

2009

Análisis cuantitativo de IgG en el calostro de cerdas de primer a quinto parto mediante prueba Elisa en una granja porcícola en Cundinamarca

Luis Ariel Blanco Camacho
Universidad de La Salle, Bogotá

Diana Carolina Criollo Ortega
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

Citación recomendada

Blanco Camacho, L. A., & Criollo Ortega, D. C. (2009). Análisis cuantitativo de IgG en el calostro de cerdas de primer a quinto parto mediante prueba Elisa en una granja porcícola en Cundinamarca. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/74

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE IgG EN EL CALOSTRO DE CERDAS DE
PRIMER A QUINTO PARTO MEDIANTE PRUEBA ELISA EN UNA GRANJA
PORCÍCOLA EN CUNDINAMARCA**

LUIS ARIEL BLANCO CAMACHO

DIANA CAROLINA CRIOLLO ORTEGA

UNIVERSIDAD DE LA SALLE

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

BOGOTÁ

2009

**ANÁLISIS CUANTITATIVO DE IgG EN EL CALOSTRO DE CERDAS DE
PRIMER A QUINTO PARTO MEDIANTE PRUEBA ELISA EN UNA GRANJA
PORCÍCOLA EN CUNDINAMARCA**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el
título de Médico Veterinario**

**LUIS ARIEL BLANCO CAMACHO
Código: 14022028**

**DIANA CAROLINA CRIOLLO ORTEGA
Código: 14022115**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

BOGOTÁ

2009

DIRECTIVOS

RECTOR

Hno. Carlos Gabriel Gómez Restrepo

VICERRECTOR ACADÉMICO

Hno. Fabio Humberto Coronado Padilla

VICERRECTOR DE PROMOCIÓN Y
DESARROLLO HUMANO

Hno. Carlos Alberto Pabón Meneses

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Dr. Mauricio Fernández Fernández

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y
TRANSFERENCIA

Dr. Manuel Cancelado Jiménez

DECANO FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

Dr. Luis Carlos Villamil Jiménez

DIRECTOR PROGRAMA ACADÉMICO
MEDICINA VETERINARIA

Dr. Pedro Pablo Martínez Méndez

COMPROMISO

El presente trabajo de investigación no contiene ideas que de una u otra forma son contrarias a la Iglesia Católica en cuanto a su doctrina, dogma y moral.

Las ideas aquí expuestas no son responsabilidad de la directora del proyecto de investigación, de los jurados ni de la Universidad de La Salle, son opiniones de libre expresión de los autores y directos responsables del escrito.

DEDICATORIA

A mis padres: Diógenes y Esperanza.

A la sagrada memoria de la persona que desde el cielo ha guiado todos y cada uno de mis pasos para convertirme en alguien mejor y cumplir ésta meta: mi abuelito Guillermo.

Diana Criollo

A Dios.

A mis padres: María Antonia y Ormidas.

Luis blanco

AGRADECIMIENTOS

A Dios por acompañarme siempre y bendecir cada aspecto de mi vida.

A mis padres por ser día a día un ejemplo de vida y convertirme en una persona de bien... gracias por todo su amor, paciencia, apoyo y esfuerzo incondicionales.

A mis hermanos Luz Dayssy, Leonardo y Sandra por todo su cariño, comprensión y respaldo.

A mi novio Javier por su inmenso amor y paciencia.

A mis amigos(as) de la universidad que me acompañaron durante toda la carrera.

A Luis, amigo y compañero de tesis, gracias por su paciencia y por hacerme reír siempre en cada momento de estrés.

Diana Criollo

A mis padres por el apoyo incondicional y por la paciencia que han tenido durante todo este proyecto.

A mis hermanos Juan y Leidy por su compañía y respaldo.

A mi novia Johana Catalina Suárez por su compañía, amor y colaboración para llevar a cabo este trabajo.

A Diana Criollo, por su paciencia y fortaleza para lograr culminar con éxito este proyecto.

Luis Blanco

A la Dra. Claudia Rojas por su dirección, disposición y asesoría... gracias por su contribución a nuestro crecimiento como profesionales de calidad.

A la Dra. Berta Von Arcken por su asesoría en el análisis estadístico.

A la Universidad Nacional y especialmente a la Dra. Adriana Umaña por su diligencia y profesionalismo en la realización de la prueba Elisa.

A David Acero por toda su ayuda en la búsqueda de bibliografía.

A Alexandra Bustamante por su constante colaboración en La Primavera.

Diana Criollo y Luis Blanco

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	5
1. OBJETIVOS	8
1.1. OBJETIVO GENERAL	8
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
2. MARCO TEÓRICO	9
2.1. EL CALOSTRO	9
2.2. INMUNOGLOBULINAS EN EL CALOSTRO DE LA CERDA	10
2.2.1. Inmunoglobulina G	13
2.2.2. Inmunoglobulina M	14
2.2.3. Inmunoglobulina A	14
2.2.4. Inmunoglobulina E	14
2.3. ACTIVIDAD DEL CALOSTRO EN EL SISTEMA INMUNE DEL LECHÓN	15
2.4. MÉTODOS DE MEDICIÓN DE INMUNOGLOBULINAS EN EL CALOSTRO	18
2.4.1. Inmunodifusión radial simple	19
2.4.2. Inmunolectroforesis en cohete	19
2.4.3. Prueba de ELISA	20
2.5. ALTERACIONES EN EL SISTEMA DIGESTIVO DEL LECHÓN	23
2.5.1. Hipoglicemia	24
2.5.2. Enteritis por <i>Clostridium perfringens</i> tipo C	25
2.5.3. Enteritis por <i>Clostridium perfringens</i> tipo A	28
2.5.4. Diarrea neonatal por <i>Escherichia coli</i>	30
2.5.5. Prevención cuadros de diarrea	33
3. MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1. LOCALIZACIÓN	37

	Pág.
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	37
3.3. VARIABLES	37
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
3.5. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS	38
3.5.1. Ensayo ELISA	39
3.5.1.1. Aplicación de la muestra	40
3.5.1.2. Bloqueo de sitios inespecíficos	40
3.5.1.3. Incubación con el anticuerpo de reconocimiento	40
3.5.1.4. Incubación con el anticuerpo de detección	40
3.5.1.5. Activación enzimática	40
3.5.1.6. Inactivación de la reacción	42
3.5.2. Optimización ensayo ELISA	41
3.5.2.1. Estándares	41
3.5.2.2. Dilución de la muestra	41
3.5.2.3. Título de anticuerpo de reconocimiento	41
3.5.2.4. Título de anticuerpo de detección	41
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
6. BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS	62

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema de una molécula de IgG	12
Figura 2. Inmunodifusión radial simple.	19
Figura 3. Inmunoelectroforesis en cohete.	20
Figura 4. Fase sólida.	21

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Concentración de inmunoglobulinas	15
Tabla 2. Resultados de la prueba ELISA para medir la IgG en el calostro de cerdas.	43
Tabla 3. Peso inicial por camada	44
Tabla 4. Peso final por camada	46
Tabla 5. Peso final por camada vs. Días en lactancia	47
Tabla 6. Rendimiento lechero en relación con el número de lechones que maman	49
Tabla 7. Aumento previsto del rendimiento lechero según el número de parto	49
Tabla 8. Causas de mortalidad en lactancia en el 2009	51
Tabla 9. Porcentaje de Mortalidad en la Lactancia en los años 2005 - 2009 Granja La Primavera.	52

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Correlación número de parto vs. Concentración de IgG (mg/ml)	44
Gráfica 2. Relación promedio peso inicial vs. Ganancia de peso por grupo	48
Gráfica 3. Relación promedio peso final vs. Ganancia de peso por grupo	48
Gráfica 4. Ganancia de peso vs. Concentración promedio de IgG	50
Gráfica 5. Peso inicial vs. Concentración IgG vs. Ganancia de peso	50
Gráfica 6. Causas y porcentaje de mortalidad en el primer semestre del año 2009 granja La Primavera	51
Gráfica 7. Porcentaje mortalidad granja La Primavera 2005 – 2009	52

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Coeficiente de correlación para peso inicial y peso final vs. número de parto	62
Anexo B. Coeficiente de correlación para Elisa vs. Número de parto	63
Anexo C. Resultados prueba ELISA entregados por el Laboratorio de Hormonas del Departamento de Química de la Universidad Nacional	64
Anexo D. Curva de calibración para la estandarización de la IgG	65
Anexo E. Análisis de varianza para peso inicial y peso final	66

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE IgG EN EL CALOSTRO DE CERDAS DE PRIMER A QUINTO PARTO MEDIANTE PRUEBA ELISA EN UNA GRANJA PORCÍCOLA EN CUNDINAMARCA

RESUMEN

El calostro es el primer alimento que recibe el lechón siendo el más importante para su vida aportándole una serie de defensas y anticuerpos; la vía por la cual los anticuerpos llegan al feto es determinada por la estructura placentaria. La especie porcina pertenece al grupo III de mamíferos, caracterizados por la estructura de la placenta que es epiteliocoriónica, ya que el epitelio coriónico fetal establece contacto con el epitelio uterino intacto; en estos animales no se permite el paso transplacentario de moléculas de inmunoglobulina, y los neonatos de estas especies dependen por completo de los anticuerpos que reciben por medio del calostro. El hecho de la mayor o menor penetración de las vellosidades del corion en el endometrio condiciona el paso de las inmunoglobulinas maternas. En función de la distribución del corion sobre la mucosa uterina en la cerda, la placenta es difusa debido a que todo el corion está en contacto con la mucosa del útero (Tizard, 2002).

La transmisión de inmunidad de la cerda a los recién nacidos por medio del calostro es un fenómeno único en la prevención de enfermedades infecciosas el cual se denomina inmunidad pasiva (Redondo, 2001). La presente investigación evaluó la calidad del calostro dependiendo de la cantidad de IgG presente en el mismo, teniendo en cuenta principalmente el número de partos de las cerdas a muestrear y su comparación teniendo como variables el peso al destete de las diferentes camadas y la mortalidad de las mismas.

La cuantificación de IgG se realizó mediante prueba Elisa. Los resultados fueron sometidos a un análisis de bloques completamente al azar; se realizó un ANAVA para las variables de peso inicial y peso final utilizando los promedios y comparándolos con el número de parto, lo cual arrojó resultados no significativos ya que el valor para P fue > 0.0001 . Posteriormente se obtuvo el

coeficiente de correlación para los pesos y la concentración de IgG comparados con el número de parto el cual resultó ser inverso indicando que a mayor número de parto la cantidad de IgG presente en el calostro disminuye.

Palabras clave: calostro, inmunidad pasiva, IgG, Elisa.

QUANTITATIVE ANALYSIS of IgG IN THE COLOSTRUM OF SOWS FROM THE FIRST TO THE FIFTH LACTATION USING THE ELISA TEST IN A PORCINE FARM IN CUNDINAMARCA

ABSTRACT

The colostrum is the first food that receives the pig being the most important for his life contributing a series of defenses and antibodies; the route for which the antibodies come to the fetus is determined by the placental structure. The porcine species belongs to the group III of mammals characterized by the structure of the placenta that is epithelium chorionic, since the epithelium chorionic foetal establishes contact with the uterine intact epithelium; in these animals the step is not allowed transplacental of molecules of immunoglobulin, and the neonates of these species depend completely on the antibodies that receive by means of the colostrum. The fact of the major or minor penetration of the villi of the chorion in the endometrium determines the step of the mother immunoglobulin. Depending on the distribution of the chorion on the mucous uterine in the sow, the placenta is diffuse due to the fact that the whole chorion is in touch with the mucous of the uterus (Tizard, 2002).

The transmission of immunity of the sow to the newborn pigs by means of the colostrum is the only phenomenon in the prevention of infectious diseases which is named a passive immunity (Redondo, 2001). Therefore, this one investigation tries to evaluate the quality of the colostrum depending on the quantity of present IgG in the same one, having in it counts principally the number of lactation of the sows to sampling and their comparison taking the weight as variables to the weaning of the different litters and the mortality of the same ones.

IgG's quantification was realized using the Elisa test. The results were submitted to an analysis of blocks completely at random; an ANOVA was realized for the variables of initial weight and final weight using the averages and comparing them with the number of lactation, which threw not significant

results since the value for P was > 0.0001 . Later the coefficient of correlation was obtained for the weight and IgG's concentration compared by the number of lactation which turned out to be inverse indicating that to major number of lactation the quantity of present IgG in the colostrum diminishes.

Key words: colostrum, passive immunity, IgG, Elisa.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad en las explotaciones porcícolas de nuestro país, la implementación de nuevas técnicas para lograr mejorar o aumentar de algún modo el porcentaje de lechones cerda al año, los ha llevado a capacitarse cada vez más en lo que se refiere a calidad y mejoramiento animal. Con ayuda del gobierno, pequeños productores han logrado reformar sus explotaciones y hacerlas competitivas en un mercado que día a día ha venido en constante aumento. Por lo tanto, el afán del productor es mantener una producción con unos parámetros óptimos o que de alguna forma no se alteren de manera significativa causándole pérdidas considerables.

La problemática principalmente se extiende hacia quizás una de las poblaciones que en mas riesgo se encuentran en una producción porcina, como lo es la de los lechones. Como es ampliamente conocido, el consumo adecuado del calostro por parte de los lechones es el punto vital en la protección de los mismos ya que les aporta la inmunidad pasiva.

Hasta la fecha se han publicado varios estudios e investigaciones acerca del calostro y de la influencia del mismo en evitar enfermedades causantes de diarrea en los cerdos recién nacidos, principalmente por agentes como *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens A* y *C*. La aparición de dichos agentes en una granja porcícola es un suceso funesto que puede provocar grandes daños a la producción.

El personal de toda granja porcícola debe estar capacitado para atender un parto de forma correcta responsabilizándose de la importancia de asegurarse que los lechones tengan acceso lo más rápido posible a las mamas para que consuman la cantidad de calostro necesaria que les brinde la inmunidad pasiva. Es muy importante tener en cuenta que aunque el consumo insuficiente de calostro en los

lechones los hace más susceptibles a los antígenos ya mencionados, también se deben manejar esquemas de bioseguridad estrictos y adecuados para disminuir la carga bacteriana y así colaborar en la prevención del contagio y posterior presentación de enfermedades diarreicas.

