

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISION DE CIENCIA BIOLOGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION AGRICOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL

**DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES EN CALOSTRO DE OVINOS
EAST FRIESIAN MEDIANTE REFRACTOMETRÍA**

Presentador del servicio social: Dominique López Gutiérrez

Asesores:

Interno: Dr. Ismael Martínez Cortes Núm. Económico: 42582

Externo: Hortensia Hernández Ruiz Núm. Económico: 43948

Lugar de realización:

CEIPSA Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ubicado en Emiliano Zapata 177, San Miguel Topilejo, Tlalpan, 14500 San Miguel Topilejo, CDMX

Laboratorio de Farmacología y Toxicología edif. F 2º piso, Departamento de Producción agrícola y Animal.

Fecha de inicio y terminación:

19 de junio de 2023 a diciembre 2023

INDICE	Pag.
1. INTRODUCCIÓN	3
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
3. JUSTIFICACION	4
4. OBJETIVO GENERAL	4
5. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	4
6. MARCO TEORICO	4
6.1 Generalidades del Calostro.....	4
6.2 Composición de Calostro	5
6.3 Técnicas de conservación.....	6
6.4 Calidad del calostro y metodologías de medición	7,8
7. METODOLOGIA	
8. RESULTADOS Y CONCLUSION	9
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9,10,11

1. Introducción

El calostro en ovinos es la primera secreción láctica de la glándula mamaria después del parto y tiene grandes beneficios inmunológicos ya que brinda las inmunoglobulinas responsables de la transmisión de anticuerpos al cordero, debido a que estos dependen de las inmunoglobulinas maternas del calostro para su protección debido a que el tipo de placenta sindesmocorial impide la transferencia de inmunoglobulinas y otros factores inmunitarios desde la madre al feto, por lo tanto es importante que el calostro sea de alta calidad para asegurar el mejor comienzo de vida de las crías (Kessler *et al*; 2021 & Abecia *et al*;2020).

El calostro está compuesto por altas concentraciones de inmunoglobulinas y nutrientes esenciales ya que contiene grasa (7-13 %) proteína (7-10%) y lactosa (2-5%) minerales, hormonas, factores de crecimiento entre otros. Estos se pueden medir para comprender la calidad del calostro, siendo un calostro con excelente calidad cuando la concentración de inmunoglobulina G es igual o superior a 20 mg/ml en leche (Schogor *et al*; 2020 & Gual *et al*; 2022). La determinación de la concentración de inmunoglobulina G se realiza a través de pruebas de laboratorio, estas pruebas suelen ser de alto costo, sin embargo, se pueden utilizar pruebas como el refractómetro que permite estimar fácilmente la calidad del calostro a un bajo costo, es útil y fácil de usar ya que aplicando una sola gota de calostro ofrece una lectura en cuestión de segundos (Silvia, 2013; Kessler *et al*; 2021). Su uso permite y facilita la toma de decisiones acertadas en el manejo del calostro y al adecuado suministro de inmunoglobulinas en el cordero (Sandoval, 2020).

2. Planteamiento del problema

El uso métodos para determinar la concentración de IgG en calostro como la inmunodifusión radial (RID), ELISA entre otros, son técnicas que consumen tiempo y son costosas por lo que no son las técnicas más adecuadas para su uso en granjas, por lo que el método de reflectometría permite una estimación rápida, de bajo costo.

3. Justificación

La estimación de la calidad de calostro es crucial para los pequeños rumiantes. Se ha demostrado que el uso de nuevos métodos como la refractometría puede ser una herramienta rápida, confiable, y eficaz para medir la calidad de calostro, sin embargo, solo ha sido ampliamente utilizado y validado para ganado lechero, por lo tanto, la evaluación de la calidad del calostro mediante este método podría ayudar a obtener más información y ser útil para sistemas de producción ovina (Torres-Rovira *et al*;2017).

4. Objetivo General

- Determinar las proteínas totales en calostro de ovinos mediante refractometría

5. Objetivos Específicos

- Evaluar la calidad del calostro conforme a sus características físicas.
- Determinar la cantidad de proteínas totales en calostro de ovinos mediante refractometría
- Seleccionar las muestras con una concentración de IgG ≥ 20 mg/mL para la implementación de un banco de muestras.

