómetro equino no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, los valores recolectados para los grupos de pasto, pasto con suplementación, pasto con granos y pasto con granos y suplementación fueron de 1,09; 1,08; 1,07 y 1,09 respectivamente (Thorson et al. 2010).

Al presente, la información sobre equinos es limitada; sin embargo, es posible comparar los datos del presente proyecto con otros estudios como Hansen et al. (2017), en donde no se encontraron diferencias significativas en concentración de IgG en el calostro entre las yeguas suplementadas y las control, sin embargo sí hubo diferencias significativas en la IgA ( $p=0,04$ ). En este caso, se utilizó una especie diferente de levadura (*Pichia guilliermondii*), con una dosis promedio de 31,25 g por yegua durante 28 días antes de la fecha esperada de parto y 14 días de lactancia y se midieron las concentraciones de IgG e IgA mediante un kit de ELISA. El promedio de peso de las yeguas utilizadas por Hansen et al. (2017) fue de 625 kg, mientras que para el presente estudio fue de 556 kg. La similitud de los resultados entre ambos proyectos se puede explicar por las condiciones parecidas de suplementación de los animales en cuanto a dosis y días de tratamiento antes del parto.

En un estudio realizado por Robertson (2004) se encontraron valores mayores para IgG ( $p=0,033$ ), IgA ( $p=0,008$ ) y una tendencia hacia valores mayores para la IgM ( $p=0,076$ ) en el calostro de yeguas suplementadas con 10 g de mananoligosacáridos (MOS) mezclados con 45 g de maíz molido durante 56 días antes de la fecha esperada de parto y 28 días post parto. Para la IgG se obtuvo un promedio de  $10.242,2 \pm 1181,1$  mg/dl en el grupo control y  $12.824,0 \pm 2245,6$  mg/dl en el suplementado, para la IgA  $47,7 \pm 9,5$  mg/dl y  $112,1 \pm 38,9$  mg/dl respectivamente y para la IgM  $133,2 \pm 12,2$  mg/dl y  $154,1 \pm 8,1$  mg/dl respectivamente. Los resultados de Robertson (2004) difieren de los valores obtenidos en el presente estudio, estas diferencias pueden deberse a que si bien el producto utilizado en la presente investigación posee MOS por ser derivado de la levadura, no presenta el mismo estado de pureza utilizado, lo que puede limitar el estímulo inmunitario del animal. También se encuentran otras diferencias entre los estudios que pueden afectar los resultados, tal es el caso de la raza utilizada, ya que Robertson (2004) suplementó

yeguas inglesas y cuarto de milla y el método de evaluación, debido a que las inmunoglobulinas en calostro fueron medidas mediante un kit de RID.

Estos mananooligosacáridos (MOS) utilizados por Robertson (2004) son complejos de glucomananoproteína derivados de la pared celular de la levadura (Rondón 2004). La manosa es el monosacárido que forma al MOS; sus enlaces no son separados al ser ingeridos puesto que en el intestino delgado no se encuentran las enzimas digestivas para lograrlo, por lo que pasa intacto al intestino grueso. Residuos de manosa en el intestino funcionan como sitio de unión para patógenos con fimbrias tipo 1 que contienen lectinas manosa específicas. La adherencia al intestino es necesaria para iniciar la infección en el cuerpo, por lo que al unirse a las manosas los patógenos no logran estabilizarse para colonizar y multiplicarse al nivel que necesitan para desencadenar la enfermedad (Robertson 2004, Spring et al. 2015).

Los MOS poseen conjugados de proteínas que están involucrados en interacciones con el sistema inmune de los animales y puede mejorar su actividad. En caballos han sido utilizados como aditivos nutricionales como una alternativa natural para mantener la microbiota benéfica y con esto mejorar la salud en general, el bienestar y la longevidad (Spring et al. 2015). Los MOS son aditivos con capacidad inmunoestimulante que han demostrado estimular la fagocitosis y actividad de macrófagos en pollos de engorde (Rondón 2004).

Ayad et al. (2017) utilizaron la misma especie de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) pero como levadura viva en yeguas árabes y barbe, que fueron suplementadas con 10 g/d a partir del día 300 de gestación hasta el día 180 post parto. En el estudio no se menciona el promedio de los días de gestación para conocer el valor de los días de suplementación, sin embargo, la gestación de la yegua tiene una duración de aproximadamente 330 días por lo que la suplementación preparto en este caso sería cercana a los 30 días. El calostro fue

evaluado de manera diferente, se utilizó un kit de RID para medir la concentración de inmunoglobulinas. En este caso, las yeguas en el grupo tratamiento obtuvieron mayor cantidad de IgG1 en el calostro ( $122,25 \pm 145,59$  g/l) que las yeguas control ( $104,51 \pm 157,15$  g/l).

Estudios en cerdas (Czech et al. 2010, Zanello et al. 2013) han demostrado que la suplementación con productos de levaduras o sus componentes en el parto pueden provocar un estímulo en el sistema inmune y mejorar la calidad del calostro de las madres. Estos efectos pueden ser explicados según el componente que posea el producto utilizado para la suplementación, por ejemplo, las levaduras tienen glucanos como componentes de su pared que poseen una función inmunoestimulante y logran aumentar la actividad de macrófagos, células T, B y NK (asesinas naturales) (Rondón 2004).

Además, los  $\beta$ -1,3/1,6-glucanos se unen específicamente a un receptor en los fagocitos que ha sido mantenido a través de la evolución de animales y humanos. Cuando se forma este complejo entre los glucanos y el receptor, las células se vuelven más activas para fagocitar, destruir y digerir bacterias, también producen citoquinas como la IL-2, IFN- $\gamma$  (interferón gamma) y TNF $\alpha$  que estimulan la producción de leucocitos. Los  $\beta$ -glucanos también son capaces de estimular la oxidasa de la explosión respiratoria de los fagocitos. Cuando los  $\beta$ -1,3 glucanos son ingeridos estimulan receptores de células M en las placas de Peyer en la mucosa del intestino, esto produce una señal mediada por citoquinas que estimula los componentes del sistema inmune (Rondón 2004). Los valores cuantificados en el presente estudio indican que la suplementación parto con 30 g/ día de pared celular y cultivo de levadura Celmanax<sup>®</sup> no provocó una estimulación del sistema inmune de las yeguas, considerando solamente la densidad y los grados Brix.

Durante la investigación, ningún potro presentó problemas de salud que necesitara algún tipo de atención especial, en general los potros se mantuvieron en



buen estado de salud. Alrededor de cuatro animales presentaron una diarrea que mejoró sin requerir ninguna intervención. En cuanto al estado de las yeguas, la mayoría se encontraban en una condición corporal adecuada de 3, mientras que cuatro yeguas se encontraban en 3,25 y dos yeguas en 3,5 antes de iniciar el estudio. Posterior al parto, seis yeguas bajaron a 2,75, tres yeguas bajaron a 2,5 y una llegó a 2,25 por jerarquía en el potrero ya que no la dejaban alimentarse, las demás se mantuvieron en una condición de 3 posterior al parto. Todas las yeguas lograron recuperar su condición, solamente la yegua que se encontraba en 2,25 de condición corporal tuvo que ser devuelta a la cuadra para alimentarla y ayudarle a recuperar peso, proceso en el que tardó varios meses.