En teoría, el calostro y principalmente las inmunoglobulinas presentes en él, influyen directamente en el porcentaje de mortalidad que se da en la camada por la presencia de los agentes infecciosos ya mencionados; también hay referencias en las que se menciona que el calostro influye en el peso de los lechones, por ejemplo, en un estudio publicado por Concellon (1978) se concluye que los lechones que alcanzan mayor peso proceden de cerdas de cuarto a quinto parto, y que los lechones de primíparas al nacer dan un peso promedio inferior a los alumbrados por cerdas de mayor edad, pero en la práctica de la ganadería porcina aún no existen estudios suficientes que confirmen o no dicha información; es por ello que se considera de gran relevancia desarrollar esta investigación, la cual permitirá determinar la influencia de la cantidad de IgG en el calostro de las cerdas de distinto número de parto, en el peso de la camada al destete además de la mortalidad que se presente en la misma pero que concuerde con la signología clínica propia de enfermedades por *Escherichia coli* y *Cl. Perfringens A y C*.

Se debe tener en cuenta la buena acogida que ha tenido la carne de cerdo a través del tiempo en el país, lo cual ha llevado a ampliar el mercado nacional a través de la capacitación e implementación de nuevas técnicas de producción que no sólo suplen la demanda del producto sino que también han venido cambiando la imagen negativa que venía teniendo la carne de cerdo años atrás. Debido a esto y según indicadores expuestos en el XIV Congreso de la Asociación Colombiana de Porcicultores del 2007, el consumo per cápita anual de carne de cerdo en el país es de 4.5kg y se estima que aumente a razón de medio kilo por año.

Este tipo de investigación permite en un futuro implementar nuevas técnicas y procedimientos que mejoren la producción de la misma y así se pueda suplir la demanda.

1. OBJETIVOS

1.1.OBJETIVO GENERAL

Evaluar la cantidad de IgG presente en el calostro de cerdas de primer a quinto parto y su influencia en el peso de la camada al destete y la mortalidad de la misma.

1.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la cantidad de IgG en el calostro de las cerdas, dependiendo del número de parto.

Evaluar la importancia de la cantidad de IgG del calostro de las cerdas en la mortalidad predestete de las diferentes camadas.

Establecer una relación directa entre peso al destete de la camada y el número de parto de las cerdas.

Informar acerca de la utilidad de la Elisa como método cuantitativo apropiado para la medición de IgG en calostro de cerdas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. EL CALOSTRO

En todos los mamíferos, hay una transición fundamental en las condiciones alimenticias en el momento del nacimiento. El feto recibe un suministro continuo de sustancias nutritivas parenteral por medio de la placenta, mientras que el recién nacido debe adaptarse a una respuesta independiente de calostro y sustancias nutritivas de la leche vía oral (Jensen, 2001).

La leche segregada por la cerda en las horas que siguen al parto es diferente de su leche normal y se denomina calostro (Machin, 1998). Como se ha mencionado anteriormente es indispensable para un buen desarrollo de las camadas; cabe recordar que en la especie porcina la placenta es epiteliocorial difusa, conservando seis estructuras, por lo que la integridad de las mismas impide la transferencia de las inmunoglobulinas maternas, necesarias para la protección y la supervivencia del lechón recién nacido (Bérèterbide et al, 2006).

El tipo de protección que brindan las hembras de la especie porcina a su descendencia por medio del calostro se denomina inmunidad pasiva. La inmunidad del lechón neonato está en principio limitada por la cantidad y calidad de anticuerpos en el calostro y por la cantidad del mismo que el neonato es capaz de consumir y absorber (Varley, 1995). Por lo tanto, el consumo insuficiente de calostro es en muchos casos la principal causa de mortalidad después del nacimiento (Casanovas, 1999)

Se debe tener en cuenta que el calostro no sólo es importante como transmisor de anticuerpos de la madre al lechón, sino que también tiene mayor cantidad de vitaminas, minerales (2 a 3 veces más hierro), proteínas y grasa de la leche; por lo que su valor como alimento es fundamental para establecer las reservas

necesarias en el lechón para su desarrollo acelerado en las primeras semanas de vida. El calostro tiene además un efecto laxante que acelera la eliminación del meconio; además presenta un factor que bloquea la tripsina digestiva del lechón, impidiendo que esta enzima degrade a las inmunoglobulinas y éstas puedan ser absorbidas intactas y ejerzan su efecto de bloqueo de la colonización o neutralizante de toxinas en la luz intestinal (Tortora, 2000). También tiene un efecto de estimulación marcado sobre el crecimiento y la maduración del tracto gastrointestinal. (Jensen, 2001)

Existen tres razones principales para la falta de transferencia adecuada de calostro; en primer lugar, se puede dar una falla en la producción en razón a que la madre lo produzca en cantidades insuficientes o de mala calidad.

En segundo lugar, se puede dar una falla en la ingesta por parte del neonato por una posible mala conformación de la ubre y obstrucción física de los pezones debido a componentes estructurales de la jaula. También a un número excesivo de lechones en relación con el número de pezones funcionales y a lechones rechazados por la cerda (Varley, 1995).

En tercer lugar, es posible un defecto en la absorción intestinal, a pesar de una ingesta adecuada de calostro (Tizard, 2002)

2.2. INMUNOGLOBULINAS EN EL CALOSTRO DE LA CERDA

La inmunoglobulina predominante en el calostro de la mayor parte de los mamíferos domésticos es la IgG, la cual representa el 65 a 90% del contenido total de anticuerpos; la IgA y las otras inmunoglobulinas casi siempre son componentes menores, aunque importantes (Tizard, 2002). Es de destacar el hecho de que las inmunoglobulinas ingeridas por el lechón a través del calostro es el reflejo de la historia inmunológica de la madre a nivel individual (Machin, 1998).

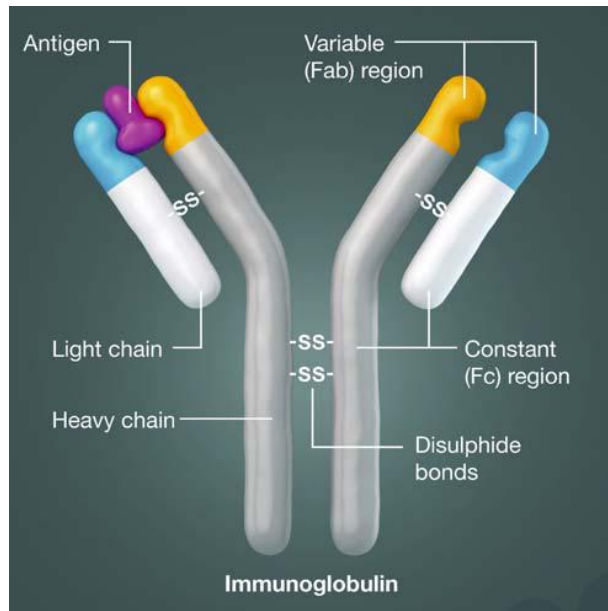
Las inmunoglobulinas son sinónimo de anticuerpos y se definen como moléculas proteicas producidas por los linfocitos B a partir de las células plasmáticas; su síntesis es inducida por la interacción de un antígeno en particular. Tienen la capacidad de unirse específicamente con el antígeno que les dio el origen y contribuir para su eliminación. (Valbuena, 2004). El acople de un anticuerpo a un determinante antigénico para el cual es específico implica varias interacciones no covalentes; tales fuerzas como interacciones hidrófobas y fuerzas Van der Waal estabilizan la vinculación. (Greshwin, 1995)

El evento de reconocimiento es esencial para la activación del linfocito, el cual inicia un programa de proliferación (expansión clonal) y diferenciación que da origen a células productoras de moléculas de anticuerpos solubles que tienen la misma especificidad que el receptor del linfocito B que las originó. Por su parte, los anticuerpos solubles participan de distintas maneras en la eliminación de microorganismos o partículas extrañas (Ortega, 2007).

El hecho más curioso relacionado con las inmunoglobulinas es la gran diversidad que se puede generar. Durante muchos años se ha reconocido que en cada individuo existía la capacidad de producir una molécula de inmunoglobulina para cada antígeno virtualmente existente (Halliwell, 1992).

Están constituidas por dos cadenas pesadas (H), dos livianas (L), dos sitios de unión para el antígeno (porción FAB) y un sitio para unión del complemento o fracción cristalizante (porción FC) una región variable y una constante. En la expresión de las cadenas pesadas participan los genes V para la porción variable, D para la porción de diversidad, J para la región de unión y C para la región constante. En la expresión de las cadenas livianas están involucrados los genes V, J y C para las respectivas porciones. (Valbuena, 2004)

Figura 1. Esquema de una molécula de IgG



Fuente: LEYTON, W et al. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. 2007. p. 95.

Se han descrito receptores para Fc específicos para cada una de las distintas clases de inmunoglobulinas (Fc α R, Fc Ω R, Fc γ R y Fc μ R). Los receptores FcR son glicoproteínas que se expresan en la membrana de una amplia variedad de células hematopoyéticas, como monocitos, macrófagos, linfocitos, células asesinas naturales (NK), mastocitos, eosinófilos, basófilos y plaquetas, así como en ciertas células epiteliales (placenta, hígado e intestino neonatal). La agregación de FcRs promovida por complejos antígeno-anticuerpo puede desencadenar, dependiendo del tipo celular, una gran variedad de respuestas entre las que se incluyen: secreción de citocinas, fagocitosis, pinocitosis, liberación de compuestos citotóxicos y de mediadores de la inflamación, estallido respiratorio, etc (Ortega, 2007).

Los anticuerpos monoclonales son anticuerpos dirigidos contra un epítipo o determinante antigénico; para su producción requiere de la fusión de una célula

productora de anticuerpo con una célula de mieloma la cual tiene la capacidad de reproducirse ilimitadamente; de esta fusión se obtiene un hibridoma, producto con la capacidad de producir anticuerpos y simultáneamente de reproducirse ilimitadamente. Los anticuerpos pueden ser del tipo Ig G, M, A, D y E. En las aves la IgN cumple las funciones de la IgG de los mamíferos. (Valbuena, 2004)

2.2.1. Inmunoglobulina G

La IgG es secretada por las células plasmáticas del bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea; es la inmunoglobulina de mayor concentración en suero, pesa 160 kDa, por su tamaño relativamente pequeño puede encontrarse en espacios tisulares y superficies corporales y es la responsable de la respuesta secundaria. (Valbuena, 2004). El cerdo presenta por lo menos cinco subclases de IgG, a saber IgG1, IgG2_a, IgG2_b, IgG3 e IgG4, aunque aún no se sabe si todas merecen llamarse subclases. Por ejemplo, IgG2_a e IgG2_b difieren únicamente por tres aminoácidos (Tizard, 2002).

Los receptores para el Fc de la inmunoglobulina G (FcγR) son una familia de receptores de membrana expresados por la mayoría de las células hematopoyéticas. Estos receptores participan de manera importante tanto en la fase aferente como en la fase efectora de la respuesta inmune adaptativa. En la fase aferente, regulan la activación de clonas de linfocitos B a través de su receptor para antígeno (BCR) y pueden regular la maduración de células dendríticas. Sus funciones en la fase efectora son más conocidas, sirviendo de puente entre la gran especificidad del reconocimiento del antígeno por los anticuerpos y la activación de leucocitos para realizar distintas funciones efectoras como fagocitosis, liberación de moléculas con actividad pro-inflamatoria, producción de citoquinas y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (Ortega, 2007).

La principal función biológica de la IgG in vivo es el fomento de la eliminación de los microorganismos y la neutralización de las toxinas. De todas las clases de inmunoglobulinas la IgG es la que más fácilmente se distribuye por todos los espacios extravasculares y se halla, por tanto, disponible para llevar a cabo estas funciones. En la neutralización de las toxinas, la IgG se une a la toxina y bien evita ligarse a su receptor, como es el caso de la toxina tetánica, o bien el complejo toxina-IgG es eliminado de la circulación mediante las células fagocíticas que portan receptores Fc, tales como los macrófagos y los neutrófilos (Halliwell, 1992). También los anticuerpos IgG expresan actividades multifuncionales, incluyendo la activación de complemento, opsonización bacterial y aglutinación, además de unirse a sitios específicos sobre las superficies de la mayoría de los agentes infecciosos inactivándolos o reduciendo la infección. (Leyton, 2007).

2.2.2. Inmunoglobulina M

La IgM también es secretada por las células plasmáticas del bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea; su forma de presentación es pentamérica, tiene un peso de 900 kDa, razón por la cual se encuentra confinada al torrente sanguíneo siendo la inmunoglobulina en segundo lugar en concentración en suero y es la responsable de la respuesta primaria. (Valbuena, 2004)

2.2.3. Inmunoglobulina A

La IgA es secretada por las células plasmáticas de las superficies corporales, generalmente se encuentra en forma dimérica, tiene un peso de 300 kDa, y es importante en brindar inmunidad a nivel de mucosas. (Valbuena, 2004)

2.2.4. Inmunoglobulina E

La IgE es producida al igual que la IgA por células plasmáticas de las superficies corporales, tiene un peso de 190 kDa, su concentración es muy baja en el plasma y es la inmunoglobulina involucrada en las reacciones de hipersensibilidad e inmunidad contra endoparásitos. (Valbuena, 2004)

2.3. ACTIVIDAD DEL CALOSTRO EN EL SISTEMA INMUNE DEL LECHÓN

Como el estado funcional del sistema inmune del lechón neonato está infradesarrollado, los anticuerpos calostrales proporcionan la primera fuente de protección inmune. En consecuencia, la inmunidad del lechón neonato está en principio limitada por la cantidad y calidad de anticuerpos en el calostro y por la cantidad del mismo que el neonato es capaz de consumir y absorber.

Además, el repertorio inicial de anticuerpos del neonato se limita a aquellos antígenos frente a los cuales las cerdas han desarrollado células B de memoria. Ya que la IgG constituye el isotipo de inmunoglobulinas más importante del suero, también supone el principal isotipo del calostro. Aunque la protección frente a muchos agentes patógenos sistémicos será suministrada por este mecanismo, la inmunidad estará aún más limitada por el hecho de que muchos de los agentes patógenos a los que se enfrenta el lechón neonato se encuentran en las superficies de las mucosas donde raramente se encuentran los anticuerpos IgG y donde son ampliamente ineficaces (Varley, 1995)

Quizás en respuesta a esta limitación, a medida que termina la formación de calostro y continúa la lactación, las concentraciones de IgG descienden rápidamente y la IgA se convierte en el isotipo de inmunoglobulinas más importante en la leche de cerda.