6. Marco Teórico

Generalidades del Calostro

El calostro es la primera fuente de energía para los rumiantes recién nacidos, estimula la eliminación del meconio y, lo más importante, participa activamente en la transferencia de inmunidad pasiva de la madre, protegiéndolo debido a que es rico en inmunoglobulina o anticuerpos (Rabaza;2012). El calostro es la primera secreción de la glándula mamaria que difiere de la leche en su densidad, color, composición y es ligeramente más ácido con un pH de 6.4, véase tabla 1. (Picazo, 2019).

Tabla 1. Principales componentes del calostro y su función.

Componente	Función
Proteínas	Es la principal fuente de inmunidad a través de las inmunoglobulinas y apoya el crecimiento de masa muscular.
Grasas	Son una fuente energética, contribuye a la termorregulación en las primeras 24 horas de vida.
Lactoferrina	Es una glicoproteína regula la unión de hierro intestinal teniendo poder antimicrobiano.
Lisozimas y Lactoperoxidasa	Son enzimas antimicrobianas capaces de destruir la pared celular de bacterias.
Factor de crecimiento tipo insulina IGF	Hormona que contribuye a la proliferación y migración del epitelio celular del tracto gastrointestinal.
Inhibidor de tripsina	Genera resistencia a la digestión de las inmunoglobulinas por las enzimas intestinales.

Picazo, S. L. T. (2019).

Composición del calostro

El calostro contiene 19 aminoácidos exógenos (valina, leucina, prolina, lisina, cistina, cisteína, etc. y una mezcla compleja de diversos componentes, tales como grasa (10-13%), lactosa (2-3%), vitaminas (A, D y E) y minerales necesarios para el crecimiento y desarrollo del cordero, además de su función nutricional, el calostro también contiene proteínas (10%) además de ser rico en inmunoglobulinas, véase tabla 2 (Garrido & Abecia 2019). De acuerdo con la tabla 3 (Pérez y Medina 2021), muestra que las inmunoglobulinas más importantes presentes en el calostro son IgG, IgM e IgA, siendo la primera la más abundante, ya que comprende más del 85% a 90 % de la inmunoglobulina total del calostro.

Tabla 2. Composición del calostro de ovinos.

Grasa	7-13%
Proteína	7-10%
lactosa	2-5%
Sólidos totales	23.9%
Sólidos no grasos	16.7%
Calcio	0.26%
Magnesio	1.04%
Inmunoglobulinas	6%
Sodio	0.14%
Potasio	0.14%

Garrido & Abecia 2019.

Tabla 3. Concentración de las Inmunoglobulinas más importantes presentes en el calostro

IgG	90%,	Es la encargada de proteger al organismo contra enfermedades infecciosas
IgM	7%	Protege las membranas que recubren los órganos
IgA	5%	Destruye microorganismos nocivos principalmente a nivel de sangre

Pérez Parada, P. A., & Medina Abello, J. C. (2021).

Técnicas de conservación

El calostro destinado a la conservación debe provenir de ovejas sanas, teniendo que ser recolectado cercano al momento del parto debido a que la concentración de inmunoglobulinas desciende en aproximadamente 3.3 mg/ml por hora, disminuyendo a cero a las 23 horas posparto (Yilmaz, & Kaşıkçı; 2013). Tras la

recolección, el calostro no se deberá mantener nunca a temperatura ambiente, ya que la carga bacteriana aumenta rápidamente en un corto periodo de tiempo en estas condiciones (Patema *et al*; 2013).

El calostro puede ser conservado mediante refrigeración a 4°C teniendo un tiempo de conservación de cuatro días, mientras que en congelación a -20°C pudiéndose almacenar durante seis meses y en ambos métodos idealmente se debe almacenar en pequeñas cantidades de aproximadamente 400ml a 500ml debidamente rotuladas con la fecha de extracción, de esta manera se facilita su manejo y descongelación (Yilmaz, & Kaşıkçı; 2013). Estudios realizados con calostro han demostrado que el método de descongelación del calostro a temperaturas bajas mediante baño maría a 60 °C, evita la desnaturalización de las inmunoglobulinas, previamente descongelado no se recomienda volver a congelar (Patema *et al*; 2013).

Calidad del calostro y metodologías de medición

Las concentraciones de inmunoglobulinas que contiene un calostro son utilizadas para clasificar y determinar su calidad. La calidad del calostro se ha definido como una concentración de IgG que sea ≥ 20 mg/mL en ovejas ya que es un componente importante del calostro, y la cantidad y disponibilidad pueden afectar el grado de inmunidad que adquiere el recién nacido (Gual *et al*;2022).