Se aprecia que los días de suplementación preparto y la cantidad de MOS aportados son factores importantes a considerar para promover un estímulo de la inmunidad de las yeguas y la posible transferencia de inmunoglobulinas en el calostro. En la presente investigación, los días de suplementación variaron en gran medida según lo establecido al inicio del proyecto debido al manejo y variación de la fecha probable de parto por parte de la yegua. En este caso se presentaron yeguas que fueron suplementadas durante 8 días solamente ya que se adelantó su fecha de parto hasta yeguas que consumieron el producto durante 35 días debido a que se atrasó su fecha de parto, se considera que esta variación pudo limitar la respuesta esperada.

Se ha evaluado el descenso en temperatura corporal antes del parto de las yeguas como un método de predicción del mismo. En Korosue et al. (2012a) se evaluó la temperatura corporal de yeguas cercanas al parto con un termómetro rectal digital y un aparato inalámbrico para el control de la temperatura. Las medidas se tomaron dos veces al día desde 5 días antes del parto entre 6 y 7 am y entre 4 y 5 pm y se continuaron tomando para tener medidas de 3, 2 y 1 hora antes del parto. Con el termómetro se encontraron diferencias de 0,2°C en las lecturas de la mañana

y tarde del día del parto con los días anteriores y se encontraron diferencias de hasta 0,37°C al comparar las lecturas de las 3, 2 y 1 hora antes del parto con las lecturas obtenidas en la mañana y tarde. Con el aparato inalámbrico se encontraron diferencias de 0,4°C en las lecturas de mañana y tarde de los días previos comparadas con las del día de parto y diferencias de hasta 0,5°C al comparar las lecturas de las 3, 2 y 1 hora antes del parto con los valores de la mañana y tarde. En general, se encontró que la temperatura disminuyó previo al parto y que comparar los valores de la mañana y la tarde se pueden utilizar como una manera de predecir el momento del parto. Se menciona que se pueden presentar falsos positivos por lo que se recomienda evaluarlo con otros signos como el crecimiento de la glándula mamaria.

### **Transferencia de inmunidad pasiva**

Los promedios de la concentración de IgG en el suero sanguíneo de los potros a las 24 h de nacidos, determinada por medio de inmunodifusión radial se presentan en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Promedios de la concentración de IgG (mg/dl) en el suero sanguíneo de los potros a las 24 h de edad.

Grupo	N	Concentración IgG (mg/dl)
Control	10	2548, 95± 234,39 <sup>a</sup>
Tratamiento	10	1403,43± 234,39 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Medias con letras diferentes en una misma columna difieren entre sí (p<0,05).

Se encontraron diferencias significativas (p<0,05) entre los grupos, sin embargo, el resultado fue contrario al esperado ya que el grupo que obtuvo mayores valores de IgGs fue el control.

Para explicar la concentración de IgG obtenida en el suero sanguíneo se necesita conocer el consumo de calostro de las crías, en el presente estudio, el promedio de consumo de calostro estimado por diferencia de peso para los potros

del grupo control fue de 1 kg y para los potros de madres suplementadas fue de 0,75 kg. Como recomendación general, se debe ofrecer un litro de calostro con una densidad relativa de por lo menos 1,06 a un potro de 50 kg al nacimiento para asegurar una adecuada transferencia de inmunidad pasiva (Videla 2006). Fisiológicamente, la mejor absorción de calostro se obtiene al ser ingerido directamente de la glándula mamaria al compararse con la alimentación en chupón, dejando a la alimentación por sonda gástrica como la forma menos eficiente. Sin embargo, se recomienda alimentar con chupón o por sonda si el potro no es capaz de amamantarse en las primeras 3 o 4 horas de vida (Acworth 2010).

Cuando la transferencia es inadecuada, se utiliza el término falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), que puede ser categorizada en tres niveles; falla total cuando los potros tienen menos de 400 mg IgG/dl en suero sanguíneo, falla parcial cuando los potros tienen entre 400 y 800 mg IgG/dl y absorción total cuando presentan más de 800 mg IgG/dl (Galindo 2009, Franco y Oliver 2014).

Existen varios factores de la madre y la cría que pueden favorecer la presencia de FTIP en los potros, entre ellos se encuentran la prelactación, falla de la yegua en transferir suficientes IgGs al calostro, ingestión tardía por parte del potro, ingestión de poco calostro o falla del potro por absorber la IgG del calostro. También se incluyen en estos factores los partos prematuros ya que los potros pueden nacer débiles y las madres pueden no haber concentrado suficientes IgGs en el calostro, neonatos enfermos o débiles, ausencia del reflejo de succión en los mismos, síndromes de mala absorción, factores ambientales como exceso de calor o frío y el estrés del parto. Esta falla puede contribuir a la presencia de serias enfermedades, particularmente septicemia en potros (Pusterla et al. 2002, Pastrana 2013). La debilidad de los potros después del nacimiento es importante puesto que puede

provocar que sean incapaces de amamantarse y por ello ingerir baja o nula cantidad de inmunoglobulinas, provocando FTIP (Davis et al. 2005, Auad et al. 2010).

La absorción de inmunoglobulinas por parte del potro se ve afectada por la calidad del calostro ingerido, la cantidad de calostro producido por la yegua, la cantidad de calostro ingerido por el potro, el momento de ingestión del calostro y el estado de salud del potro a la hora de la ingestión. El volumen que el potro ingiera depende de su habilidad para amamantarse y está relacionado con la cantidad de calostro disponible. La mayor absorción de inmunoglobulinas se da entre las primeras 4 a 6 horas de vida del potro, por lo que un retraso en la ingesta de calostro es problemático puesto que potros con 12 o 24 horas sin ingerir calostro verán comprometida su absorción o permanecerán agamaglobulinémicos. Finalmente, un potro estresado, enfermo o lastimado va a tener menos apetito por lo que tarda más en mamar, además de que ve afectada su habilidad para absorber inmunoglobulinas (Knottenbelt et al. 2004, Pastrana 2013). Por esto se recomienda evaluar el calostro de las yeguas y asegurarse que el potro ingiera calostro durante las primeras horas de vida, de esta manera se reduce el riesgo de FTIP y enfermedades.

Se observa que según la clasificación de FTIP la mayoría de los potros en ambos tratamientos tuvieron una adecuada transferencia de inmunidad pasiva porque presentaron una concentración mayor a 800 mg IgG/dl. Dos animales en el grupo control presentaron valores cercanos al límite inferior con 800, 34 mg/dl y uno en el grupo de tratamiento que presentó falla total con un valor de 297,30 mg/dl.

Ya que la mayoría de potros presentó cantidades adecuadas de IgG en el suero, se considera que los valores de consumo estimados no son representativos de la cantidad real de calostro ingerido, debido a que algunos potros presentaron poca diferencia de peso a las 6 horas y por tanto poco consumo de calostro. En este caso se esperarían problemas en la transferencia de inmunoglobulinas, sin

embargo, esto no se vio reflejado en el presente estudio, lo cual quiere decir que la metodología para estimar el consumo de calostro no fue adecuada. Se considera que el error en la estimación del consumo se dio porque la balanza utilizada fue diseñada para animales adultos y no es sensible a cambios de peso pequeños.