Tabla 1. Concentración de inmunoglobulinas

	IgG	IgA	IgM
CALOSTRO	54%	8,30%	2,70%
LECHE 24 hrs	46,40%	75%	7,10%
LECHE 7 días	22,20%	47,60%	14,30%

Fuente: MACHIN, Pascual. Efecto de la administración vía oral de inmunoglobulinas porcinas en lechones al nacimiento. 1998. p. 10.

El cambio a un predominio de IgA es el reflejo de que la glándula mamaria pasa a ser el lugar más importante de síntesis y secreción de anticuerpos de la leche. Como la IgA es en su mayoría resistente a la degradación intestinal, la alta concentración de IgA proporciona una protección entérica a corto plazo neutralizando virus, inhibiendo la adherencia de las bacterias y opsonizando o lisando bacterias. Incluso con un cambio a IgA en la leche, hasta que no se establezcan los mecanismos de la inmunidad activa, el neonato estará protegido sólo contra aquellos antígenos frente a los cuales la cerda haya desarrollado inmunidad previamente. Sin embargo, un mejor conocimiento de los mecanismos que regulan la síntesis de IgA y su secreción por la glándula mamaria puede proporcionar un método práctico de asegurar que haya en la leche suficientes cantidades de anticuerpos IgA específicos durante el periodo crítico previo al establecimiento de la inmunidad activa (Varley, 1995).

La adquisición de anticuerpos maternos y, por consiguiente, el estado inmune de algunos individuos se puede ver afectado por alteraciones anatómicas que tienen lugar en el intestino del lechón recién nacido. Por ejemplo, la absorción máxima de inmunoglobulinas en los lechones neonatos tiene lugar entre 4 y 12 horas tras el primer amamantamiento, descendiendo después rápidamente debido a un proceso gradual y progresivo conocido habitualmente por cierre del intestino. Durante este periodo, las inmunoglobulinas calostrales se absorben a través del epitelio del yeyuno y se dirigen a los vasos linfáticos. Posteriormente las inmunoglobulinas absorbidas penetran en la circulación con la linfa intestinal a través del conducto torácico. Los anticuerpos séricos se han detectado a partir de las 3 horas después del nacimiento y si se realizan con éxito el amamantamiento y absorción de inmunoglobulinas calostrales, los títulos de anticuerpos séricos del neonato serán similares a los de la cerda dentro de las 24 horas postparto. A las 48 horas del nacimiento el cierre intestinal es completo. Aunque el cierre intestinal impide la absorción de anticuerpos, el proceso es crítico para prevenir una

absorción sistémica de otras macromoléculas que podrían ser de carácter patógeno.

El lechón recién nacido tiene niveles bajos de actividad hemolítica del complemento al nacer. La actividad hemolítica del complemento está relacionada con el peso al nacer: los cerdos más pesados tienen concentraciones significativamente más altas de complemento en suero. En cerdos privados de calostro, la actividad hemolítica del complemento aumenta de manera gradual durante los primeros 36 días de vida. Los lechones a los que se les permite mamar calostro tienen títulos más altos de complemento hemolítico que aquellos privados de calostro durante las primeras 3 semanas de vida. Esto sugiere que algunos de los componentes del complemento que están presentes en cantidades límite se transfieren a través del calostro al lechón. Las células fagocíticas están presentes en animales recién nacidos, pero por lo general tienen actividad fagocítica reducida comparada con los animales adultos. También se comprobó que los neutrófilos de los cerdos recién nacidos migran con rapidez hacia la luz intestinal en respuesta a la presencia de *E. coli* y anticuerpos del calostro (Varley, 1995)

Con el cierre intestinal, las concentraciones de inmunoglobulinas y proteínas en el calostro descienden al 50% de los valores previos al amamantamiento a las 6 horas del inicio del mismo. Debido a que la duración media del parto en ganado porcino es de 4 a 6 horas, los lechones que nacen primero tienen acceso a un calostro que está un 50% más concentrado en proteínas totales y en inmunoglobulinas.

En este sentido, se cree que factores no caracterizados del calostro estimulan el cierre intestinal. La falta de un amamantamiento adecuado en las primeras 24 horas tras el nacimiento podría retrasar el cierre intestinal y, por consiguiente, aumentaría la posibilidad de que agentes patógenos alcanzasen el torrente

circulatorio. Por lo tanto, hay un periodo corto pero crítico tras el nacimiento en el que la toma de calostro es crucial para la futura supervivencia del lechón (Varley, 1995)

Las hembras de primer parto tienen menor capacidad de proteger a sus lechones, que las de más partos. Esto se manifiesta en una mayor frecuencia de infecciones en sus lechones, los cuales aumentan el microbismo ambiental y de esta manera, los lechones de otras camadas reciben dosis mayores de gérmenes además sufren más morbilidad y mortalidad (Morilla, 2005)

2.4.MÉTODOS DE MEDICIÓN DE INMUNOGLOBULINAS EN EL CALOSTRO

En estudios previos se ha realizado la medición de inmunoglobulinas principalmente en suero y en menor proporción calostro; en su mayoría ha sido en las especies bovina y equina. Dichos estudios analizan calostro en base a pruebas cualitativas.

En el estudio de Bérèterbide *et al*, (2006) se demostró que si bien con los avances tecnológicos con que se cuentan actualmente la tendencia es cuantificar cada una de las inmunoglobulinas séricas (IgM, IgA e IgG), e incluso para diferentes microorganismos, la determinación de Igs séricas totales es útil para evaluar el estado inmunitario de una población y el traspaso de inmunidad pasiva de la madre a los lechones. En consecuencia, los valores hallados pueden resultar útiles como orientación de promedios normales en una explotación de cerdos bajo condiciones de manejo intensivas en nuestro medio de producción.

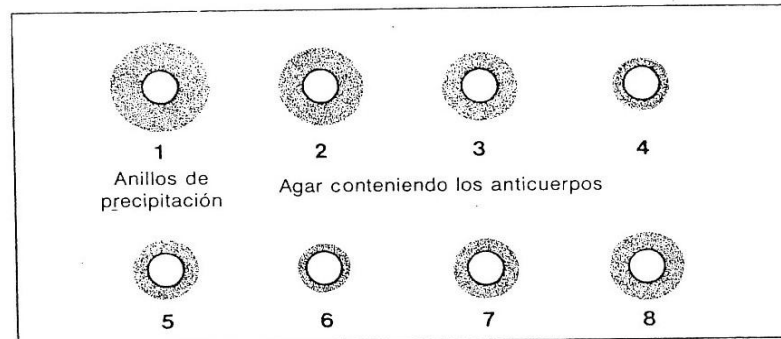
El desarrollo de ensayos significativos y reproducibles para cuantificar la concentración de inmunoglobulinas en las especies domésticas fue inicialmente lento. Las valoraciones brutas de los niveles de inmunoglobulinas estaban

basadas en la turbidez de una muestra tras la adición de ciertas sales, particularmente sulfato de cinc. El aislamiento de antisueros específicos de especie y clase posibilitó el desarrollo de las siguientes pruebas:

2.4.1. Inmunodifusión radial simple

Hasta hace poco el método usado más comúnmente para la cuantificación de las inmunoglobulinas de clase G, M y A basado en el método puesto a punto por Mancini. En esta prueba el suero problema se deja difundir en una placa de agar que contiene anticuerpos específicos y se forma un anillo de precipitación bien definido alrededor del pocillo. El diámetro de este anillo es proporcional a la concentración de anticuerpo en el suero problema y puede cuantificarse por comparación de éste con una serie de concentraciones de anticuerpo conocidas.

Figura 2. Inmunodifusión radial simple

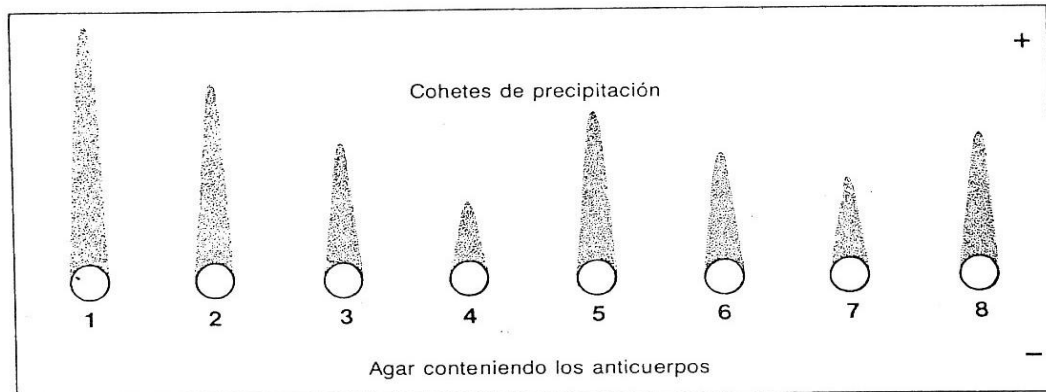


Fuente: HALLIWELL, R. Inmunología clínica veterinaria. 1992. p 68.

2.4.2. Inmunolectroforesis en cohete

En esta técnica se realiza una electroforesis del suero problema en agar conteniendo antisuero específico de clase.

Figura 3. Inmunoelectroforesis en cohete



Fuente: HALLIWELL, R. Inmunología clínica veterinaria. 1992. p 68.

En ambos métodos se crea una curva estándar, ya que concentraciones conocidas de anticuerpo precipitan del mismo modo, por lo que las muestras analizadas se pueden comparar con ella. Los límites inferiores para la detección por estos métodos están alrededor de 10 – 20mg/L, los cuales resultan adecuados para las clases principales (Halliwell, 1992)

2.4.3. Prueba de ELISA

En base a lo anterior y a la poca utilización de técnicas netamente cuantitativas para el análisis de la calidad de calostro se ha decidido realizar el Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas más comúnmente denominado Elisa, la cual se designa a una serie de pruebas de altísima sensibilidad (detectan cantidades iguales a ng) y aceptable especificidad caracterizadas por la acción de un anticuerpo conjugado con una enzima como peroxidasa o fosfatasa alcalina (Stanchi, 2007)

La prueba Elisa permite determinar en forma cuantitativa la concentración de anticuerpos o antígenos, mediante el uso de uno de ellos en fase sólida y el otro en solución. Por lo general, el material fijado a la fase sólida es aquel cuya presencia o concentración se quiere determinar. En el método directo, a éste se le

fija un Ac específico marcado con una enzima, el cual puede ser puesto en evidencia por la adición del sustrato (Stanchi, 2007).

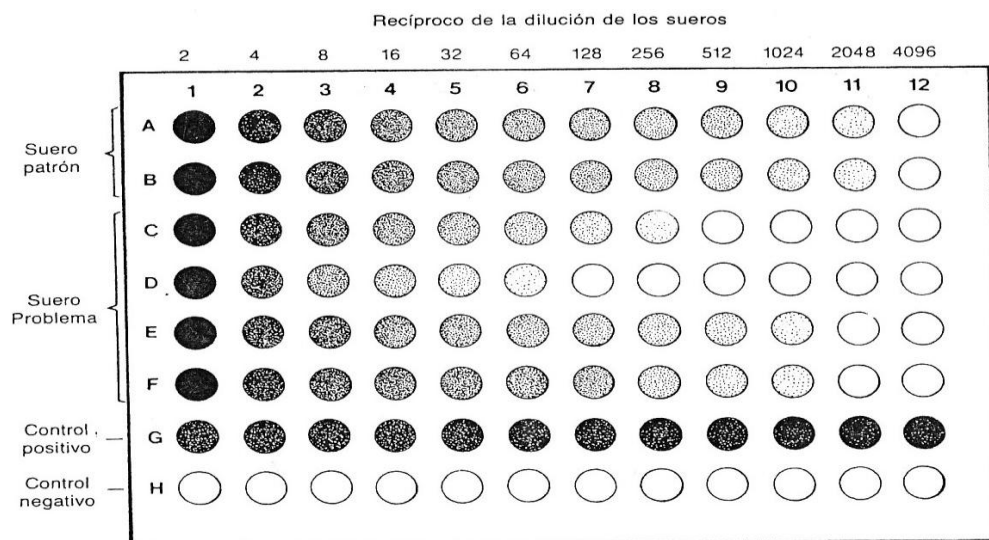
Todos los sistemas de ELISA tienen tres parámetros básicos a seguir:

- Un reactivo es conectado a una fase sólida, por lo general una placa de microtítulo plástico con 8 filas y 12 columnas de pozos respectivamente.
- La separación de reactivos atados y libres que son añadidos posteriormente a la sustancia sólida por un paso de lavado simple.
- Los resultados son obtenidos por el desarrollo de color.

Se deben tener en cuenta una serie de términos que son de suma importancia para el entendimiento de la técnica de ELISA y del por qué de su utilización:

Fase sólida: placa con 8 filas y 12 columnas de pozos. Puede ser utilizada con una amplia variedad de equipos especializados diseñados para la manipulación rápida de muestras incluyendo pipetas de varios canales. (Crowther, 2002)

Figura 4. Fase sólida



Fuente: HALLIWELL, R. Inmunología clínica veterinaria. 1992. p 74.

