

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LEUCOCITOS EN CALOSTRO BOVINO Y SU  
RELACIÓN CON LA SOBREVIDA DE LOS TERNEROS**

**por**

**María Valeria CHÁVEZ VÉLEZ**

TESIS DE GRADO  
presentada como uno de los  
requisitos para obtener el  
título de Doctor en Ciencias  
Veterinarias  
Orientación: Producción  
Animal

MODALIDAD: Ensayo  
experimental



FV-33123

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2017**



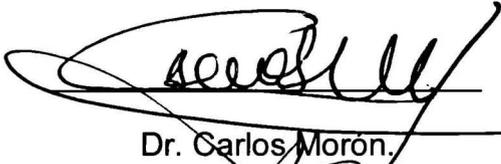
**PÁGINA DE APROBACIÓN**

**Tesis de grado aprobada por:**

**Presidente de mesa:**

  
Dr. Germán Antúnez.

**Segundo miembro (Tutor):**

  
Dr. Carlos Morón.

**Tercer miembro:**

  
Dra. Elena DeTorres.

**Cuarto miembro:**

  
Dr. Fernando Vila.

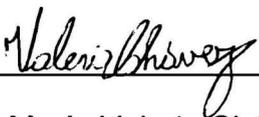
**Quinto miembro:**

  
Dr. Pedro Martino.

**Fecha:**

15 de Diciembre del 2017

**Autor:**

  
María Valeria Chávez Vélez.

# Agradecimientos

A mi familia, que me acompañó y apoyó incondicionalmente durante todos estos años de esfuerzo.

A Santiago, por ser mi mejor amigo y siempre impulsarme a seguir.

A Jimena, mi traductora personal.

A mi tutor, Dr. Carlos Morón, y a mis co-tutores, Dr. Pedro Martino y Dr. Fernando Vila, por apoyarme en este trabajo y por dedicarme su tiempo, sus conocimientos y su trabajo.

A los propietarios y al personal de los establecimientos, por su disponibilidad, amabilidad y ayuda durante la realización de este trabajo.

Al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria, por la infraestructura y los materiales proporcionados.

Al personal de la Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, por su dedicación en la búsqueda de materiales.

Al personal de Comisión de Tesis de grado, por su buena disposición y amabilidad.

# Tabla de contenido

	Página
1. PAGINA DE APROBACION.....	2
2. AGRADECIMIENTOS.....	3
3. LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
1. RESUMEN .....	7
2. SUMMARY .....	8
3. INTRODUCCIÓN .....	9
3.1. Composición del calostro .....	9
3.1.1. Inmunoglobulinas .....	9
3.1.2. Factores de crecimiento .....	10
3.1.3. Lactoferrina .....	10
3.1.4. Lisozima .....	10
3.1.5. Lactoperoxidasa .....	10
3.1.6. Inhibidores de tripsina .....	11
3.1.7. Leucocitos .....	11
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	12
4.1. El sistema inmune .....	12
4.2. Inmunidad innata e inmunidad adaptativa .....	12
4.3. Células del sistema inmune .....	13
4.3.1. Fagocitos .....	13
4.3.1.1. <i>Neutrófilos</i> .....	13
4.3.1.2. <i>Fagocitos mononucleares</i> .....	14
4.3.2. Mastocitos, basófilos y eosinófilos .....	14
4.3.2.1. <i>Mastocitos</i> .....	14
4.3.2.2. <i>Basófilos</i> .....	14
4.3.2.3. <i>Eosinófilos</i> .....	14
4.3.3. Células presentadoras de antígenos .....	14
4.3.3.1. <i>Células dendríticas</i> .....	14
4.3.4. Linfocitos .....	15
4.4. Órganos del sistema inmune .....	15

4.4.1. Órganos linfoides primarios .....	15
4.4.1.1. Timo .....	15
4.4.1.2. Placas de Peyer .....	15
4.4.1.3. Médula ósea .....	15
4.4.2. Órganos linfoides secundarios .....	16
4.4.2.1. Ganglios linfáticos .....	16
4.4.2.2. Bazo .....	16
4.5. Desarrollo del sistema inmune .....	16
4.5.1. El sistema inmune de los terneros .....	16
4.6. Transferencia de inmunidad de la madre a la descendencia .....	17
4.6.1. Secreción y composición del calostro .....	18
4.6.2. Absorción del calostro .....	19
4.7. Inmunidad mediada por células .....	19
5. HIPÓTESIS .....	20
6. OBJETIVOS.....	21
6.1. Objetivo general.....	21
6.2. Objetivos específicos.....	21
7. MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
7.1. Obtención de muestras .....	23
7.2. Procesamiento de muestras .....	23
7.3. Elaboración de registros .....	23
7.4. Análisis estadístico .....	24
8. RESULTADOS .....	25
8.1. Número de partos .....	29
8.2. Tipo de parto .....	30
8.3. Sexo del ternero .....	31
8.4. Sobrevida del ternero .....	32
8.5. Período seco .....	33
9. DISCUSIÓN .....	34
10. CONCLUSIONES .....	35
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	36
ANEXOS .....	38