Sin embargo, se realizaron cálculos con este consumo estimado por diferencia de pesos para conocer la absorción de IgG por parte de los potros mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Absorción: } \frac{\text{IgGs absorbidas} * 100}{L \text{ calostro consumido} * \text{IgGs en calostro}}$$

Por ejemplo: un potro cuya concentración de IgG en suero sanguíneo sea de 25,30 g/L, que haya consumido 1,5 kg de un calostro con 70 g de IgG/L tiene una absorción de 24% al utilizar esta fórmula. En este caso no se obtuvieron valores reales de absorción ya que en algunos casos el consumo estimado fue cero o muy bajo para alcanzar la concentración presente en el potro. Esto produjo valores de absorción de más de 100%, los cuales son erróneos ya que no es posible absorber más del 100%. Los potros que presentaron un valor de consumo más real, tuvieron gran variación ya que se obtuvieron resultados desde 10 hasta 85% de absorción.

Debido a esto, se realizó un cálculo para estimar la cantidad de calostro que debieron consumir los potros para alcanzar la concentración de IgG en suero sanguíneo. Para ello se utilizaron valores obtenidos de la literatura, un volumen sanguíneo para los potros de 121,5 ml/kg, el cual fue obtenido como un promedio del rango de 93-150 ml/kg (Buechner-Maxwell 2005) y un valor de absorción de IgG de 57% (Raidal et al. 2005). Para realizar este cálculo primero se obtuvo la cantidad de IgG absorbida al multiplicar la concentración de IgG en suero sanguíneo obtenida con el kit de RID por el volumen sanguíneo de cada potro. Posteriormente se obtuvieron las IgGs consumidas mediante la siguiente fórmula:

$$IgGs \text{ consumidas: } \frac{IgGs \text{ absorbidas} * 100}{\% \text{ de absorción}}$$

Finalmente se calculó la cantidad de calostro consumido al dividir las IgGs consumidas entre la cantidad de IgGs en el calostro. Por ejemplo, si se tiene un potro con 21 g de IgG/L y 4 L de volumen sanguíneo obtenemos 84 IgGs absorbidas en total. Al utilizar la fórmula para obtener las IgGs consumidas asumiendo un 57% de absorción obtenemos 147,37 g de IgGs. Al dividir estas IgGs consumidas entre 70 g de IgG/L del calostro se obtiene que el potro debió haber consumido 2,10 L de calostro para alcanzar esa concentración de IgG en suero sanguíneo. De esta manera, se obtuvieron los promedios de los consumos de calostro para los potros del grupo control y tratamiento que se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Consumo de calostro calculado para los potros.

Grupo	Consumo de calostro/ L
Control	3,68
Tratamiento	3,34

Según estos valores de consumo, los potros ingirieron más calostro del que se estimó mediante diferencia de pesos, lo cual corrobora que este método no es el más adecuado para conocer el consumo de calostro de potros recién nacidos. Se recomienda para estudios similares buscar un método alternativo para conocer el consumo de calostro o calcularlo con la concentración de IgG en el suero sanguíneo. Los valores de consumo de calostro de los potros se mantienen dentro de los datos de producción del mismo en la literatura, según Bielman et al. (2017) se reporta un promedio de 5,1 L de calostro producido en yeguas, con un rango entre 3,2 a 7 L.

Los valores de IgG en suero sanguíneo varían, en un estudio realizado por Earhard et al. (2001) se midió la concentración de IgG en el suero sanguíneo de potros recién nacidos y sus madres mediante inmunodifusión radial. Al nacimiento los potros presentaron valores de 30 mg/dl, el valor más alto fue de 1580 mg/dl a las 13-16 h de edad y a las 24 h de vida el promedio obtenido fue de 1360 mg/dl.

Por otro lado, Laus et al. (2012) evaluaron la concentración de IgG en el suero sanguíneo de potros recién nacidos y sus madres mediante inmunturbidimetría. Los animales se dividieron en dos grupos, el primero en el cual las yeguas fueron vacunadas contra los virus del herpes equino 1 y 4 y el segundo que consistía en un grupo control. El promedio para los potros del grupo 1 fue de 930 mg/dl mientras que para los potros del grupo 2 fue de 1040 mg/dl.

En otro estudio, Barton et al. (2006) evaluaron la concentración de IgG en suero sanguíneo de potros recién nacidos para compararlo con potros sanos y enfermos de 1-3 días de vida. La cantidad de inmunoglobulinas G fue determinada mediante inmunodifusión radial. Los potros recién nacidos saludables presentaron un promedio de  $18 \pm 9$  mg de IgG/dl, para los potros saludables de 1-3 días se obtuvo un valor de  $2.921 \pm 982$  mg/dl, mientras que los potros enfermos de 1-3 días presentaron un valor de  $959 \pm 873$  mg/dl.

En otro estudio, Raidal et al. (2005) evaluaron la absorción de IgG calostrales de potros a los que se les alimentó con un suplemento electrolítico o un reemplazador lácteo después del nacimiento, todos los potros fueron alimentados con 3 L del calostro almacenado de sus madres a las 18 h post nacimiento. No se encontraron diferencias significativas para la eficiencia de absorción de IgG entre los dos grupos, se obtuvo un promedio de absorción de 57% para ambos grupos. Se sugiere en este estudio que la ingestión de macromoléculas (presentes en el reemplazador) no tuvo un efecto en la absorción de las IgGs por lo que parece que el cierre intestinal en potros no se relaciona con una capacidad finita de absorción

de moléculas. Se considera en el estudio que el cierre intestinal fue retrasado en los potros que no habían consumido calostro y que este comportamiento apoya la teoría de que existen componentes en el calostro que median en este cierre intestinal.

Debido a que en este estudio la diferencia en consumo estimado de calostro fue muy baja entre los dos grupos (3,68 L para el grupo control y 3,34 L para el tratamiento) no se esperaba encontrar diferencias significativas en la concentración de IgG en el suero sanguíneo de los potros. En un estudio de Korosue et al. (2012b), se considera que el refractómetro tiene una alta correlación ( $r=0,85$ ) con la concentración de IgG en el suero sanguíneo de los potros medido con un kit de RID, sin embargo, se ha reportado que potros que no logran consumir calostro por debilidad en el nacimiento o porque el reflejo de succión se retrasa tienen baja concentración de IgG a pesar de las lecturas adecuadas de la calidad del calostro con el refractómetro.

Por otro lado, se conoce que los mamíferos son divididos en tres grupos dependiendo de cómo obtengan la inmunidad pasiva, los que pertenecen al grupo I son aquellos que adquieren la inmunidad post parto como los caballos, rumiantes y cerdos. El grupo II está compuesto por mamíferos que adquieren inmunidad pasiva pre y post parto y en el grupo III la adquieren solo pre parto. Los del grupo I son capaces de absorber macromoléculas sin digestión o alteración previa de la molécula por un periodo corto de tiempo luego del nacimiento (Morrill 2011). Se da el transporte no selectivo de las macromoléculas gracias a enterocitos especializados por medio de pinocitosis desde el intestino delgado hasta la sangre (Korosue et al. 2012b).