Para determinar la concentración de inmunoglobulinas del calostro se han desarrollado técnicas de laboratorio directos e indirectos. Dentro de los directos se encuentran el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), ensayo de inmunodifusión radial (RID) mientras que en los indirectos suelen utilizarse el calostrómetro, y refractómetro grados Brix (Bonaudi y Caffera 2021).

El calostrómetro es un instrumento hidrométrico que relaciona la densidad específica del calostro y la concentración de inmunoglobulinas a través de la flotabilidad del instrumento en el calostro. Mientras mayor concentración de IgG contenga el calostro, más denso va a ser, lo cual mostrará una mayor gravedad específica (Casas y Canto 2015).

El refractómetro es un instrumento portátil que funciona midiendo la cantidad de luz que se refracta al traspasar una muestra de líquido midiendo el índice refractivo de la muestra en % Brix, mientras mayor sea la concentración de IgG en el calostro, mayor va a ser la refracción de la trayectoria de la luz (Agenbag *et al*; 2023). El refractómetro con escala de Brix mide porcentaje de sacarosa presente en una solución, pero cuando se utiliza en una solución que no contiene sacarosa estima la cantidad de sólidos totales (Heinrichs y Jones, 2011; Quigley *et al*; 2013). La sensibilidad y especificidad del instrumento es de un 80-92,5% (Ph *et al*; 2020)

La reflectometría que utiliza el refractómetro brix ha sido utilizada como un medio para estimar la concentración de inmunoglobulinas IgG en el calostro de ovejas, caballos, y ganado lechero, debido a que, en el calostro materno, la proteína está representada mayoritariamente por IgG, por lo tanto, la medición de sólidos totales presentes puede brindar un valor que está altamente correlacionado con la concentración de IgG (Doussoulin, 2014).

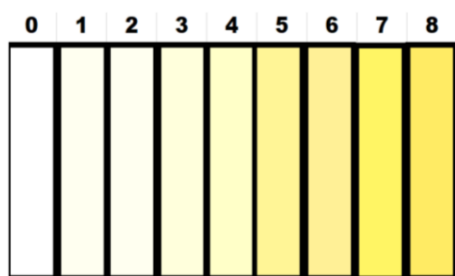
Por otro lado, refractómetro posee ventajas sobre otros métodos ya que este es económico, ágil, requiere de mínima experiencia del personal, es rápido, presenta menor sensibilidad a la temperatura del calostro al momento del análisis y también se considera instrumento mucho menos frágil y práctico para el uso agrícola mientras como desventajas se observa que el alto contenido de grasa puede afectar la lectura del refractómetro ((Torres-Rovira *et al*;2017).

Los refractómetros digitales y ópticos han sido probados como herramientas prácticas de gestión, permitiendo diferenciar entre un calostro de buena y pobre calidad, proporcionando una herramienta para que los productores puedan estimar rápidamente y con precisión la concentración de IgG en el calostro, mejorando así la salud de los terneros y con esto la rentabilidad de los productores (Agenbag *et al*; 2023)

7. Metodología

El presente proyecto se llevó a cabo durante los meses de junio a diciembre de 2023, en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal, CEPIPSA ubicado en Emiliano Zapata 177, San Miguel Topilejo, Tlalpan, 14500, CDMX y en Laboratorio de Farmacología y Toxicología edif. F 2º piso, Departamento de Producción agrícola y Animal ubicado en Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México, CDMX.