Adsorción: proceso de añadir el anticuerpo, diluido en una sustancia buffer, de modo que esto se adjunta pasivamente a la fase sólida durante la incubación. Es un proceso simple para la inmovilización de uno de los reactivos en el ELISA y uno de los motivos principales para su éxito. (Crowther, 2002)

Lavado: inundaciones simples y vaciamiento de los pozos con una solución buffer para la separación de los reactivos sobrantes que no fueron fijados en el ELISA (Crowther, 2002)

Antígenos: Una proteína o el hidrato de carbono que inyectado en animales obtiene la producción de anticuerpos. Tales anticuerpos pueden reaccionar específicamente con los antígenos utilizados y por lo tanto pueden ser usados para detectar ese antígeno (Crowther, 2002)

Anticuerpos: producidos en respuesta a estímulos antigénicos. Estos son principalmente la proteína en la naturaleza. (Crowther, 2002)

Anticuerpos antiespecíficos: Producido cuando las proteínas (incluyendo anticuerpos) de una especie son inyectadas en otra especie. Así, el suero de conejillo de indias inyectado en un conejo obtiene la producción de antianticuerpos (Crowther, 2002)

Enzima: una sustancia que puede reaccionar en una concentración baja como un catalizador para promover una reacción específica. Varias enzimas específicas comúnmente son usadas en ELISA con sus sustratos específicos. (Crowther, 2002)

Enzima conjugada: Una enzima que es conectada irreversiblemente a una proteína, por lo general un anticuerpo. Así, un ejemplo de enzima de antiespecie

conjugado es el conejo antiGuinea vinculada al rábano picante peroxidase. (Crowther, 2002)

Substrato: compuesto químico con el cual una enzima reacciona específicamente. Esta reacción es usada, de algún modo, para producir una señal que es leída como una reacción en color (directamente como un cambio en color del sustrato o indirectamente por su efecto sobre otra sustancia química). (Crowther, 2002)

Cromóforo: Una sustancia química que cambia el color como consecuencia de una interacción de enzima con el sustrato. (Crowther, 2002)

Parada: proceso de detener la acción de una enzima sobre un sustrato. (Crowther, 2002)

Lectura: Medida de color producido en el ELISA. Esto es cuantificado usando una lectura especial de espectrofotómetros en longitudes de onda específicas para los colores específicos obtenidos con sistemas de enzima/cromóforo particulares. Las pruebas pueden ser evaluadas a ojo. (Crowther, 2002)

Como se ha dicho, la prueba de ELISA es utilizada habitualmente para medir la cantidad de proteínas u otras sustancias principalmente en suero. Por lo tanto se considera de suma importancia la utilización de ésta técnica como método evaluativo basándose en la cantidad de IgG presente en las muestras de calostro.

2.5. ALTERACIONES EN EL SISTEMA DIGESTIVO DEL LECHÓN

El síndrome diarreico de los lechones, constituye uno de los problemas más comunes en las explotaciones porcinas, que se presenta en la primera semana y posteriormente entre la segunda y tercera semana de edad. Dependiendo del manejo de la granja, será el número de lechones que presenten diarrea. Tiene un

gran número de causas entre las que se encuentran las instalaciones, el manejo deficiente de los animales, la mala alimentación, las enfermedades al exceso de leche de la cerda, y diversos factores del medioambiente que provocan en el lechón alteraciones de la flora normal, menor absorción de calostro e infecciones por gérmenes patógenos al existir mayor contaminación en la granja porcícola. (Morilla, 1991)

Los cuadros de diarrea están fuertemente condicionados por la protección que las cerdas confieren a los lechones a través del calostro y la leche. Por lo breve de este periodo, la falta de desarrollo en el sistema inmune del lechón, que le impide montar una eficiente respuesta inmune de protección a la mayoría de los antígenos, hasta las 3 semanas de edad, y el hecho de que las pérdidas más significativas por diarreas se ubican en este mismo periodo, la profilaxis vacunal e inmune se dirige a mejorar la protección calostrual (Tortora, 2000)

2.5.1. Hipoglicemia

La hipoglicemia es un problema frecuente en cerdos recién nacidos débiles que no se alimentan regularmente. Los signos clínicos iniciales incluyen taquicardia, temblor, nerviosismo, vocalización e irritabilidad. A medida que la hipoglicemia progresa, aparece hipotermia, perturbaciones visuales, estupor, confusión, depresión y convulsiones.

El cerdo recién nacido es muy susceptible al estrés por frío y a la hipoglicemia. El frío impide el desarrollo de la termoestabilidad e induce hipotermia. Las reservas de glucógeno y de grasa se usan como los principales sustratos de energía para la producción de calor dentro de las primeras 24 horas de vida. Los lechones no tienen grasa parda para la termogénesis. Ellos dependen en primer lugar de un aumento de la tasa metabólica y luego del temblor, los músculos usan al comienzo las reservas de glucógeno. Una vez que éstas se agotan, usan la glucosa sanguínea, que a su vez es respuesta a partir del glucógeno hepático. Sin

embargo, el hígado contiene una cantidad limitada de glucógeno. Además, la glucogenólisis y la glucólisis están mal desarrolladas y no pueden responder a la demanda. Para evitar la hipoglicemia y la hipotermia, el lechón necesita una fuente exógena de energía. Ellos obtienen esto a partir del calostro, que proporciona lactosa y grasa. Ambas tienen un papel muy importante en el suministro de energía y en la homeostasia de la glucosa en el cerdo recién nacido. El calostro proporciona el 60% de la energía necesaria para la producción de calor. Los esfuerzos para mejorar las reservas corporales de los lechones han sido infructuosos, pero la calidad y composición del calostro, sobre todo su contenido graso, pueden ser manipuladas por la alimentación de la madre. (Straw y co, 2000)

Los lechones se alimentan alrededor de 15 veces en las primeras 12 horas de vida. Toman 15ml por mamada y consumen cerca de 7g de lactosa, 16g de grasa y 19g de inmunoglobulina. El calostro no sólo proporciona lactosa, sino que también tiene un efecto estimulador de los mecanismos hormonales y metabólicos que controlan los niveles de glucosa en sangre. Un lechón recién nacido en ayunas puede resistir la hipoglicemia durante 18 horas en condiciones favorables (28 – 32°C). Sin embargo, esto se reduce a 12 horas si la temperatura es baja (18– 26°C). El estrés por frío del recién nacido reduce su adquisición de inmunoglobulinas del calostro y trae como consecuencia un aumento de la mortalidad. Además, un retraso de la ingesta de calostro después del nacimiento afectará la absorción de inmunoglobulinas: un retraso de 4 horas en el acceso al calostro produce un 15% de lechones con niveles muy bajos de inmunoglobulina en suero lo que se asocia con una mortalidad más alta. (Straw y co, 2000)

2.5.2. Enteritis por *Clostridium perfringens* tipo C

Cl. perfringens es un bacilo encapsulado, grampositivo. Los microorganismos tipo C producen toxinas alfa y beta en forma más uniforme, al igual que una pequeña cantidad de otras toxinas. (Straw, 2000)

La compra de cerdas portadoras es la fuente de infección más probable (Varley, 1995). Es posible que los lechones no hayan recibido los niveles adecuados de anticuerpos específicos en el calostro. La edad de incidencia de la enfermedad es marcada y es normal que se produzca en cerdos desde las 12h de edad hasta los 7días, por lo general alrededor de los 3 días (Straw, 2000). Los lechones se pueden infectar por la ingestión tanto de formas vegetativas como esporuladas. En ausencia de adecuada inmunidad calostrual, las bacterias se multiplican activamente en el yeyuno e íleon liberando grandes cantidades de toxina beta que daña los enterocitos (Varley, 1995).

La infección es oral y los lechones recién nacidos se infectan en pocos minutos u horas luego del nacimiento. El microorganismo se multiplica en el intestino y se fija a las células epiteliales del yeyuno en la punta de las vellosidades. La descamación de las células epiteliales es acompañada por proliferación de los microorganismos a lo largo de la membrana basal y una necrosis completa de la lámina propia de las vellosidades. La zona necrótica luego avanza para involucrar a las criptas, la muscular de la mucosa y la submucosa y en ocasiones las capas musculares. Algunos microorganismos penetran en la pared intestinal para producir enfisema en las capas de músculo y en ocasiones debanan la zona. La mayoría de las bacterias permanecen adheridas a las vellosidades necróticas o se esparcen en la luz intestinal junto con detritos de células y sangre y pueden esporular allí.

La toxina beta necrotizante letal es el factor más importante en la patogenia de la enfermedad. Las cepas aisladas de los lechones tienen una importante producción de toxina alfa (lecitinasa), beta y una variedad de toxinas menores, incluyendo la delta. (Straw, 2000)

Los signos clínicos varían de acuerdo con el estado inmunitario y la edad de los lechones afectados dentro de una piara y de uno a otro establecimiento.

- Forma peraguda: los lechones pueden encontrarse muertos. Desarrollan diarrea hemorrágica en la mayoría de los casos y esto puede manchar el periné pero puede pasar inadvertido. Los lechones se debilitan, se mueven con desgano, rápidamente se vuelven moribundos y pueden ser aplastados por la cerda. La temperatura rectal cae a 35°C y la piel abdominal puede ennegrecerse antes de morir.
- Forma aguda: los casos agudos sobreviven 2 días luego del comienzo de los signos clínicos y es común que mueran a los 3 días de edad. Durante el curso de la enfermedad tienen heces líquidas rojo-amarronado que contienen fragmentos grises de restos necróticos. Pierden condición y se vuelven débiles.
- Forma subaguda: diarrea no hemorrágica persistente y por lo general mueren a los 5-7 días de edad. Permanecen activos y alertas y tienen buen apetito, pero se tornan emaciados en forma progresiva y pueden llegar a estar extremadamente flacos y deshidratados al momento de la muerte. Las heces tienden a ser amarillas al comienzo y luego cambian a un líquido claro que contiene manchas de detritos necróticos.
- Forma crónica: los casos crónicos pueden tener una diarrea persistente o intermitente durante una o más semanas. Las heces son amarillo-grisáceas y mucoides y la cola puede estar cubierta con heces secas. Los cerdos afectados pueden permanecer alertas y vigorosos por 10 días o más, pero su tasa de crecimiento está deprimida.

En lechones afectados de forma aguda, el intestino delgado, especialmente el yeyuno, está inflamado y presenta un color rojo púrpura. El contenido intestinal es pastoso, teñido de sangre y contiene materiales necróticos. En casos más crónicos, la mucosa intestinal se recubre de capas difteroides y su contenido es más acuoso. En cortes histológicos se puede ver descamación de las vellosidades

del yeyuno y presencia de numerosos bastones Gram-positivos en la base de las criptas. La descamación de las células epiteliales necróticas va seguida de proliferación de los *Clostridium* a lo largo de la membrana basal de las vellosidades dando lugar a necrosis completa de la lámina propia (Varley, 1995)

Los signos clínicos y los hallazgos macroscópicos postmortem son suficientes para realizar un diagnóstico presuntivo de enteritis por *Cl. perfringens* tipo C. La coccidiosis y otras causas de atrofia de las vellosidades tales como rotavirus, Gastroenteritis transmisible y diarrea epidémica porcina, pueden causar atrofia de vellosidades y por lo tanto se toman como referencia para diagnósticos diferenciales. El diagnóstico puede ser confirmado sin lugar a dudas por la demostración de la toxina beta de *Cl. perfringens* tipo C en el sobrenadante del contenido hemorrágico intestinal y algunas veces en el líquido peritoneal (Straw y co, 2000)

2.5.3. Enteritis por *Clostridium perfringens* tipo A

El *Cl. perfringens* tipo A se parece al de tipo C, pero las colonias a menudo están rodeadas por una zona doble de hemólisis, la externa es causada por la toxina alfa y la interna por la toxina theta (Straw y co, 2000)

El microorganismo se ubica en el contenido intestinal y en la tierra. Se debe suponer que la fuente principal del microorganismo para los cerdos alojados en forma intensiva son las heces porcinas, pero también se lo puede demostrar en algunas dietas y en el ambiente (Straw y co, 2000)

La infección con el microorganismo se produce en la mayoría de los lechones a las pocas horas de nacidos y el microorganismo puede demostrarse en las primeras heces posteriores a la depuración de meconio. Las formas vegetativas producen toxina alfa y quizás otras toxinas que causan necrosis del epitelio intestinal en infecciones experimentales in vivo. Las formas esporuladas producen

enterotoxina que causa una gran necrosis de las vellosidades y pasaje de líquido hacia la luz intestinal. La toxina se fija a las células del epitelio colónico y puede ser responsable de la falla para reabsorber agua. Los anticuerpos para ambas toxinas están presentes en el calostro, y la enfermedad asociada con la enterotoxina suele observarse en cerdos destetados de 5-7 semanas después que desaparecieron los anticuerpos maternos. (Straw y co, 2000)

En lechones recién nacidos, puede aparecer diarrea acuosa aguda con bajas (Varley, 1995). Los lechones afectados tienen aspecto hirsuto y el periné manchado con heces. No hay fiebre y los animales rara vez mueren. Si lo hacen, por lo general hay decoloración de la piel abdominal semejante a la observada en las infecciones por *C. perfringens* tipo C, la diarrea dura más de 5 días y las heces en el suelo del corral parecen mucoides y pueden ser de color rosado. Los lechones recuperados permanecen en malas condiciones cierto tiempo. Los cerdos destetados de 5-7 semanas de vida desarrollan diarrea o heces blandas durante 4-7 días. Esta diarrea no provoca la muerte, pero los animales afectados pierden condición y están cubiertos de heces. La tasa de ganancia diaria de peso de disminuye (Straw y co, 2000)

El intestino delgado está flácido y hay engrosamiento de la pared, con contenido pastoso y sin sangre. La mucosa tiene una inflamación leve y el material necrótico puede estar adherido a ella. El intestino grueso está distendido con contenido pastoso y blanquecino. En el íleon de cerdos destetados como en el ciego puede haber contenido espumoso y mucoide. Las lesiones macroscópicas en los lechones incluyen atrofia de las vellosidades con necrosis superficial y acumulación de fibrina. En el cerdo destetado puede haber cierta atrofia de las vellosidades en el íleon y la colitis superficial, pero en algunos casos la mucosa parece normal. (Straw y co, 2000)

Los signos clínicos de la enfermedad en los lechones se asemejan a los de la infección leve con *Cl. perfringens* tipo C. (Straw y co, 2000). La confirmación se basa en el aislamiento del *Cl. perfringens* tipo A y en la demostración de la enterotoxina en el contenido intestinal, además de la eliminación de otras causas que dan un cuadro similar, tales como enteritis por *Cl. perfringens* tipo C o coccidiosis (Varley, 1995)

2.5.4. Diarrea neonatal por *Escherichia coli* (*E. coli*)

En la actualidad se considera a *E. coli* como el agente etiológico de mayor importancia en la presentación de cuadros diarreicos en cerdos lactantes. Entre los factores de virulencia que son los responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, se encuentran las fimbrias opili, necesarios para permitir la adhesión y colonización de cepas enteropatógenas (EPEC) y enterotoxigénicas (ETEC) de *E. coli* a las células epiteliales del intestino delgado del huésped, con posterior elaboración de toxinas en caso de ETEC, las que estimulan la secreción de fluidos con producción de diarrea (Canal et al, 1999)

Las ECET se adhieren a la mucosa del intestino delgado en cerdos neonatos por medio de una o más de las adhesinas fímbricas F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P) o F41 (Straw y co, 2000)

Los cerdos recién nacidos, cuando abandonan el útero y antes de alcanzar los pezones de la cerda, encuentran una alta contaminación ambiental de la jaula de parición y la piel de la madre, resultando en la ingestión de microbios de la flora intestinal de la cerda. Por lo tanto, en condiciones pobres de higiene o en un sistema continuo de pariciones, la acumulación progresiva de *E. coli* patógena en el ambiente puede llevar a un brote de diarrea neonatal por *E. coli*.