A pesar de las diferencias anatómicas y fisiológicas entre bovinos y equinos, los dos se encuentran dentro del grupo I, por lo que es de esperar que el comportamiento en relación al calostro sea similar entre ambas especies. Los resultados de la transferencia de inmunidad pasiva del presente proyecto difieren de



los resultados de estudios en donde la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras no tuvo efecto en la concentración de IgG en el suero sanguíneo de terneras (Campos-Granados y Rojas-Bourillon 2015).

Los resultados obtenidos en el presente estudio también difieren de otros hechos con bovinos como Kinal et al. (2007) en donde se obtuvieron diferencias significativas en la concentración de inmunoglobulinas totales en el suero sanguíneo de terneras entre los grupos de tratamiento (1110 mg/dl) y control (1050 mg/dl) en su segundo día de vida. En este caso, las vacas fueron suplementadas con 60 g/d de metabolitos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) obtenidos mediante fermentación. A pesar de que tanto en Kinal et al. (2007) como en la presente investigación se obtuvieron diferencias significativas en la concentración de IgG en el suero sanguíneo de las crías, los resultados fueron contrarios, ya que en el presente proyecto se encontraron mayores valores para el grupo control y no para el grupo de tratamiento.

Según Earhard et al. (2001) existen diversos factores que afectan la presencia de FTIP en potros, como raza, edad de la yegua, número de partos, días de gestación, mes del parto, sexo del potro o manejo en finca. En un estudio realizado por Raidal (1996) en un criadero de caballos ingleses, donde se tomaron los datos de 323 potros nacidos durante 3 años se evaluaron varios de los factores mencionados anteriormente. En este caso, el sexo del potro fue un factor relevante para la presencia de FTIP calculada por la concentración de IgG en el suero sanguíneo. Se observó que los machos presentaron una tendencia a menores concentraciones de IgG sanguíneas al compararlos con las hembras y se encontraron diferencias significativas para las concentraciones menores a 8 g/L. Lo que quiere decir que los machos fueron significativamente menos capaces de alcanzar esta cantidad de IgG circulante. No se observaron tales diferencias para los factores de número de parto y días de gestación en el estado inmune del potro,

en este caso, las crías de yeguas primerizas lograron niveles circulantes adecuados de IgG con la misma frecuencia que potros de yeguas múltiparas.

En el presente estudio se encontraron resultados similares a los de Raidal (1996), ya que de las 10 crías del grupo control, 7 fueron hembras, contrario a lo que sucedió en el grupo de tratamiento en el cual apenas nacieron 3 potras (Cuadro 10). Este podría ser uno de los factores que explique el comportamiento de los resultados obtenidos para la transferencia de inmunidad pasiva de los potros. Aunque el sexo del potro se comparó con la presencia de FTIP y no con la concentración de IgG, estas dos variables se relacionan entre sí, ya que para categorizar a los potros con falla de la transferencia pasiva se necesita conocer de la cantidad de IgG que absorbieron al consumir el calostro de su madre.

Cuadro 10. Promedios de la concentración de IgG (mg/dl) en el suero sanguíneo de los potros y potras nacidos en el grupo control y tratamiento.

Grupo	Hembras	Machos
Control	2.560,98	1.694,63
Tratamiento	2.053,28	1.479,04

Ayad et al. (2017) utilizaron la misma especie de levadura suplementada en el presente estudio en yeguas preñadas, encontraron mayores valores de IgG en el suero sanguíneo de los potros a las 24-48 h de vida ( $p < 0,05$ ) para el grupo suplementado, contrario a lo reportado en el presente proyecto. Pero no encontraron diferencias significativas entre los grupos al analizar el suero sanguíneo de los potros en el nacimiento. Existen ciertas diferencias entre los estudios, por ejemplo se utilizaron razas distintas (yeguas árabes y barbe) y estas fueron suplementadas con 10 g/d a partir del día 300 de gestación hasta el día 180 post parto, la gestación de las yeguas dura alrededor de 330 días, por lo que suplementación se dio durante

aproximadamente 30 días preparto. Se considera que los resultados no concuerdan con los obtenidos en la presente investigación por estas variaciones encontradas.

Hansen et al. (2017) no encontraron diferencias significativas en los valores de IgG en el suero de los potros de madres suplementadas con respecto a los potros del grupo control. Sin embargo, sí reportó un aumento en la IgA en los potros con madres suplementadas a partir de un día postparto ( $p=0,04$ ). En este estudio se utilizó otra especie de levadura (*Pichia guilliermondii*), con una dosis promedio de 31,25 g por yegua durante 28 días antes de la fecha esperada de parto y 14 días de lactancia y en lugar de utilizar un kit de RID, se utilizó un kit de ELISA para conocer la concentración en el suero sanguíneo de los potros. Estas variaciones en la especie de levadura, dosis y tipo de técnica utilizada pueden inferir en la diferencia observada en los resultados de este estudio con el presente proyecto.

Según Earhard et al. (2001) la técnica de inmunodifusión radial (RID) es precisa, sin embargo se considera que toma mucho tiempo (48 h), razón por la cual en este estudio utilizaron un ensayo de ELISA que obtuvo los mejores resultados con una variabilidad aceptable. Por otro lado, Bielman et al. (2010) afirman que los ensayos de inmunodifusión radial son los estándar para la determinación de la concentración inmunoglobulinas G séricas. Korosue et al. (2012b) consideran que la técnica de RID es la más precisa para cuantificar la concentración de IgG en potros. Sin embargo, la espera de al menos 24 h para obtener los resultados disminuye su utilidad para usarla como rutina en un criadero, en una situación en campo o en una clínica veterinaria porque se requiere rapidez en los resultados para realizar una intervención terapéutica a un potro con FTIP.

Koke (2014) suplementó yeguas preñadas y abiertas con una dosis de 1g por cada 45,4 kg de peso vivo de levaduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*), cercano a la recomendación del fabricante de utilizar 10 g/d. A los 60 d de iniciada la suplementación las yeguas fueron vacunadas contra el tétano y se tomaron

muestras sanguíneas antes de la vacunación y a los días 7, 14, 21 y 28 después de la misma. No se obtuvieron diferencias significativas por la suplementación al medir la IgGa, IgGb, IgA e IgM en el suero de las yeguas, pero sí influyó en la IgG(T) en respuesta a la vacunación en las yeguas en tratamiento. En el presente estudio no se cuantificó la concentración de IgG sérica de las yeguas, sin embargo, se espera una asociación entre la concentración de IgGs de las yeguas con la concentración en el calostro por lo que se puede esperar que en el estudio mencionado no hubiesen diferencias en la calidad del calostro, similar a lo obtenido en la presente investigación. Un aumento de la dosis usada podría provocar una respuesta inmune suficiente para aumentar la concentración de inmunoglobulinas en suero. En el presente estudio se ofreció 30 g del producto pero con una alta variación en el tiempo (días) de dosificación.

En un estudio de Leimbach (2015) se midió la concentración de inmunoglobulinas en los potros, sus madres fueron suplementadas con levaduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*), utilizando una dosis de 1 g/45,4 kg de peso vivo. No se reportó el peso promedio de las yeguas por lo que no se conoce la cantidad de levaduras suplementadas por día. Se tomaron muestras sanguíneas de las crías al nacimiento, 12 y 24 h y a los días 30, 60, 90 y 120 del parto. Se analizaron las concentraciones en suero sanguíneo de IgG total (mediante la medición de IgGa, IgGb, IgG(T)), IgA, IgM e IgE por medio de kits comerciales de ELISA. En este caso se obtuvieron resultados distintos al presente estudio, ya que no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para la IgG total en el suero de los potros, la única diferencia significativa ( $p=0,0001$ ) encontrada entre el grupo control y el tratamiento fue en la IgG(T) para el día 60 post nacimiento.