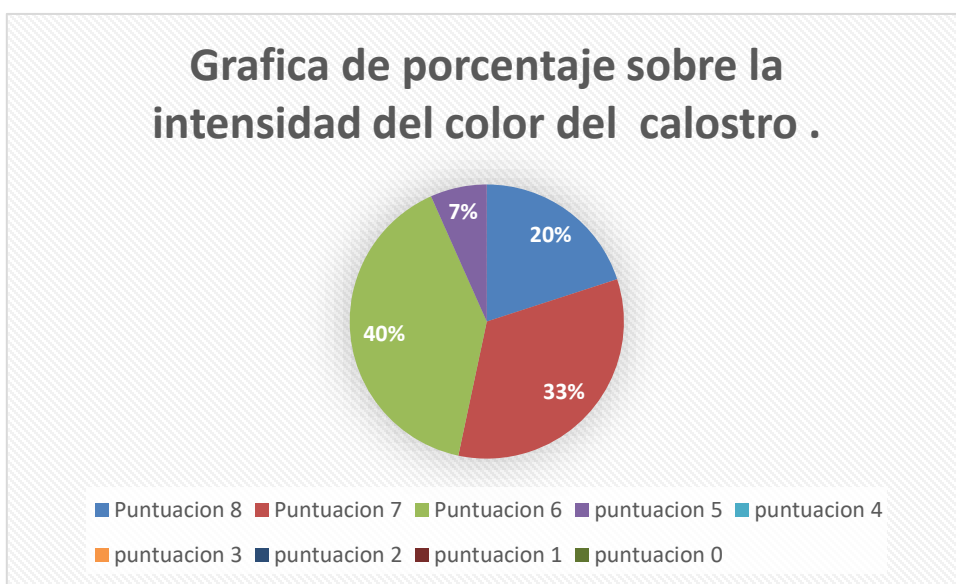
Se realizó el muestreo de calostro de 15 borregas lecheras de raza East Friesian a las cuales se asistió durante el parto, una vez finalizado, inmediatamente se realizó la limpieza de la ubre junto con el despunte, técnica que consiste en retirar el tapón de queratina que recubre el pezón, con el fin de facilitar el amamantamiento de los corderos, y se tomó 2 muestras de calostro de aproximadamente 1 ml de cada una, vertiéndolos en tubos eppendorf de 2 ml que fueron previamente etiquetados con el número de borrega. Una vez obtenidas las muestras fueron evaluadas por medio de inspección visual utilizando una escala de colores creada por el Servicio Clínico de Rumiantes con el objetivo de buscar la posible asociación entre el color y la calidad del calostro. Posteriormente las muestras fueron cubiertas con una bolsa de plástico y fueron selladas con Diurex transparente para conservación en el termo de nitrógeno, para luego ser analizados en el laboratorio de farmacología y toxicología mediante el uso de un refractómetro.



Escala colorimétrica diseñada para la evaluación visual del calostro.

8. Resultados y conclusión

De acuerdo con la gráfica 1 se muestra que un 40% de las muestras tuvieron una puntuación de 6, un 33 % con una puntuación de 7, el 20% una puntuación de 8 y el 7% una puntuación de 5. En un estudio realizado por Picasso 2019 menciona que se observó que la correlación entre la calidad del calostro medida en grados brix y la intensidad del color es altamente significativa ya que afirma que los calostros en donde la inspección visual obtienen una puntuación de color más alta (tonalidades amarillentas más intensas), obtendrían también una puntuación alta en la medición con el refractómetro de grados brix, y por consiguiente su contenido en IgG también sería mayor. Sin embargo, en este estudio se no se pudo llegar a un resultado concreto de la calidad del calostro por medio de reflectometría debido a malas prácticas de conservación de las muestras.



Grafica 1.

Como conclusión es de total importancia contar con herramientas que sean de mayor precisión en granja, que ayuden a los productores a evaluar la calidad del calostro, ya que el guiarnos solo con la inspección visual no nos permite conocer la concentración de inmunoglobulinas por lo que son factores que considerar en la elección de un método adecuado para estimar la calidad del calostro y así estar seguros de tener una transferencia exitosa de la inmunidad pasiva.

9. Bibliografía

Abecia, J., Garrido, C., Gave, M., García, A., López, D., Luis, S., Valares, J., & Mata, L. 2020. Exogenous melatonin and male foetuses improve the quality of sheep colostrum. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(5), 1305–1309

Agenbag, B., Swinbourne, A. M., Petrovski, K., & van Wettere, W. H. (2023). Validation of a handheld refractometer to assess Merino ewe colostrum and transition milk quality. *Journal of Dairy Science*, 106(2), 1394-1402.

Agenbag, B., Swinbourne, A. M., Petrovski, K., & van Wettere, W. H. (2023). Validation of a handheld refractometer to assess Merino ewe colostrum and transition milk quality. *Journal of Dairy Science*, 106(2), 1394-1402.

Bonaudi Gómez, C., & Caffera Larriera, M. C. (2021). Evaluación de la calidad del calostro producido por vacas lecheras con bajos y altos recuentos de células somáticas al momento del secado.

Casas, M., & Canto, F. (2015). Cómo evaluar la calidad del calostro y la inmunidad de las terneras. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Remehue, Chile. Publicado en Sitio Argentino de Producción Animal. (1), 1-3.*

Doussoulín, J. (2014). *Determinación de la calidad de calostro mediante la calibración de un refractómetro Brix en vacas Holstein a pastoreo* (Doctoral dissertation, Thesis. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile).