El calostro contiene factores bactericidas inespecíficos y anticuerpos específicos (IgA) que inhiben la adherencia de la *E. coli* patógena en el intestino. Si la madre no fue expuesta a la *E. coli* patógena presente en el ambiente de los lechones, los

anticuerpos específicos no están presentes en el calostro y los lechones son susceptibles de infección. De forma similar, cuando los lechones individuales no tienen acceso al calostro, a causa de la lesión o incapacidad para competir o por agalactia o insuficiente cantidad de pezones de la cerda, son más susceptibles de contraer la infección. (Straw y co, 2000)

La temperatura ambiente en el galpón de parición también es importante. En cerdos mantenidos a una temperatura menor a 25°C, la actividad peristáltica del intestino se reduce bastante y el pasaje a través del intestino de bacterias y anticuerpos protectores se ve demorado (Sarmiento, 1983)

La mayoría de las E. coli patógenas producen una o más adhesinas fímbricas que median su fijación a receptores específicos en las células epiteliales mucosas y en la capa mucosa adyacente. Las fimbrias se adhieren a receptores específicos en la membrana de las células epiteliales del intestino y a receptores específicos e inespecíficos en el moco que cubre el epitelio. Las ECET que se adhieren a la mucosa intestinal producen enterotoxinas que cambian el flujo de agua y electrolitos del intestino delgado, lo que puede llevar a la diarrea si el exceso de líquido del intestino delgado no es absorbido en el intestino grueso. Las dos clases principales de enterotoxinas son producidas por las ECET porcinas: la toxina termoestable (ST), que es resistente al tratamiento térmico a 100°C durante 15 minutos y la termolábil (LT) que es inactivada a 60°C durante 15 minutos. Al unirse la LT activa la adenilato ciclasa, que estimula la producción de AMPc. Los altos niveles de AMPc en la célula resultan en el aumento de la secreción de Cl, Na, HCO₃ y agua en la luz intestinal. La secreción excesiva conducirá a deshidratación, acidosis metabólica y luego a la muerte. (Straw y co, 2000)

En los casos graves pueden observarse los signos clínicos de deshidratación; proceso de acidosis metabólica y finaliza con la muerte. En algunos casos, en particular en animales jóvenes, la infección puede ser tan rápida que se produce la muerte antes de desarrollarse la diarrea. (Straw, 2000)

La diarrea neonatal puede observarse por primera vez 2-3 horas después del nacimiento y puede afectar a un solo lechón o a toda la camada. La diarrea puede ser muy leve sin evidencia de deshidratación o puede ser clara y acuosa. Las heces pueden variar de claras a blanquecinas o varios matices de marrón. La musculatura abdominal está flácida y atónica, los cerdos están deprimidos y lentos, los ojos pueden estar hundidos y la piel puede tener un color gris azulado y un aspecto apergaminado. La pérdida de líquido y peso produce un aumento exagerado de las sapiencias óseas. Estos animales suelen morir. En los casos más crónicos o menos graves, el ano y el periné pueden estar inflamados por el contacto con la materia fecal alcalina. Los cerdos con una deshidratación menor pueden continuar bebiendo y si son tratados en forma apropiada pueden recuperarse con pocos efectos a largo plazo. (Straw y co, 2000)

La diarrea en los cerdos desde el periodo neonatal hasta el posdestete es semejante a la observada en los lechones neonatos, pero tiende a ser menos grave. La morbilidad puede ser la misma que en el periodo neonatal pero la mortalidad es sin duda menor. Las heces varían desde grisáceas a blanquecinas en lechones no destetados a parduscas en los recién destetados. (Straw y co, 2000)

Las lesiones macroscópicas que pueden observarse incluyen deshidratación, dilatación del estómago (el cual puede contener coágulos de leche sin digerir o alimento en el caso de diarrea posdestete), infartación venosa en la curvatura mayor del estómago y dilatación del intestino delgado con algo de congestión de la pared intestinal. En los casos de infección de ECET complicada por shock, las lesiones características incluyen congestión marcada de las paredes del intestino delgado y el estómago y contenido intestinal teñido con sangre. (Straw y co, 2000)

Entre los métodos más utilizados para realizar el diagnóstico de colibacilosis en cerdos lactantes, se encuentra el aislamiento bacteriológico de *E. coli* con

posterior identificación de fimbrias y toxinas presentes, metodología que requiere de cierto período de tiempo para su realización y está sujeto además a las condiciones de cultivo. Sin embargo, en la actualidad, el diagnóstico se ha facilitado mediante la implementación de exámenes inmunohistoquímicos (IHQ), los que son rápidos, seguros y simples. (Canal et al, 1999)

Puede utilizarse un antibiótico de amplio espectro hasta conocer los resultados de la sensibilidad de los antibióticos. La fluidoterapia que consiste en el uso oral de soluciones de reemplazo de electrolitos que contienen glucosa es útil para el tratamiento de la deshidratación y la acidosis. Es importante asegurarse que los lechones más jóvenes se mantienen a una temperatura constante de 30-40°C y que los cerdos recién destetados están en una ambiente libre de corrientes de aire a una temperatura constante de alrededor de 29,5°C. (Straw y co, 2000)

2.5.5. Prevención cuadros de diarrea

La inmunidad que posee la cerda contra los microorganismos que la rodean, es pasivamente transferida a sus lechones a través del calostro durante las primeras horas de vida, y por la leche en el transcurso de la lactancia. Hay alteración en los mecanismos de transferencia cuando las parideras están frías, las cerdas tienen el síndrome de metritis, mastitis o agalactia, la alimentación es mala, o hay estrés; entonces, los lechones absorben menos calostro, reciben menos leche, se debilitan, presentan diarrea y una mayor mortalidad. El otro mecanismo de protección de las mucosas es la flora normal constituida por bacterias, virus, parásitos y hongos. La flora normal impide que las mucosas sean colonizadas por microorganismos patógenos y además estimula el sistema inmune del lechón a través de gran variedad de antígenos, dentro de los que se encuentran las endotoxinas. (Morilla, 1991)

Al nacimiento, el lechón es colonizado por diversos microorganismos saprofitos, muchos de ellos son bacterias acidificantes que al establecerse constituyen la flora

normal. Una de las funciones de esta flora, es inhibir el crecimiento de otras bacterias que pueden ser potencialmente patógenas. Entre las bacterias acidificantes se encuentran las del género *Lactobacillus* que producen sustancias antibacterianas de amplio espectro denominadas lactocidinas; además, producen peróxido de hidrógeno, ácido láctico, ácido acético y pequeñas cantidades de ácido fórmico, que son bactericidas para varios microorganismos. El efecto bactericida es debido al bajo pH que es dependiente principalmente del ácido láctico. (Morilla, 1991)

El establecimiento de la flora normal es ayudado por medio del calostro, que contiene sustancias estimulantes del crecimiento de bacterias acidificantes (factor bífido), el pH del calostro que en la cerda es de alrededor de 6.0, la lisozima, lactoferrina y otras sustancias bacteriostáticas y bactericidas así como anticuerpos. En ocasiones, la flora normal no puede controlar los gérmenes patógenos, porque el animal fue tratado con antibióticos o al nacimiento sufrió una infección masiva, debido a la elevada contaminación ambiental.

La acidez del estómago del cerdo al nacimiento está entre pH 6 y 5, y baja debido al establecimiento de las bacterias acidificantes, que son estimuladas a multiplicarse por el factor bífido del calostro y la lactosa de la leche. Existe una relación inversa entre el pH del estómago y la multiplicación de coliformes potencialmente patógenos; es por este motivo que la colonización inmediata favorecida por acidificantes, impide que se multipliquen demasiado las coliformes que pueden llegar a causar diarrea. Además, la acidez que proporcionan las bacterias acidificantes ayuda a la digestión de la leche y controla el que la ingesta se mantenga relativamente estéril cuando atraviesa el estómago. Alrededor de la tercera semana el animal empieza a ingerir alimento sólido, y es cuando el estómago produce HCl; aproximadamente a los dos meses de edad el pH del estómago llega a 2, con lo que ocurre la esterilización de la ingesta y no penetran microorganismos patógenos. (Morilla, 1991)

En condiciones de campo algunos veterinarios han utilizado bacterias acidificantes para disminuir la diarrea durante el periodo de lactancia. Dentro de estos productos se encuentra el yogurt que es un cultivo de *Lactobacillus bulgaricus* en leche o compuestos comerciales a base de *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *Streptococcus faecium*. Una diferencia entre estos productos, es que *L. bulgaricus* no coloniza el tracto gastrointestinal, mientras que las otras bacterias pueden colonizarlo dependiendo de la especie. (Morilla, 1991)

Uno de los efectos que se ha reportado con la utilización de lactobacilos, es que al ayudar a colonizar el tracto gastrointestinal con bacterias acidificantes, estas son excretadas y colonizan a otros animales. De esta manera disminuye la contaminación ambiental en la granja por gérmenes patógenos y los recién nacidos tienen menos posibilidades de infectarse. Por este motivo en ocasiones el efecto de los lactobacilos no es inmediato, sino que se manifiesta después de los lechones de la granja (Morilla, 1991)

Como ya se ha mencionado anteriormente, un excelente manejo de los animales y de las normas estrictas de bioseguridad en una granja porcícola son puntos clave en la prevención y profilaxis en la aparición de cuadros de diarrea como los producidos por la *E. coli* y el *Cl. perfringens* tipo A y C. Entre los puntos más importantes de manejo están:

- Jaulas de parición: en las jaulas que son muy largas, las heces se depositan sobre una gran área del espacio disponible del suelo, aumentando la zona de contaminación. Es ideal que la jaula sea ajustable, permitiendo el acortamiento de las jaulas para las primerizas que necesitan menor longitud que las cerdas. Las jaulas en suelos elevados con perforaciones permiten que la materia fecal caiga fuera y lejos de los lechones y las camadas paridas en dichos suelos tienen una incidencia mucho menor de diarrea que aquellas en suelos sólidos

de cemento. Deben ser lavadas y desinfectadas en forma completa entre camadas.

- Medioambiente: un ambiente seco y cálido reduce la humedad disponible para aumentar la supervivencia de la bacteria. La cerda debe estar a una temperatura aproximada de 22°C, necesitando un área cálida para el deambular de los lechones.
- Cuarentena: es necesaria para controlar la introducción de los diferentes tipos patológicos de *E. coli* u otros agentes infecciosos en la piara. Un sistema todo dentro/todo fuera con una desinfección completa de la sala de parición entre lotes reducirá la población de *E. coli* en el ambiente.

Los métodos que se han seguido para controlar el síndrome diarreico de los lechones son el saneamiento del medioambiente, la modificación de las instalaciones, el uso de antibióticos y la inmunización de la cerda con bacterinas contra *E. coli* o con vacunas de virus atenuados de gastroenteritis transmisible o de rotavirus. (Morilla, 1991)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La recolección y toma de muestras se llevaron a cabo en la granja porcícola La Primavera ubicada en la vereda Bulucaima, en el municipio de La Vega, Cundinamarca, Colombia.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población total de hembras en la granja es de 136. Clasificadas en gestantes, paridas o lactantes, vacías y hembras de reemplazo.

La población muestreada fue de 25 cerdas de línea materna terminal Landrace x Yorkshire divididas en cinco grupos así:

- 5 hembras de primer parto
- 5 hembras de segundo parto
- 5 hembras de tercer parto
- 5 hembras de cuarto parto
- 5 hembras de quinto parto

3.3. VARIABLES

Se tendrán en cuenta como variables el peso de la camada y mortalidad al destete.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se hizo un análisis de bloques completamente al azar de cinco bloques (hembras) por parto teniendo en cuenta que las variables fueron peso de la camada al nacimiento/destete y mortalidad al destete.

Se realizó un análisis de varianza para las variables de peso inicial y peso final utilizando los promedios y comparándolos con el número de parto, lo cual arrojó resultados no significativos ya que el valor para P fue > 0.0001 ; por ende el análisis se basó en una estadística descriptiva la cual busca sólo describir y analizar un grupo determinado, sin sacar conclusiones o inferencias acerca de un grupo más grande (Spiegel, 2002)

Posteriormente se obtuvo el coeficiente de correlación para los pesos y la concentración de IgG comparados con el número de parto. El coeficiente de correlación es una cantidad sin dimensiones: carece de unidades de medición; el valor máximo que r alcanza es 1, y su valor mínimo es -1 (Pagano, 2005).

3.5. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

Al llegar a la granja porcina La Primavera se siguieron en estricto orden todas las normas de bioseguridad que implicaba la entrada a la misma. Una vez con la vestimenta adecuada y teniendo previamente identificadas por su número a la(s) cerda(s) que estaban en trabajo de parto, se hizo un lavado de la zona de las mamas (pectorales, abdominales e inguinales) con agua y jabón suave al igual que un lavado de nuestras manos y brazos para realizar la extracción de la muestra.

La extracción de calostro se realizó deslizando el pezón elegido entre dos o tres dedos que fueron previamente humedecidos con la misma secreción, lo cual

permitió una menor fricción y la obtención de la muestra representativa de 5 ml en poco tiempo.

Las respectivas muestras se recogieron directamente en frascos estériles para la toma de muestras de orina, las cuales se mantuvieron a temperatura ambiente de 15 a 20 minutos. Posteriormente se taparon los frascos y se guardaron en neveras portátiles con hielo a una temperatura aproximada de 4°C. El proceso de espera de la muestra luego de ser obtenida fue para evitar un choque térmico y que ésta no se pudiera alterar al desnaturalizarse las proteínas existentes en la misma.

Las muestras se transportaron en neveras portátiles hasta el Laboratorio de hormonas del Departamento de Química de la Universidad Nacional en donde fueron divididas en alícuotas y posteriormente congeladas a una temperatura de -20°C hasta el momento de la realización de la prueba ELISA.