### **Crecimiento de los potros**

Los resultados referentes al peso vivo de los potros según el tratamiento se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Peso promedio (kg) de los potros al nacimiento y a los 15, 30 y 45 días de vida para los diferentes tratamientos.

Grupo	N	Nacimiento	15 días	30 días	45 días
Control	10	38,24 ± 2,81	65,44 ± 2,56	75,04 ± 2,59	92,66 ± 2,86
Tratamiento	10	41,39 ± 3,18	69,03 ± 2,97	78,83 ± 2,99	97,12 ± 3,23

No hubo diferencias significativas entre los grupos en las diferentes edades, lo que indica que la suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en las madres durante el parto no tuvo efecto sobre el crecimiento de los potros.

El crecimiento de los potros puede verse afectado por diversos factores, algunos genéticos como la raza de los padres, otros ambientales como la edad de la yegua, año del parto, enfermedades infecciosas e infestaciones parasitarias, entre otros (Çilek 2009). El sistema inmune en desarrollo del potro se ve expuesto repentinamente a una serie de antígenos desconocidos y debe comenzar a reconocer aquellos que no le producen daño. Además debe soportar gran cantidad de crecimiento y proliferación celular en el primer año. Por estas razones, debe mantener buenos mecanismos de regulación del sistema inmune que le permiten controlar tanto la presión antigénica que se da después del parto como la proliferación de células debido al crecimiento (Perkins y Wagner 2015). Debido a esta regulación que debe existir en el potro, se espera que al poseer un buen sistema inmune y adecuada protección con las IgGs del calostro el crecimiento se vea favorecido.

Los hábitos alimenticios de los potros varían según el momento en el que se encuentren. Los neonatos maman unas 5 veces por hora y disminuyen la frecuencia de consumo a 4 veces por hora a las 2 semanas de vida (Buechner-Maxwell 2005). Entre los 4 y 6 meses de vida, la tasa de crecimiento del potro y la cantidad de leche producida por la yegua comienzan a decrecer. Es en este momento en donde se debe prestar atención en introducir alimentos que vayan a estar presentes en la

dieta del potro después del destete ya que el consumo de forraje y alimento balanceado va en aumento en el potro (Geor et al. 2013).

Ayad et al. (2017) observaron el efecto de la suplementación con levaduras vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) en yeguas sobre el crecimiento de sus potros hasta los 6 meses de edad. Se encontraron diferencias significativas de 19 kg a los 5 meses ( $176,11 \pm 25,73$  kg para los potros del grupo control y  $195,75 \pm 14,21$  kg para los del grupo tratamiento) con un  $p=0,003$  y a los 6 meses se mantuvo una diferencia de 22 kg ( $186,93 \pm 28,50$  kg y  $208,59 \pm 14,35$  kg para los potros del grupo control y tratamiento respectivamente) con un  $p=0,04$ . En este caso no discutieron la razón por la que los potros tuvieron pesos mayores, citaron un estudio en el que se suplementaron yeguas preñadas con productos alimenticios fermentados que contenían probióticos (Faubladier et al. 2013). En este estudio citado también hubo mayor crecimiento en los potros de madres suplementadas que fue asociado a un cambio en la composición y cantidad de la leche producida gracias a la suplementación. Se observó que al finalizar el tratamiento con productos alimenticios fermentados en las madres no hubo diferencia en la tasa de crecimiento de los potros de los dos grupos.

En otro estudio, Robertson (2004) evaluó el efecto de la suplementación de yeguas preñadas con MOS en el crecimiento de sus potros, la concentración de Igs en calostro, en el suero sanguíneo de las yeguas y el suero sanguíneo de los potros. Las crías fueron pesadas al nacimiento y a los días 7, 14, 28, 56 y 112 y se estudió como ganancia de peso total. No se encontraron diferencias significativas en la transferencia de inmunidad pasiva. Tampoco se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de los potros de madres suplementadas y control, el promedio para el peso al nacimiento para las crías del control fue de  $50,3 \pm 1,7$  kg con una ganancia total de  $140,0 \pm 4,1$  kg durante los 112 días. Mientras que para los potros del tratamiento el promedio del peso al nacimiento fue de  $48,9 \pm 0,8$  kg, con

una ganancia total de  $142,6 \pm 4,4$  kg. La diferencia entre los pesos de ambos grupos fue de apenas 2,6 kg.

Glade (1991) evaluó el efecto de la suplementación de yeguas preñadas con 20 g diarios de un cultivo de levaduras seco durante cuatro semanas antes de la fecha estimada de parto y 8 semanas de lactancia sobre el crecimiento de sus potros. No encontró diferencias significativas en el crecimiento de los potros con madres suplementadas durante las primeras 4 semanas de vida, sin embargo, sí hubo diferencias significativas en el crecimiento del potro después de las 4 semanas de edad ( $p < 0,01$ ). La eficiencia de las yeguas en convertir su alimento en peso del potro durante 8 semanas de vida fue 24% mayor para el grupo suplementado ( $p < 0,01$ ). En este caso, se asoció la mejora en crecimiento a cambios fisiológicos en la hormona tiroidea y la concentración de sustratos energéticos y aminoácidos circulantes en la yegua lactante y su potro.

Varios factores pueden haber provocado que no se encontraran diferencias en el crecimiento de las crías. Potros con un mejor estado inmune debido a la suplementación podrían tener un mejor desarrollo y por tanto ganar más peso que aquellos del grupo control, sin embargo, esta diferencia no se vio reflejada con la suplementación ofrecida. En futuros estudios se puede evaluar el aumento de la dosis suplementada a las madres y su efecto en el crecimiento de sus crías. En este caso la única diferencia en la alimentación de las yeguas fue la adición de las levaduras, por lo que no se esperaba cambiar la composición de la leche producida. Un cambio en el crecimiento podría observarse con la suplementación de otro tipo de producto que tenga impacto en la nutrición de la yegua.

## CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para la calidad del calostro de las yeguas al ser evaluado mediante un calostrómetro y refractómetro para grados Brix.

Se considera que el refractómetro para medir Grados Brix es un instrumento más sencillo de utilizar que el calostrómetro puesto que la medición es más rápida y fácil de observar y que no se requiere que la cantidad de calostro a utilizar sea una medida exacta, a diferencia del calostrómetro donde se necesitan 15 ml. Debido a esto se pueden generar menos errores humanos con este instrumento al evaluar la calidad del calostro.

Las yeguas son impredecibles a la hora del parto y pueden adelantarse o atrasarse de la fecha establecida fácilmente, lo que puede afectar los resultados del estudio. Este pudo haber sido un factor importante sobre los resultados de la presente investigación, ya que no todas las yeguas pudieron concluir los días de suplementación debido a que el parto se adelantó.

En cuanto a la transferencia de inmunidad pasiva de los potros se encontraron diferencias significativas entre aquellos cuyas madres pertenecían al grupo control y los del tratamiento, siendo los valores mayores para el control.