Garrido Martínez, C., & Abecia Martínez, (2019) A. Calidad del calostro en la especie ovina: efecto de la melatonina exógena.

Gual, I., Alvarado, P., & Cesa, A. (2022). *Manejo de los ovinos durante la gestación*. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA.

Heinrichs, J.; Jones, C. 2011. Colostrum Management Tools: Hydrometers and Refractometers. Dairy & Animal Science. The Pennsylvania State University. 5p

J. Dairy Res., 84 (2017), pp. 440-443

Kessler, EC, Bruckmaier, RM y Gross, JJ (2021). Estimación comparativa de la calidad del calostro por refractometría Brix en calostro bovino, caprino y ovino. *Revista de ciencia láctea* , 104 (2), 2438-2444.

L. Torres-Rovira, J.-L. Pesantez-Pacheco, F. Hernandez, L. Elvira-Partida, M.L. Perez-Solana, J.V. Gonzalez-Martin, A. Gonzalez-Bulnes, S. Astiz
Identification of factors affecting colostrum quality of dairy lacaune ewes assessed with the brix refractometer

Paterna, A., Gómez-Martín, A., Amores, J., Prats-van der Ham, M., Tatay-Dualde, J., Corrales, J. C., ... & Sánchez, A. (2013). Implicaciones sanitarias del manejo del calostro en el ganado caprino. In *Anales de Veterinaria de Murcia* (Vol. 29, pp. 23-37).

Pérez Parada, P. A., & Medina Abello, J. C. (2021). Relación de la calidad del calostro y parámetros productivos en un rebaño Hampshire en la sabana de Bogotá.

Ph, S., Luiza, A., João, H., Da Silva Ph, D., & Aleksandro, S. (2020). Calidad del calostro bovino y su relación con la genética, el manejo, la fisiología y su congelación. *Revista MVZ Córdoba*, 25(1), 76-83.

Picazo, S. L. T. (2019). Estado de la ubre en ovejas y su relación con la calidad del calostro, la supervivencia y el crecimiento de los corderos.

Quigley, JD, Lago, A., Chapman, C., Erickson, P. y Polo, J. (2013). Evaluación del refractómetro Brix para estimar la concentración de inmunoglobulina G en calostro bovino. *Revista de ciencia láctea*, 96 (2), 1148-1155.

Rabaza Martínez, A. V. (2012). Efecto de la suplementación preparto en ovejas ideal Melliceras sobre la producción y calidad del Calostro y la supervivencia de corderos.

Sandoval Palacios, S. K. (2020). *Evaluación de inmunoglobulinas g pre y post parto, en corderos (4m) en el núcleo genético yanahurco del cantón Saquisilí provincia de Cotopaxi* (Bachelor's thesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC).).

Santiago, M. R., Fagundes, G. B., do Nascimento, D. M., Faustino, L. R., da Silva, C. M. G., Dias, F. E. F., ... & Cavalcante, T. V. (2020). Use of digital Brix refractometer to estimate total protein levels in Santa Inês ewes' colostrum and lambs' blood serum. *Small Ruminant Research*, 182, 78-80.

Schogor, ALB, Glombowsky, P., Both, F., Danieli, B., Rigon, F., Reis, JH y Da Silva, AS (2020). Calidad del calostro bovino y su relación con la genética, manejo, fisiología y su congelación. *Revista MVZ Córdoba*, 25 (1), 1465.

Silva, S. (2013). *Calibración de refractómetro Brix para la determinación del contenido de Inmunoglobulina G en calostro bovino* (Doctoral dissertation, Thesis. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile).

Yilmaz, Ö., & Kaşıkçı, G. (2013). Factors affecting colostrum quality of ewes and immunostimulation. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37(4), 390–394.

ANEXO

Actividades realizadas

- Se ayudo a la asistencia de partos de más de 40 bovinos durante el día y la noche.
- Se realizaron muestreos de sangre.
- Se ayudo a alimentar y vitaminar a las borregas.
- Se asistió en necropsias,
- Se ayudo a la clasificación de las muestras de leche para la formación de un banco en el laboratorio de farmacología de la UAM- Xochimilco.
- Se apoyo a los doctores del laboratorio de la UAM-Xochimilco.