3.5.1. Ensayo ELISA

El material biológico se trató previo al ensayo, con el fin de eliminar el alto contenido de grasa presente en las muestras, evitando la interferencia en el inmunoensayo. Brevemente, se realizó centrifugación en frío a 11000 g durante 20 minutos, proceso que se repitió hasta eliminación total del contenido graso. Posteriormente se adicionó buffer acetato 100 mM para alcanzar un pH 4,6, logrando la precipitación de caseína en la muestra, la cual se retiró mediante centrifugación en frío a 11000 g durante 10 minutos. El sobrenadante se almacenó a -20°C hasta el momento del análisis.

Se desarrollo un sistema de reconocimiento de la proteína, de acuerdo al siguiente protocolo:

3.5.1.1. Aplicación de la muestra

Se permitió la adherencia de la muestra en microplacas de máxima absorción recomendadas para ELISA (Coat Corning Costar 9018, USA). La dilución apropiada de muestra o estándar de IgG humana () se preparó en Coating buffer (eBioscience, USA) y se adicionó 100 μ L de la preparación a cada pozo. Se permitió la incubación durante toda la noche a 4°C.

3.5.1.2. Bloqueo de sitios inespecíficos

Se realizó el bloqueo de sitios inespecíficos en la microplaca utilizando 200 μ L de buffer diluyente constituido por PBS suplementado con albumina sérica bovina al 3% e incubación durante 1 hora a temperatura ambiente.

3.5.1.3. Incubación con el anticuerpo de reconocimiento

Se incubó con 100 μ L de solución de anticuerpo anti-IgG humana obtenido en conejo (A0423, Dako, USA) y preparado en buffer diluyente en el título optimizado. La incubación se realizó durante la noche a 4°C o 2 horas a temperatura ambiente.

3.5.1.4. Incubación con el anticuerpo de detección

Se incubó con 100 μ L de solución de anticuerpo anti conejo acoplado a la enzima peroxidasa de rábano HRP preparado en buffer diluyente en dilución apropiada para el ensayo. La incubación se realizó durante 1 hora a temperatura ambiente.

3.5.1.5. Activación enzimática

Se adiciono 100 μ L de solución substrato de 3,3',5,5'tetrametilbencidina (TMB)/peróxido de hidrogeno (eBioscience, USA) a cada pozo. Se permitió la incubación por 15 minutos, para el desarrollo de color

3.5.1.6. Inactivación de la reacción

Se adiciono 50 μ L de HCl 0,50 M para detener la reacción enzimática. Inmediatamente se procedió a realizar la lectura espectrofotométrica a 450 nm y utilizando lectura de referencia a 630 nm (Lector de microplaca Biorad).

3.5.2. Optimización ensayo ELISA

Dentro del protocolo anterior se realizó la optimización de los siguientes parámetros críticos en un ensayo inmunoenzimático:

3.5.2.1. Estándares

A partir de estándar de IgG de concentración 0,7789 mg/mL se estableció el rango de la curva de calibración entre $60,8 \pm 0,1$ y $7788,8 \pm 0,5$ ng, con coeficiente de correlación $R^2 = 0,998$.

3.5.2.2. Dilución de la muestra

Se probaron diluciones de muestra entre 1:1000 y 1:5000. Se utilizó diferente dilución de acuerdo a cada muestra.

3.5.2.3. Título de anticuerpo de reconocimiento

En primer lugar se probaron diluciones seriadas de anticuerpo entre 1:1000 y 1:1000000 por medio de ensayos de dot blot y posteriormente en el ELISA, encontrando como título óptimo la dilución 1:100000. El anticuerpo no presenta reacción cruzada con IgA o IgM. Se uso este anticuerpo ante la imposibilidad de acceder a un anticuerpo específico para IgG porcina, y basado en la alta similaridad de la inmunoglobulina humana con la porcina.

3.5.2.4. Título de anticuerpo de detección

Se probaron diluciones 1:1000 a 1:10000, encontrando que esta ultima resulta ser adecuada para la detección de los anticuerpos.

Posterior a la toma de muestras y nacimiento de las camadas se tomó un peso total y peso promedio de cada una, el cual fue comparado con el peso total y promedio al destete de los mismos días después. Se hizo un seguimiento de las camadas en caso de evidenciar posibles cuadros de diarrea.

Obtenidos los resultados del peso, la mortalidad y el ELISA, se tabularon y se procedió al análisis estadístico de los mismos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Posterior a la toma de la muestra de calostro de las 25 cerdas, su análisis por medio de la prueba ELISA y de la recolección de datos del peso inicial - final de las camadas, se hizo el respectivo análisis estadístico el cual se presenta en forma de tablas y gráficas netamente descriptivas.

Tabla 2. Resultados de la prueba ELISA para medir la IgG en el calostro de cerdas.

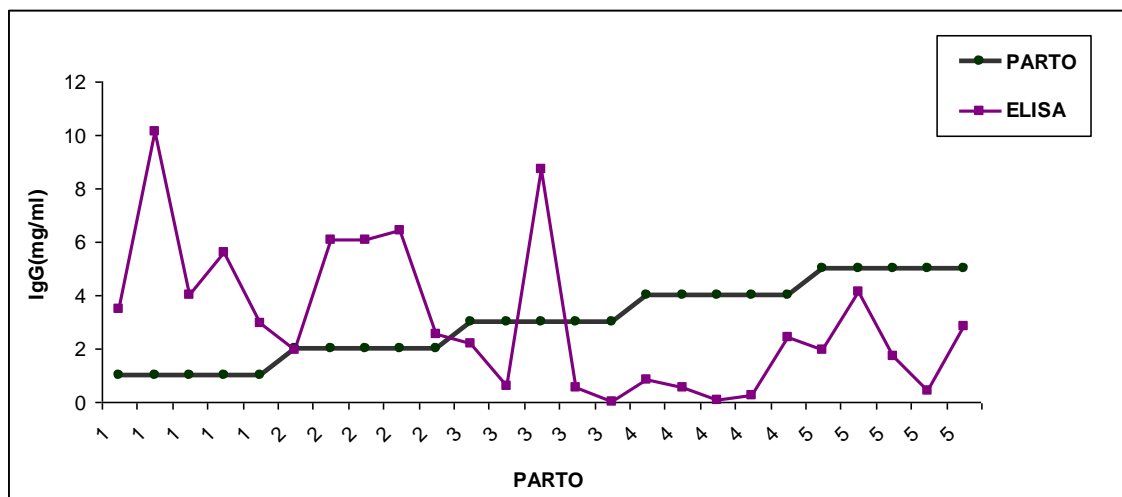
CERDA	No. PARTO	IgG (mg/ml)
9099	1	3,49
9104	1	10,1
9123	1	4,02
9113	1	5,6
8577	1	2,96
8566	2	1,94
8582	2	6,05
8560	2	6,04
8578	2	6,39
8550	2	2,53
8107	3	2,15
7074	3	0,595
7052	3	8,72
8568	3	0,529
7051	3	0
7056	4	0,818
7068	4	0,532
7069	4	0,044
5474	4	0,233
6645	4	2,43
21	5	1,95
22	5	4,13
0533	5	1,68
0513	5	0,436
6603	5	2,82

Fuente: Laboratorio de Hormonas. Departamento de Química. Universidad Nacional.

Se obtuvo el coeficiente de correlación de Pearson para observar las diferencias entre el número de parto y la concentración de IgG el cual dio como resultado una correlación moderada e inversa, esto indica que a mayor número de parto, la cantidad de IgG disminuye y viceversa.

La siguiente gráfica muestra claramente este resultado, el cual difiere de los datos obtenidos en los estudios consultados, que concluyen una correlación directa entre estas dos variables. Por ejemplo, Cotrino et al (1998) concluyen que a mayor número por partos es mayor el nivel de gammaglobulinas séricas y calostrales.

Gráfica 1. Correlación número de parto vs. Concentración de IgG (mg/ml)



Es importante acotar que dichos estudios utilizaron principalmente como técnicas de laboratorio pruebas cualitativas como la precipitación con sulfato de zinc, la inmunodifusión radial (Mancini) y la refractometría. También utilizaron pruebas semicuantitativas como la electroforesis en gel de acetato de celulosa.

Basándose en esta información y con el fin de aportar algo innovador, se decidió llevar a cabo la investigación con una técnica diferente y netamente cuantitativa como la ELISA. Fue imposible encontrar un kit específico para la especie porcina,

debido a esto se utilizó un kit humano el cual representa un 95% de confiabilidad en la presente investigación. Los resultados obtenidos con la prueba ELISA difieren de los encontrados en la revisión bibliográfica. En el presente estudio las hembras jóvenes son las que poseen una mayor cantidad de IgG en el calostro y no las hembras con más número de partos.

En las tablas 3 y 4 se presentan los datos de peso inicial y peso final de cada una de las camadas en la etapa de lactancia. Con base en dicha información se discuten los resultados y se hace una comparativa con los estudios revisados para esta investigación.

Tabla 3. Peso inicial por camada

No. CERDA	No. PARTO	No. LECHONES/CAMADA	PIT*/CAMADA	PIP**/CAMADA
9099	1	11	15180	1380
9104	1	9	11195	1243
9123	1	9	13050	1450
9113	1	13	17980	1383
8577	1	9	15015	1668
8566	2	15	19790	1319
8582	2	11	16941	1540
8560	2	11	13375	1215
8578	2	4	7605	1901
8550	2	10	15515	1552
8107	3	11	11640	1060
7074	3	14	19510	1393
7052	3	14	17440	1245
8568	3	10	12640	1260
7051	3	14	19130	1366
7056	4	12	17505	1458
7068	4	11	18360	1670
7069	4	13	13660	1050
5474	4	13	18860	1571
6645	4	14	14450	1032
21	5	12	20260	1688
22	5	6	10070	1678
0533	5	12	18120	1510
0513	5	8	11128	2460
6603	5	11	14879	1352

*PIT: Peso inicial total

**PIP: Peso inicial promedio

Tabla 4. Peso final por camada

No. CERDA	No. PARTO	No. LECHONES/CAMADA	PFT*/CAMADA(gr)	PFP**/CAMADA(gr)	EDAD DTTE (días)
9099	1	11	64400	5370	25
9104	1	9	56200	6340	21
9123	1	9	59800	6640	22
9113	1	13	54000	4500	21
8577	1	9	60200	6680	20
8566	2	15	75200	6270	26
8582	2	11	75600	6300	26
8560	2	11	71900	5990	23
8578	2	4	53600	6700	18
8550	2	10	69200	6920	20
8107	3	11	46600	4660	20
7074	3	14	15600	5810	27
7052	3	14	74800	6230	26
8568	3	10	73000	7300	26
7051	3	14	48600	4050	21
7056	4	12	80800	7340	30
7068	4	11	82000	6830	26
7069	4	13	64400	6440	28
5474	4	13	81200	6760	28
6645	4	14	67000	6090	28
21	5	12	79000	6580	27
22	5	6	34600	5760	20
0533	5	12	69200	5770	24
0513	5	8	81400	11600	30
6603	5	11	59200	5380	20

*PFT: Peso final total

**PFP: Peso final promedio

En el estudio de Pérez *et al* (2002), se cita a Benyón (1998) el cual afirma que los pesos al destete están estrechamente correlacionados con los pesos al nacer y por lo tanto no se da un cambio drástico; por el contrario otros estudios afirman que a medida que aumenta el número de partos de la cerda la ganancia diaria de peso de los lechones es mayor (Cottrino, 1998).

En la siguiente tabla se muestra el peso promedio final alcanzado por cada grupo y el promedio de días durante la lactancia. Los parámetros productivos que se manejan en la granja La Primavera en cuanto al peso final de las camadas según los días de lactancia son los siguientes:

- 21 días: 6.1kg – 6.2kg
- 25 días: 6.4kg – 6.5kg
- 28 días: 6.8kg – 7.0kg

Tabla 5. Peso final por camada vs. Días en lactancia

PARTO	PROMEDIO DESTETE (días)	PESO FINAL CAMADA(kg)
1	20	5,09
2	22,6	6,43
3	24	5,61
4	28	6,69
5	24,2	7,01

Según los datos mostrados en la tabla anterior, al individualizar los grupos, se observa que el peso final de las camadas provenientes de hembras de segundo, cuarto y quinto parto tuvieron un buen desempeño y alcanzaron el parámetro establecido en la granja; por el contrario, el peso final de las camadas provenientes de hembras de primer y tercer parto no alcanzaron el peso requerido al finalizar la lactancia.

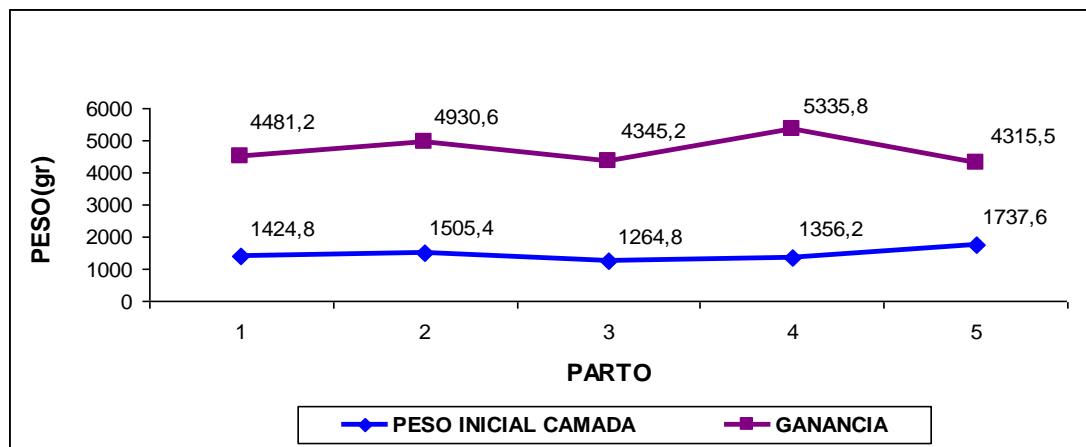
A pesar de que en el presente estudio el calostro de las hembras con más número de partos tenga menor cantidad de IgG, las camadas de las mismas tuvieron mejores pesos al destete que las camadas de las hembras jóvenes cuyo calostro tiene mayor cantidad de IgG.