Se considera que la medición del consumo de calostro por parte de los potros no fue precisa, lo que pudo haber sido producto de errores a la hora del pesaje y que la balanza utilizada no es sensible a cambios de peso pequeños ya que es diseñada para animales adultos. Se estimó un consumo promedio de 0,75 y 1 kg de calostro en las primeras 6 h de vida para los potros de madres suplementadas y los del grupo control respectivamente.

Con respecto al crecimiento de los potros no se encontraron diferencias significativas debido al tratamiento a los 15, 30 y 45 días de vida. Se encontró que



realizar las pesas de animales tan jóvenes es un proceso complejo debido a que no aún no se encuentran acostumbrados al manejo.

## RECOMENDACIONES

Para futuros experimentos se recomienda probar con diferentes dosis del producto y aumentar los días de suplementación preparto y postparto, ya que se conoce que la suplementación con cultivos de levaduras sobre la calidad del calostro y TIP de los potros es afectada por factores como dosis, tiempo de suplementación y manejo.

Debido a la variación de la fecha de parto que se dio en el presente estudio se recomienda utilizar un método para predecir el parto, existen varias formas para hacerlo pero la más precisa es mediante la medición de la temperatura rectal de la yegua. Se debe medir la temperatura rectal de la yegua pronta al menos 20 días antes de la fecha estimada de parto, ya que cuando la madre está cerca de parir su temperatura corporal disminuye y esto es indicador de que puede parir en las próximas horas. Las mediciones deben realizarse todos los días en la mañana y en la tarde a la misma hora, ya que la yegua mantiene medidas similares, lo que facilita el momento de determinar un cambio en su patrón de temperaturas.

Para futuras investigaciones se recomienda administrar una cantidad de calostro igual a todos los potros para conocer con exactitud la cantidad de inmunoglobulinas que consumen y que esto no afecte a la hora de evaluar la absorción por parte de la cría. Para esto se necesita adquirir un equipo para ordeñar todo el calostro y se debe evaluar antes de iniciar el proyecto las yeguas a utilizar, ya que para realizar este proceso deben ser animales muy tranquilos y acostumbrados a la presencia de humanos con sus crías recién nacidas, de lo contrario puede ser un procedimiento peligroso tanto para los animales como para las personas.

Igualmente se recomienda variar el método para obtener el peso de los animales mediante la utilización de una manga que facilite el proceso, de esta

manera se vuelve menos estresante para los potros y menos peligroso para las personas. Es importante empezar con el manejo de las crías desde el nacimiento para lograr que se acostumbren a la presencia de humanos y que se agilicen los procesos de control del crecimiento.

## LITERATURA CITADA

- ACWORTH, N. 2010. The healthy neonatal foal: routine examinations and preventative medicine. *Equine Veterinary Education*. 15 (4): 207-211.
- AUAD, J; MARINI, V; LOZANO, A; COOPER, L; CERUTTI, J; DAVALOS, M; MANGEAUD, A. 2010. Fisiología de la transferencia pasiva de anticuerpos en equinos. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias*. 9(2):69-75.
- AYAD, M; BENALLOU, B; SAIM, M; DERRAR, S; BENZINEB, F; HADDOUCH, Z; ABDELHADI, S. 2017. Effects of supplementing arabian and barbe pregnant mares with *Saccharomyces cerevisiae* on colostrum IgG1 concentration in algerian breed. *J. Appl. Environ. Biol. Sci*. 7(4): 1-6.
- BARTON, M; HURLEY, D; NORTON, N; HEUSNER, G; COSTA, L; JONES, S; WATANABE, K. 2006. Serum lactoferrin and immunoglobulin G concentrations in healthy or ill neonatal foals and healthy adult horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 20(6): 1457-1462.
- BECERRA, C; MONTENEGRO, D; RAMÍREZ, D; PARADA, M; BUSTOS, F; ALMANSA, J. 2008. Inmunidad pasiva en potros de madres inmunoestimuladas con células inactivadas de *propionibacterium granulosum* y lipopolisacáridos (lps). *Revista de Medicina Veterinaria*. 16:43-51.
- BIELMAN, V; GILLAN, J; PERKINS, N; SKIDMORE, A; GODDEN, S; LESLIE, K. 2010. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. of Dairy Sci*. 93: 3713-3721.

- BOYD, N; COHEN, N; LIM, W-S; MARTENS, R; CHAFFIN, M; BALL, J. 2003. Temporal changes in cytokine expression of foals during the first month of life. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 92(1-2): 75-85.
- CAMPOS-GRANADOS, C; ROJAS-BOURILLÓN, A. 2015. Suplementación con pared celular y cultivo de levaduras en vacas prontas y su efecto sobre la calidad del calostro y el estado inmunológico de las terneras. *Agronomía Costarricense*. 39(1):121-129.
- CASTRO, M; RODRIGUEZ, F. 2005. Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Revista Corpoica*. 6(1): 26-38.
- CAUCHARD, J; SEVIN, C; BALLEST, J; TAOUJI, S. 2004. Foal IgG and opsonizing anti-*Rhodococcus equi* antibodies after immunization of pregnant mares with a protective VapA candidate vaccine. *Veterinary Microbiology*. 104(1-2): 73-81.
- ÇILEK, S. 2009. Environmental factors affecting growth characteristics in Purebred Arabian foals reared at Anadolu State Farm in Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8(1): 148-154.
- CZECH, A; GRELA, E; MOKRZYCKA, A; PEJSAK, Z. 2010. Efficacy of mannanoligosaccharides additive to sows diets on colostrum, blood immunoglobulin content and production parameters of piglets. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 13(3): 525-531.
- DAVIS, D; SCHAEFER, D; HINCHCLIFF, K; WELLMAN, M; WILLET, E; FLETCHER, J. 2005. Measurement of serum IgG in foals by radial immunodiffusion and automated turbidimetric immunoassay. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 19:93-96.

- DEVILLERS, N; VAN MILGEN, J; PRUNIER, A; LE DIVIDICH, J. 2004. Estimation of colostrum intake on the neonatal pig. *Animal Science*. 78: 305-313.
- DOREAU, M; BOULOT, S. 1989. Methods of measurement of milk yield and composition in nursing mares: a review. *Lait*. 69(3): 159-171.
- EARHARD, M; LUFT, C; REMLER, H-P; STANGASSINGER, M. 2001. Assessment of colostrum transfer and systemic availability of immunoglobulin G in newborn foals using a newly developed enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 85(5-6): 164–173.
- 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. *ECAG informa*. 39: 53-55.
- ESPINOZA, M. 2015. Determinación de globulinas en neonatos equinos fina sangre de carrera sometidos a tratamiento de plasma hiperinmune. Tesis para Médico Veterinario. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 25 p.
- ESTEPA, J; MENDOZA, F; AGUILERA, E. 2007. Consideraciones clínicas en neonatología equina. *Real academia de ciencias veterinarias de Andalucía Oriental*. 20(1): 159-172.
- FAUBLADIER, C; JULLIAND, V; DANIEL, J; PHILIPPEAU, C. 2013. Bacterial carbohydrate-degrading capacity in foal faeces: changes from birth to pre-weaning and the impact of maternal supplementation with fermented feed products. *British Journal of Nutrition*. 110(6): 1040–1052.

- FRANCO, M; OLIVER, O. 2014. Enfermedades de los potros neonatos y su epidemiología: una revisión. *Revista de Medicina Veterinaria*. 29:91-105.
- FRECCERO, F; MARIELLA, ; LANCI, A; COTIGNOLI, C; CASTAGNETTI, C. 2016. Efficacy and safety of a commercial fresh-frozen hyperimmune plasma in foals with failure of passive transfer of immunity. *Journal of Equine Veterinary Science*. 48: 174-181.
- GALINDO, C. 2009. Inmunodeficiencia pasiva en potranca media sangre y efectos colaterales sistémicos. *Revista de Medicina Veterinaria*. 17:69-75.
- GARCÍA, A; PÉREZ, A; PERRONE, G. 2009. Estimación del peso corporal del caballo criollo mediante medidas morfométricas: Validación de ecuaciones publicadas para otras razas y desarrollo de nueva fórmula. *Revista Electrónica de Veterinaria* 10(9):20-27.
- GEOR, R; HARRIS, P; COENEN, M. 2013. *Equine applied and clinical nutrition: Importance of nutrition for health, welfare and performance*. Estados Unidos. Elsevier Health Sciences. 592 p.
- GIGUÈRE, S; POLKES, A. 2005. Immunologic Disorders in Neonatal Foals. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 21(2), 241–272.
- GLADE, M. J. 1991. Dietary yeast culture supplementation of mares during late gestation and early lactation. *Journal of Equine Veterinary Science*. 11(2), 89–95.
- HAMMER, C; WINSKO, K; LUCIA, J; COVERDALE, J. 2011. Effect of dietary energy manipulation on mares and their foals: Colostrum and IgG2. *Journal of Equine Veterinary Science*. 31(5): 308-309.

- HANSEN, L; BOBEL, J; WARREN, L. 2017. Effect of maternal supplementation with a killed whole-cell yeast on passive transfer and foal mucosal immunity. *Journal of Equine Veterinary Science*. 52:90-91.
- HODGE, L; RUDE, B; DINH, T; LEMLEY, C. 2016. Effect of  $\omega$ -3 fatty acid supplementation to gestating and lactating mares: on milk IgG, mare and foal blood concentrations of IgG, insulin and glucose, placental efficiency, and fatty acid composition of milk and serum from mares and foals. *Journal of Equine Veterinary Science*. 51:70-78.
- HOU, S; SHAW, R; RILEY, C. 2016. Chemometric analysis of attenuated total reflectance infrared spectral data for quantitation of immunoglobulin G in equine plasma and serum. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 156: 108-114.
- INSTITUTO METEOROLÓGICO NACIONAL (IMN). 2018. Promedios mensuales de datos climáticos: La Argentina, Grecia. 27/9/2018. Disponible en: <https://www.imn.ac.cr/>
- KINAL, S; KORNIWICZ, A; RZASA, A; KORNIWICZ, D; BIALON, K; LUBOJEMSKA, B. 2007. Effect of *Saccharomyces Cerevisiae* yeast metabolites on colostrum quality and passive immunity transfer in calves. *Bull Vet Inst Pulawy*. 51: 105-108.
- KNOTTENBELT, D; HOLDSTOCK, N; MADIGAN, J. 2004. *Equine neonatology: Medicine and Surgery*. Saunders, Elsevier Science Limited, United Kingdom. 368 p.
- KOKE, K. 2014. Effects of dietary yeast supplementation on serum immunoglobulin concentrations in quarter horse mares. Tesis de grado. Ohio State University, Estados Unidos. 24 p.



- KOROSUE, K; MURASE, H; SATO, F; ISHIMARU, M; KOTOYORI, Y; NAMBO, Y. 2012a. Assessment for predicting parturition in mares based on prepartum temperature changes using a digital rectal thermometer and microchip transponder thermometry device. *Journal of Veterinary Medical Science*. 74(7): 845-850.
- KOROSUE, K; MURASE, H; SATO, F; ISHIMARU, M; KOTOYORI, Y; NAMBO, Y. 2012b. Correlation of serum IgG concentration in foals and refractometry index of the dam's pre- and post-parturient colostrums: An Assessment for Failure of Passive Transfer in Foals. *J. Vet. Med. Sci.* 74(11): 1387–1395.
- LAUS, S; TRAILOVIC, R; DJOKOVICS; LAZAREVIC, M; TRAILOVIC, D. 2012. Comparative analysis of some serum proteins and immunoglobulin G concentration in the blood of Yugoslav Trotter mares and newborn foals. *Acta Veterinaria (Beograd)*. 62(5-6): 569-578.
- LEIMBACH, R. 2015. Influence of a maternal dietary yeast supplement on immunoglobulin concentrations on quarter horse foals from birth to four months of age. Tesis de grado. Ohio State University, Estados Unidos. 15 p.
- LIZCANO, L; LÓPEZ, D. 2009. Creación de un banco de calostro comercial para potros. Trabajo de investigación como opción de grado. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia. 57 p.
- LENTH, R. 2018. Emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.2.3. URL <https://CRAN.R-project.org/package=emmean2>
- MAURO, E; QUEIROZ, F; ASSIS, A; BATISTA, L; CORASSA, A; MOREIRA, R; PIMENTEL, V; GALZERANO, L. 2005. Lactation in Mangalarga Marchador

mares: yield production and composition of milk and weight gain of suckling foals. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34(2): 627-634.

MCCUE, P. 2014. Equine colostrum: The elixir of life for a newborn foal. 16/5/2016. Disponible en: <http://csu-cvmb.colostate.edu/Documents/erl-colostrum-elixir-life-2014.pdf>

MCCUE, P. 2016. ARS Equine colostrum refractometer. Colorado State University. 16/5/2016. Disponible en: <http://www.arssales.com/refractometer.html>

MCKINNON, A; SQUIRES, E; VALA, W; VARNER, D. 2011. *Equine reproduction*. Wiley Blackwell. 3288 p.

MORRILL, K. 2011. Modifying current laboratory methods for rapid determination of colostral IgG concentration and colostral IgG absorption in the neonate. Tesis de doctorado. Universidad Estatal de Iowa, Estados Unidos. 276 p.

MORIN, D; CONSTABLE, P; MAUNSELL, F; MCCOY, G. 2001. Factors associated with colostral specific gravity in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:937-943.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 2007. *Nutrient requirements of horses*. Sixth revised edition. National Academies Press, Estados Unidos. 341 p.

PASTRANA, D. 2013. Plan de acción para implementación de un banco de calostro en el criadero caballar Mancilla Policía Nacional. Trabajo de grado. Universidad La Salle, Colombia. 40 p.

PERKINS, G; WAGNER, B. 2015. The development of equine immunity: Current knowledge of immunology on the young horse. *Equine Veterinary Journal*. 47(3): 267-274.