Para la ilustración de las gráficas 3 y 4 se quitó la ganancia y el peso final de la camada de la hembra 0513 perteneciente al grupo de quinto parto, puesto que sus parámetros estuvieron por encima de lo normal y sus lechones estuvieron 30 días en lactancia; esto no demuestra el peso real del grupo ya que las camadas de las otras hembras pertenecientes al mismo tuvieron un peso bajo respectivo al parámetro establecido en la granja.

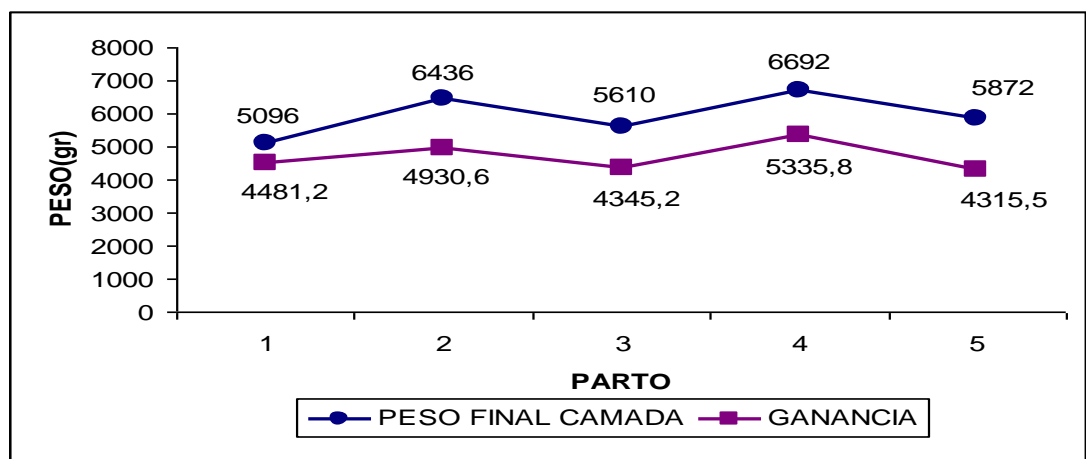
Sin embargo, las gráficas muestran que tanto el peso inicial y final por camada como la ganancia total de peso se mantuvieron uniformes durante el periodo de lactancia.

Es importante anotar que las camadas de las hembras adultas estuvieron en promedio más días en lactancia que las camadas de las hembras jóvenes, aunque no se puede desconocer que la capacidad láctea de las cerdas adultas sea mejor.

Gráfica 2. Relación promedio peso inicial vs. Ganancia de peso por grupo



Gráfica 3. Relación promedio peso final vs. Ganancia de peso por grupo



El nivel de producción de leche es en parte una función de capacidad de la hembra para la lactación (su tamaño corporal, sus reservas corporales y su nutrición), y en parte una función del estímulo provocado por los cerditos al mamar (tamaño de la camada, peso y vigor de los cerditos). La lactación alcanza un pico unas tres semanas posparto. El rendimiento de la producción de leche varía enormemente entre las cerdas individuales y se discute mucho sobre el verdadero nivel de producción lechera posible en las cerdas híbridas modernas. (Whittemore, 1996)

Tabla 6. Rendimiento lechero en relación con el número de lechones que maman

No. LECHONES	PRODUCCIÓN LECHE (kg/día)	CONSUMO DE LECHE (kg/cerdo/día)
6	8,5	1,4
8	10,4	1,3
10	12	1,2
12	13,2	1,1

Fuente: Whittemore, Colin. Ciencia y práctica de la producción porcina. Página 647

Hay una influencia del tamaño de la camada sobre la producción de leche por parte de la cerda y el consumo de leche por lechón. (Whittemore, 1996)

Tabla 7. Aumento previsto del rendimiento lechero según el número de parto

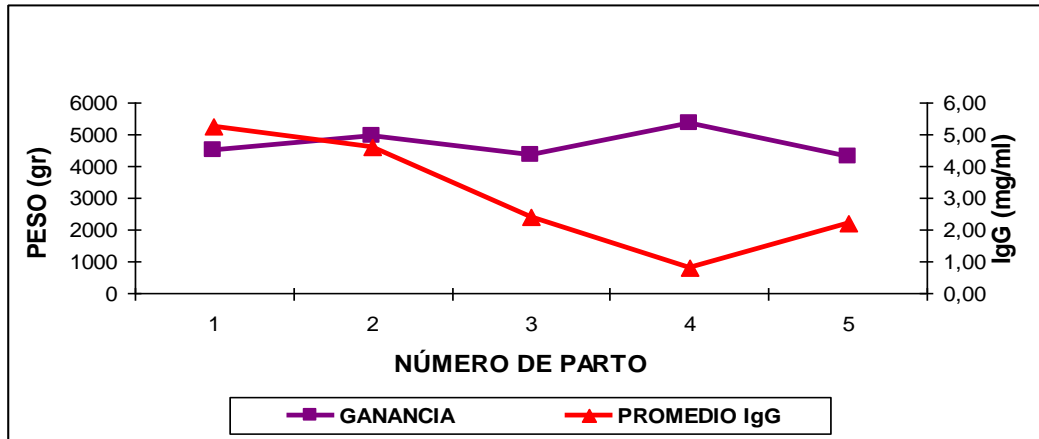
No. DE LA LACTACIÓN	RENDIMIENTO DIARIO MEDIO DE LECHE (kg)
1	8
2	10
4	11
6	12
8	10

Fuente: Whittemore, Colin. Ciencia y práctica de la producción porcina. Página 647

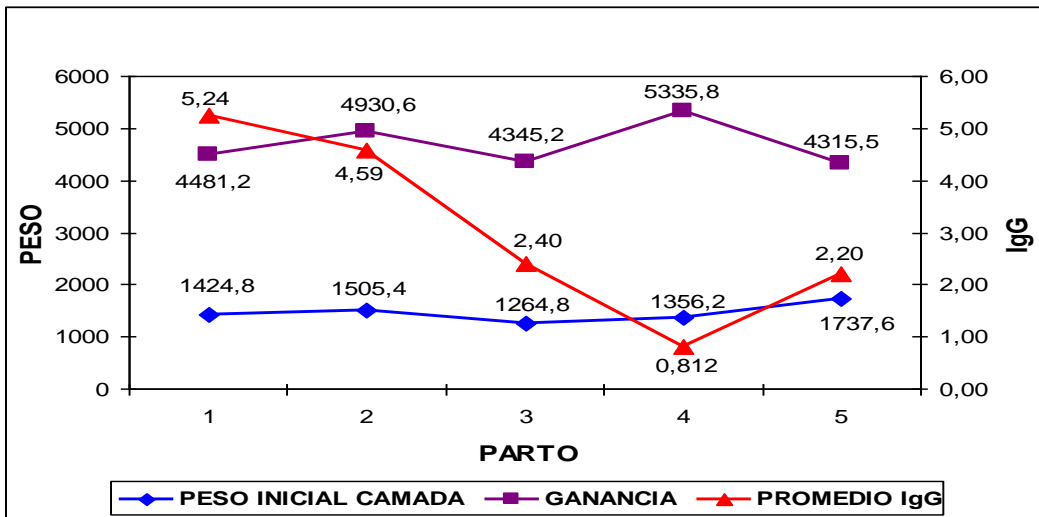
La producción de leche aumenta también con el número de parto, aunque también lo hace con el tamaño de la camada, por lo que la leche producida por el estímulo del lechón no tiende a aumentar con el número de parto. (Whittemore, 1996)

Las gráficas 5 y 6 evidencian que a pesar de que el nivel de IgG es mayor en el calostro de hembras jóvenes, el comportamiento de los lechones en lactancia y peso final se ve compensado por la mejor capacidad láctea de las hembras adultas.

Gráfica 4. Ganancia de peso vs. Concentración promedio de IgG



Gráfica 5. Peso inicial vs. Concentración IgG vs. Ganancia de peso



Durante el periodo de toma de muestras y hasta finalizar la recolección de datos de los pesos iniciales y finales de las 25 camadas no se presentó mortalidad

debido a cuadros de diarrea por *Clostridium perfringens* ni *Escherichia coli*. Sin embargo, se tomaron los datos de mortalidad del primer semestre del 2009 y de los años anteriores en la granja La Primavera con el fin de mostrar la disminución en el porcentaje de la misma año tras año y discutir los puntos claves que han permitido mejorar esta variable.

Tabla 8. Causas de mortalidad en lactancia en el 2009

CAUSAS	No. DE CASOS	% MORTALIDAD
Hambre	3	3,4
Competencia por pezón	1	1,1
Asfixia	1	1,1
Desconocida	5	5,6
Sacrificio	6	6,7
Artritis	1	1,1
Muerte súbita	4	4,5
Diarrea	5	5,6
Hernia	1	1,1
Baja viabilidad	9	10,1
Sute	1	1,1
Deformidad	3	3,4
Bajo peso	22	24,7
Patiabierto maniabierto	4	4,5
Aplastamiento	23	25,8

Gráfica 6. Causas y porcentaje de mortalidad en el primer semestre del año 2009 granja La Primavera

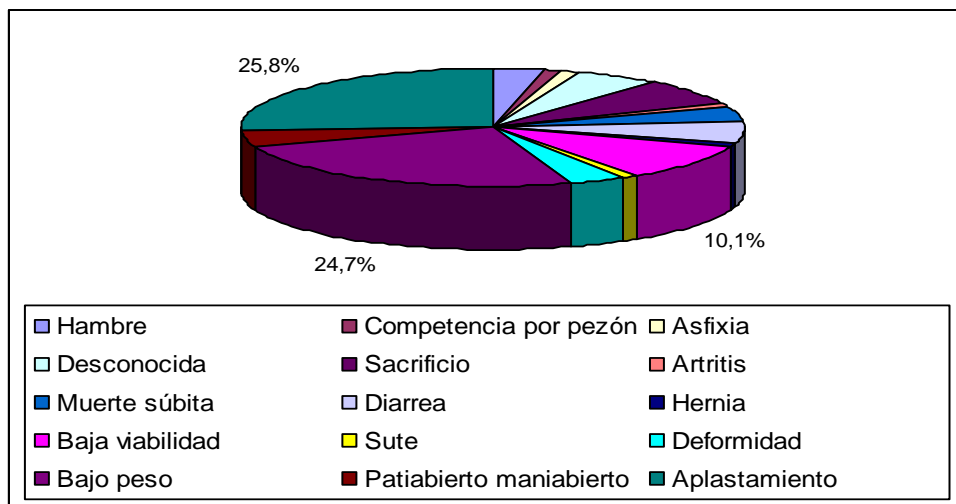
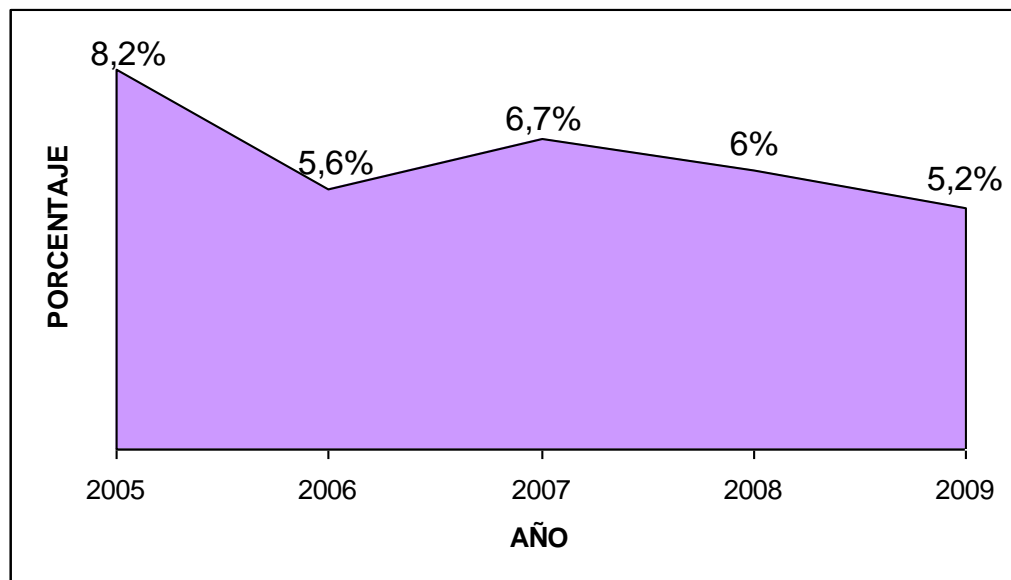


Tabla 9. Porcentaje de Mortalidad en la Lactancia en los años 2005 -2009
Granja La Primavera.

AÑO	MORTALIDAD (%)	NACIDOS VIVOS	No. MUERTOS
2005	8,2	1842	148,2
2006	5,6	1752	89
2007	6,7	2142	141
2008	6	2105	99
2009	5,2	1695	89

Gráfica 7. Porcentaje mortalidad granja La Primavera 2005 – 2009



En la granja La Primavera el porcentaje de mortalidad ha venido disminuyendo año a año debido a perfeccionamientos en todas las etapas, tanto de infraestructura como de operarios. Unos puntos clave han sido:

- Mejor control sanitario
- Refuerzo de normas de bioseguridad
- Modernización a instalaciones
- Capacitación de operarios

- Operarios más cautelosos en asegurarse de que todos los lechones consuman calostro

Esto indica que reforzando año a año los puntos débiles y capacitando las personas directamente encargadas de los animales y todo lo que les rodea, se puede evidenciar una mejoría no solo en el índice de mortalidad sino también en la calidad de los lechones al finalizar el periodo de la ceba.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos con la prueba ELISA indican que la cantidad de IgG en el calostro de las cerdas disminuye con el aumento en el número de partos.

El calostro de las hembras con menor número de partos tiene mayor cantidad de IgG, permitiendo garantizar una buena calidad sanitaria de los lechones que se refleja en el peso de las camadas al destete. Conjuntamente y a pesar de la menor cantidad de IgG en el calostro de las hembras con mayor número de partos, los lechones mostraron un buen peso al destete indicando que su capacidad láctea es mejor.

No es determinante el número de parto de la cerda para lograr un buen peso al destete de sus camadas.

La utilización de un kit Elisa humano en esta investigación ofreció un 95% de confiabilidad, que aunque no es el ideal sigue manejando un alto nivel de sensibilidad.