- PERRONE, G; PÉREZ, A; CAVIGLIA, J; CHIAPPE, A. 2013. Effects of Live Yeast (*Saccharomyces cerevisiae* Strain 1026) Supplementation on the Closure of Articular Growth Plates in Quarter Horse Foals. *Journal of Equine Veterinary Science*. 33(4): 261-265.
- PINHEIRO, J; BATES, D; DEBROY, S; SARKAR, D; R CORE TEAM. 2018. *nlme*: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-137, URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- PUSTERLA, N; BERGER PUSTERLA, J; SPIER, S; WATSON, J; PUGET, B. 2002. Evaluation of the SNAP Foal IgG test for the semiquantitative measurement of immunoglobulin G in foals. *Veterinary Record*. 151(9): 258-260.
- QUIGLEY, J; LAGO, A; CHAPMAN, C; ERICKSON, P; POLO, J. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J. of Dairy Sci*. 96(2): 1148-1155. 16/8/2018.
- RAIDAL, S. 1996. The incidence and consequences of failure of passive transfer of immunity on a Thoroughbred breeding farm. *Australian Vet. J*. 73(6): 201–206.
- RAIDAL, S; MCTAGGART, C; PENHALE, J. 2005. Effect of withholding macromolecules in the duration of intestinal permeability to colostral IgG in foals. *Australian Veterinary Journal*. 83(1-2): 78-81.
- R CORE TEAM, 2018. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- ROBERTSON, K. 2004. Effect of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on the immune status of mares and their foals. Tesis de maestría. Universidad de Florida, Estados Unidos. 73 p.

- RONDÓN, I. 2004. Inmunoestimulantes en medicina veterinaria. Orinoquia. 8(2): 56-75.
- SPRING, P; WENK, C; CONNOLLY, A; KIERS, A. 2015. A review of 733 published trials on Bio-Mos®, a mannan oligosaccharide, and Actigen®, a second generation mannose rich fraction, on farm and companion animals. Journal of Applied Animal Nutrition. 3(7): 1-11.
- SRIVASTAVA, A; TRIPATHI, R; KUMAR, V; MISRA-BHATTACHARYA, S; DEEPAK, D. 2014. Isolation of mare's milk oligosaccharide fraction of colostrum, transitional and mature phases promotes in vitro oxidative burst in murine macrophages. Journal of Equine Veterinary Science. 34(8): 1009-1015.
- SUÁREZ, M; CUTULI, M; BLANCO, M; DOMÉNECH, A; DOMÍNGUEZ, G; GIBELLO, A; GÓMEZ-LUCIA, E; GOYACHE, J; SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, J. 2011. Compendio de guiones para clases teóricas en la asignatura Inmunología Veterinaria V: Inmunidad protectora. Reduca (Recursos educativos). 3(15): 153-190.
- SURWASE, U. 2016. Quantitative and Qualitative Assessment of Colostral Immunoglobulin G in Mares and its Impact on Newborn Foals. Thesis for the Degree of Master. Maharashtra Animal and Fisheries Sciences University, Nagpur, India. 128 p.
- THORSON, J; KARREN, B; BAUER, M; CAVINDER, C; COVERDALE, J; HAMMER, C. 2010. Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals: Foaling data1. Journal of Animal Science. 88(3): 982-990.
- TIZARD, I. 2018. Inmunología veterinaria. Barcelona, España. Elsevier. 539 p.

- TYLER-MCGOWAN, C; HODGSON, J; HODGSON, D. 1997. Failure of passive transfer in foals: incidence and outcome of four studs in New South Wales. *Australian Veterinary Journal*. 75(1): 56-59.
- VIDELA, L. 2006. Niveles de inmunoglobulinas calostrales totales en yeguas con y sin secreción mamaria pre-parto y su relación con inmunoglobulinas séricas de sus respectivos potrillos. Memoria para optar al Título Profesional de Médico Veterinario. Universidad de Chile, Santiago, Chile. 45 p.
- VOHRA, A; SYAL, P; MADAN, A. 2016. Probiotic yeasts in livestock sector. *Animal Feed Science and Technology*. 219:31-47.
- WALTHER, S; RUSITZKA, T; DIESTERBECK, U; CZERNY, C. 2015. Equine immunoglobulins and organization of immunoglobulin genes. *Developmental and Comparative Immunology*. 53: 303-319.
- ZANELLO, G; MEURENS, F; SERREAU, D; CHEVALEYRE, C; MELO, S; BERRI, M; D'INCA, R; AUCLAIR, E; SALMON, H. 2013. Effects of dietary yeast strains on immunoglobulin in colostrum and milk of sows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 152:20-27.

## ANEXOS

Anexo 1. Resultados de la calidad del calostro en los grupos control y tratamiento con el calostrómetro.

Yegua (Control )	Calostró metro	Concent ración lgs (g/L)	Calidad del calostro	Yegua (Tratami ento)	Calostró metro	Concent ración lgs (g/L)	Calidad del calostro
Soberan a	--	--	--	Talento	1,1	>80	Muy bueno
Verde	1,08	50-80	Bueno	Zeta	1,08	50-80	Bueno
Jícara	1,07	28-50	Modera do	Salama ndra	1,08	50-80	Bueno
Solera	1,07	28-50	Modera do	Tesoro	1,06	28-50	Modera do
Valeros a	1,1	>80	Muy bueno	Lucero	1,1	>80	Muy bueno
Morena	1,09	50-80	Bueno	Zafra	1,07	28-50	Modera do
Sortija	1,06	28-50	Modera do	Virtuosa	1,06	28-50	Modera do
Zarzam ora	1,1	>80	Muy bueno	Sombra	1,04	0-28	Malo
Viajera	1,08	50-80	Bueno	Sevillan a	1,06	28-50	Modera do
Novata	1,07	28-50	Modera do	Simpris a	1,08	50-80	Bueno

Anexo 2. Resultados de la calidad del calostro en los grupos control y tratamiento con el calostrómetro.

Yegua (Control)	Refractómetro	Concentración lgs (g/L)	Calidad del calostro	Yegua (Tratamiento)	Refractómetro	Concentración lgs (g/L)	Calidad del calostro
Soberana	22	50-80	Bueno	Talento	32	>80	Muy bueno
Verde	28	50-80	Bueno	Zeta	24	50-80	Bueno
Jícara	22	50-80	Bueno	Salama ndra	29	50-80	Bueno
Solera	21	50-80	Bueno	Tesoro	30	>80	Muy bueno
Valerosa	32	>80	Muy bueno	Lucero	32	>80	Muy bueno
Morena	27	50-80	Bueno	Zafra	23	50-80	Bueno
Sortija	22	50-80	Bueno	Virtuosa	23	50-80	Bueno
Zarzamora	32	>80	Muy bueno	Sombra	15	28-50	Moderado
Viajera	24	50-80	Bueno	Sevillana	19	28-50	Moderado
Novata	21	50-80	Bueno	Simprisa	26	50-80	Bueno

Anexo 3. Concentración de IgGs en el suero sanguíneo de los potros a las 24 h de nacidos del grupo control y tratamiento.

Yegua (Control)	Concentración IgG (mg/dl) del potro	Yegua (Tratamiento)	Concentración IgG (mg/dl) del potro
Soberana	2547,00	Talento	2547,00
Verde	2141,78	Zeta	1093,78
Jícara	2141,78	Salamandra	1764,50
Solera	2141,78	Tesoro	2141,78
Valerosa	800,34	Lucero	1764,50
Morena	3930,36	Zafra	1415,17
Sortija	2547,00	Virtuosa	1415,17
Zarzamora	2980,17	Sombra	1093,78
Viajera	2980,17	Sevillana	297,30
Novata	800,34	Simprisa	2980,17