Es necesario centrifugar las muestras de calostro de cerda varias veces ya que la cantidad de grasa hace difícil el procesamiento de las muestras para una prueba netamente cuantitativa como la Elisa.

La cantidad de grasa en el calostro de la cerda ayuda a mantener la parte energética en los lechones evitando posibles problemas de hipotermia e hipoglicemia.

Se realizó la estandarización de las muestras de calostro de cerda para obtener la curva de calibración (Anexo 4) y saber cuál era el rango de volumen a manejar

para poder correr la Elisa, ya que no se encontraron ni estudios ni bibliografía donde estuviera establecido.

A pesar de la estandarización la variabilidad se mantuvo entre las muestras a pesar de correr la prueba en varias ocasiones.

El que no se haya conseguido un kit Elisa específico para cerdos, corrobora el hecho de que no se encontraran investigaciones con calostro de cerdas utilizando la técnica Elisa.

Todas las cerdas en las que se realizó la investigación se mantuvieron bajo los mismos parámetros de alimentación, medio ambiente y manejo; por lo tanto, estas variables no tienen incidencia en el resultado final del trabajo.

Es importante que la atención del parto sea muy buena y el operario se asegure que los lechones consuman una buena cantidad de calostro en las primeras horas de vida para que así mismo sea mayor la cantidad de proteínas absorbidas.

Es muy importante para el análisis de las camadas que los pesos finales vayan correlacionados con la edad al destete.

Si la calidad del calostro y el manejo de la hembra y los lechones durante la lactancia es adecuada, esto se va a ver reflejado en mejores pesos finales.

La calidad del lechón en lactancia, se refleja en la calidad de carne ofrecida al consumidor.

En esta investigación todos los resultados fueron diferentes a los encontrados en las bibliografías consultadas; debido a que es la primera vez que se utiliza una prueba netamente cuantitativa para muestras de calostro de cerdas, no se puede

ratificar ni contradecir los estudios previos, sólo se abre una línea de investigación con la utilización de esta técnica.

Se recomienda seguir realizando la prueba ELISA para la medición de inmunoglobulinas y así evaluar la calidad del calostro de la cerda.

Se recomienda aumentar el número de muestra en una población determinada.

Se recomienda manejar variables como tipo y frecuencia de alimentación de las cerdas a parte del número de parto y manteniendo la misma técnica de laboratorio.

Se recomienda hacer estudios similares simultáneos en distintas regiones del país, para evaluar si hay diferencias según la ubicación topográfica de las granjas.

En futuras investigaciones se recomienda analizar no sólo la IgG, sino también la IgA y la IgM en el calostro de cerdas con la técnica Elisa.

Se recomienda seguir el crecimiento de los lechones hasta la finalización de la ceba para evaluar su calidad y rendimiento dependiendo del grupo de número de parto al que pertenezcan y así ampliar el comparativo entre cerdas jóvenes y adultas que igualmente va a quedar reflejado en los datos de mortalidad durante las tres etapas.

La capacitación de los operarios de las granjas porcícolas se ve reflejada en una mejor productividad de la misma.

La tecnificación de las granjas porcinas aumenta la producción y calidad sanitaria de los animales debido a que los operarios tienen más tiempo para invertir en el cuidado de los animales.

El cumplimiento de las normas de bioseguridad es la mejor alternativa en la prevención de enfermedades infecciosas en la medicina poblacional.

6. BIBLIOGRAFÍA

BÉRÈTERBIDE, Jaqueline, *et al.* Determinación de las inmunoglobulinas séricas en lechones recién nacidos en una granja porcina de producción intensiva. En: Revista computadorizada de producción porcina. Buenos Aires, Argentina. Universidad Nacional de Luján. 2006. vol. 13, no. 1, p. 76 – 82.

CANAL, A, *et al.* Lesiones macro y microscópicas de intestino delgado de cerdos neonatos sin calostar inoculados experimentalmente con cepas de *E. coli* fimbriadas. En: Archivos de medicina veterinaria. 1999. vol. 31, no. 1, p 14 – 29.

CANAL A, *et al.* Técnicas inmunohistoquímicas para la identificación de antígenos fimbriales de *E. coli* enteropatógeno. Archivos de medicina veterinaria. 1999. vol. 31, no. 1, p. 30 – 42

CASANOVAS Carles. Encalostamiento de los lechones. 2002. www.3tres3.com/buscador/noti.php?sec=consejos_de_manejo&id=118&palabr_clave=calostro&b_seccion=consejos_de_manejo&ajax=2

CONCELLON, Antonio. Porcinocultura 1, razas reproducción selección y construcciones. Editorial aedos. 5 ed. Barcelona, España. 1994. 368 p.

CONTRERAS, F y TOVAR, L. Obtención de gammaglobulinas a partir de calostro bovino. Bogotá. Universidad Nacional. 1976

COTRINO, Víctor. Correlación de los niveles séricos y calostrales de gammaglobulinas en cerdas y su progenie según el número de parto. En: Acovez. 1998. vol. 23, no. 23, p. 8 – 12.

CROWTHER, Jhon. The ELISA guidebook. Ed Humana Press. Volumen 149. 2002. 445p

GERSHWIN, Laurel. Immunology and immunopathology of domestic animals. Editorial Mosby. 2 ed. Estados Unidos. 1995. 195p

HALLIWELL, R y GORMAN, N. Inmunología clínica veterinaria. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 1992. 560 p.

JENSEN, Annette, *et al.* Development of Intestinal Immunoglobulin Absorption and Enzyme Activities in Neonatal Pigs Is Diet Dependent. American Society for Nutritional Sciences. 2001. p. 3259 – 3265

LEYAN, V, *et al.* Concentraciones de inmunoglobulinas séricas y calostrales de vacas selenio-deficientes y en el suero sanguíneo de sus terneros. En: Arch. Med. Vet. 2004. vol. 36, no. 2, p. 155–160.

LEYTON, Gapper, *et al.* Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. En: Anal Bioanal Chem. 2007. vol. 389, p. 93–109.

MACHIN, Pascual. Efecto de la administración vía oral de inmunoglobulinas porcinas en lechones al nacimiento. En: Porcicultura Colombiana. 1998. vol. 6, no. 40, p. 8 – 12.

MORILLA, Antonio. Manual para el control de enfermedades infecciosas de los cerdos. Manual Moderno S.A. 2 ed. México. 2005. 316 p.

MORILLA, Antonio. Control inmunológico de la diarrea de los cerdos lactantes. Instituto nacional de investigaciones forestales y agropecuarias. En: Ciencia veterinaria. México D.F. 1991. no. 5, p. 89 – 118.

ORTEGA, Enrique; HALLAL, Calleros y SANTOYO, Paula. Activación de leucocitos a través de receptores para Inmunoglobulina G. En: Mensaje Bioquímico. Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones. México, D.F. 2007. vol. 31, p. 114 – 130.

PÉREZ, E, *et al.* Reducción de la mortalidad en crías porcinas modificando la lactancia. Bayamo, Cuba. En: Archivos de Zootecnia. Departamento de Sanidad y Producción Animal. Universidad de Granma. 2002. vol. 51, no. 195, p. 381 – 384.

PIJOAN, Pau. Niveles de inmunoglobulinas calostrales en becerras lecheras de la región de Tijuana y su efecto en la sobrevivencia y desarrollo de la cría durante la lactancia. En: Veterinaria México. 1997. vol. 28, no. 3, p. 203 – 207.

QUIROZ, R, *et al.* Adolfo. Impacto de la administración y la calidad del calostro sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas en becerros. En: Veterinaria México. 1998. vol. 29, no. 2, p. 161-166.

REDONDO, Pedro, *et al.* Placentación en animales domésticos. Área de Zootecnia y Producción Animal. INEA. 2001. www.inea.org/web/zootecnia/Zootecnia/Placenta.htm

SARMIENTO, J.I. Environmental temperature: A predisposing factor in the enterotoxigenic Escherichia coli-induced diarrhea of the newborn pig. M.S thesis, University Guelph, Ontario. 1983. 204 p.

SPIEGEL, Murray *et al.* Estadística. Mc Graw Hill. 3 ed. México. 2002. 541 p.

STANCHI, Néstor. Microbiología veterinaria. Editorial Intermédica. Buenos Aires, Argentina. 2007. 571 p.

TIZARD, Ian. Inmunología veterinaria. Editorial Mc Graw Hill. 6 ed. México D.F. 2002. 517 p.

TORTORA, Pérez. Enfermedades entéricas del cerdo, control y profilaxis. En: Porcicultura colombiana. 1998. vol. 5, no. 28, p. 14 – 22.

VALBUENA, Ruth. Fichas didácticas de inmunología veterinaria. 2004. 45 fichas.

VARLEY, M. El lechón recién nacido, desarrollo y supervivencia. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1995. 357 p.

WHITTEMORE, Colin. Ciencia y práctica de producción porcina. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 1996. 647 p.

6. ANEXOS

Anexo A. Coeficiente de correlación para peso inicial y peso final vs. número de parto

PARTOS	PESO INICIAL CAMADA
1	1424,8
2	1505,4
3	1264,8
4	1356,2
5	1737,6

	<i>PARTOS</i>	<i>PESO INICIAL CAMADA</i>
PARTOS	1	
PESO INICIAL CAMADA	0,41909876	1

PARTOS	PESO FINAL CAMADA
1	5906
2	6436
3	5610
4	6692
5	7018

	<i>PARTOS</i>	<i>PESO FINAL CAMADA</i>
PARTOS	1	
PESO FINAL CAMADA	0,684213773	1

Anexo B. Coeficiente de correlación para Elisa vs. Número de parto

PARTO	ELISA
1	3,49
1	10,1
1	4,02
1	5,60
1	2,96
2	1,94
2	6,05
2	6,04
2	6,39
2	2,53
3	2,15
3	0,595
3	8,72
3	0,529
3	0,000
4	0,818
4	0,532
4	0,044
4	0,233
4	2,43
5	1,95
5	4,13
5	1,68
5	0,436
5	2,82

	<i>PARTO</i>	<i>ELISA</i>
<i>PARTO</i>	1	
<i>ELISA</i>	-0,51532181	1

ANEXO C. Resultados prueba ELISA entregados por el Laboratorio de Hormonas del Departamento de Química de la Universidad Nacional

Niveles de IgG en muestras de leche porcina

Muestra	mg/ml	SD
21	3,49	1,0
22	10,1	2,1
5474	4,02	0,0
0533	5,60	1,5
6603	2,96	0,1
6645	1,94	0,5
7051	6,05	0,4
7052	6,04	0,0
7056	6,39	1,0
7068	2,53	0,9
7069	2,15	0,3
7074	0,595	0,2
8107	8,72	1,9
8550	0,529	0,1
8560	ND	0,0
8566	0,818	0,7
8577	0,532	0,3
8578	0,044	0,0
8582	0,233	0,1
9099	2,43	0,8
9113	1,95	0,2
9104	4,13	0,2
9123	1,68	0,3
0513	0,436	0,2
8568	2,82	0,3

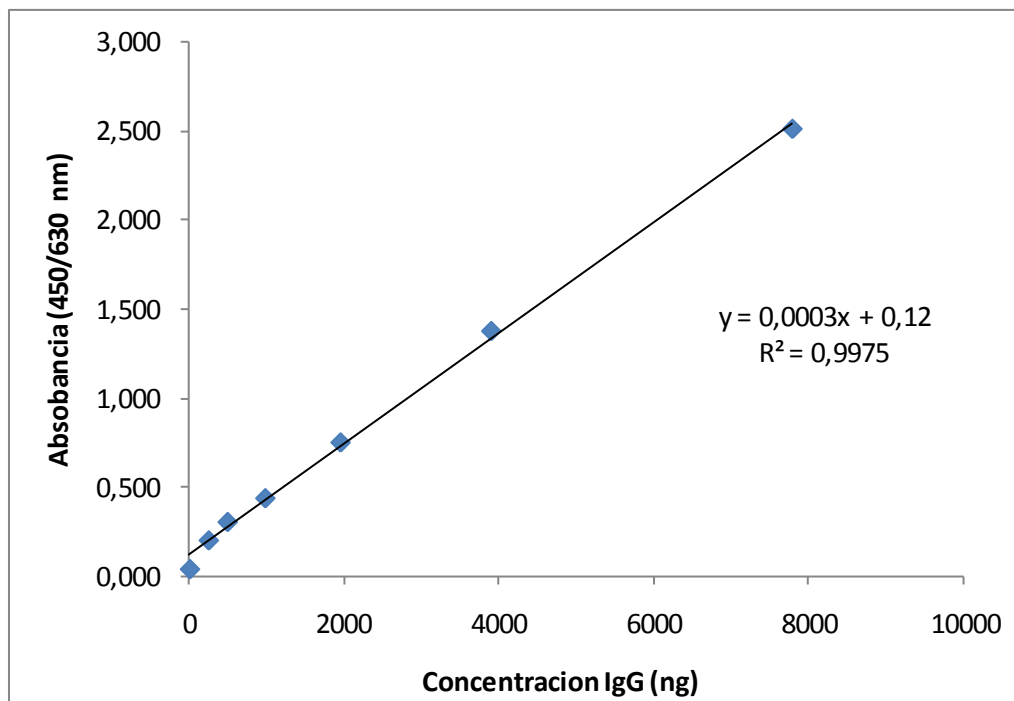
ND No detectable

Adriana Umaña Pérez
Química, MSc Dr.Sc.
Junio 1, 2009

ANEXO D. Curva de calibración para la estandarización de la IgG

Niveles de IgG

En la figura se observa la curva de calibración para el estándar de IgG.



Anexo E. Análisis de varianza para peso inicial y peso final

<i>RESUMEN</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
1	2	6520,8	3260,4	6738854,72
2	2	7941,4	3970,7	12155408,2
3	2	6874,8	3437,4	9440381,52
4	2	8048,2	4024,1	14235380,8
5	2	8755,6	4377,8	13941312,1
PESO INICIAL CAMADA	5	7288,8	1457,76	32303,588
PESO FINAL CAMADA	5	30852	6170,4	632354,8

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	1669735,656	4	417433,914	1,68848135	0,31213432	6,388232909
Columnas	55522439,42	1	55522439,42	224,583103	0,00011551	7,708647421
Error	988897,896	4	247224,474			
Total	58181072,98	9				