# Lista de figuras y tablas

<i>Figuras</i>	<i>Página</i>
<b>Figura 1.</b> Frotis de calostro.....	25
<b>Figura 2.</b> Frotis de sangre .....	26
<b>Figura 3.</b> Media de concentración de leucocitos por establecimiento .....	28
<b>Figura 4.</b> Media de densidad por establecimiento.....	28
<b>Figura 5.</b> Media de concentración de leucocitos según número de partos .....	29
<b>Figura 6.</b> Media de densidad según número de partos .....	29
<b>Figura 7.</b> Media de leucocitos según tipo de parto.....	30
<b>Figura 8.</b> Media de densidad según tipo de parto .....	30
<b>Figura 9.</b> Media de leucocitos según sexo del ternero .....	31
<b>Figura 10.</b> Media de densidad según sexo del ternero .....	31
<b>Figura 11.</b> Promedio de leucocitos según sobrevida del ternero.....	32
<b>Figura 12.</b> Promedio de densidad según sobrevida del ternero.....	32

## *Tablas*

<b>Tabla 1.</b> Concentración relativa y actividad de las principales inmunoglobulinas presentes en el calostro bovino .....	10
<b>Tabla 2.</b> Composición de calostro, leche de transición y leche entera .....	18
<b>Tabla 3.</b> Descripción de los establecimientos.....	22
<b>Tabla 4.</b> Resultados por establecimiento.....	27

# 1. Resumen

El calostro es la secreción de la glándula mamaria durante las primeras 24 horas después del parto, y es, además, fuente de factores nutricionales, de crecimiento y de componentes inmunológicos para el ternero recién nacido. La ingesta de calostro por parte del ternero condiciona su estado de salud y de supervivencia en sus primeros días de vida. A su vez, el calostro está compuesto por diferentes células, como linfocitos, macrófagos, neutrófilos y células epiteliales, cuyos componentes inmunológicos incluyen inmunoglobulinas y citoquinas y un gran número de leucocitos. El rol que cumplen las inmunoglobulinas del calostro en el neonato ha sido extensamente estudiado, aunque poco se sabe de la importancia de los leucocitos calostrales así como la función biológica de estas células en el neonato. El principal objetivo de este estudio fue determinar la concentración de leucocitos en el calostro de hembras bovinas de raza Holando, primíparas y multíparas. También se correlacionó la concentración de leucocitos con la sobrevida de los terneros a los 30 días de edad, además del tipo de parto, del número de partos de la vaca, de los días de secado y del sexo del ternero. Para esto se utilizaron un total de 120 animales, 20 en cada uno de los 6 establecimientos muestreados: se muestreó el calostro de cada vaca, y se determinó la concentración de leucocitos y su densidad. En esta línea, la concentración de leucocitos se determinó utilizando el aparato *Huma Count*, mientras que la densidad lo fue por medio de un densímetro, lo que dio como resultado que el promedio de la concentración de leucocitos y la densidad en el calostro de los animales muestreados fue de 263408.33 células/microlitro y de 1.071 g/cm<sup>3</sup>, respectivamente. Se encontraron diferencias significativas en la concentración de leucocitos ( $p < 0.006$ ) y en la densidad del calostro ( $p < 0.004$ ) entre los establecimientos: así, el tambo número 4 fue el que presentó una mayor concentración de leucocitos y una mayor densidad promedio. Análogamente, se encontró correlación entre las medias de densidad y el número de partos ( $p < 0.00086$ ): las vacas de tres partos fueron las que tuvieron una mayor densidad de calostro. De todas maneras, no se observó correlación entre la concentración de leucocitos y la sobrevida del ternero, ni entre el número de partos y el tipo de parto o el sexo del ternero. Tampoco hubo asociación entre la densidad del calostro y la sobrevida del ternero, ni entre su sexo y el tipo de parto, así como tampoco la hubo entre la concentración de leucocitos y la densidad, ni entre la concentración de leucocitos y los días de secado, o entre la densidad y los días de secado.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que: es posible determinar la concentración de leucocitos en el calostro de primer ordeño a través del equipo *Huma Count*, Human GmbH, Wiesbaden, Germany. Existe una gran variabilidad en la concentración media de leucocitos y en la densidad media de calostro entre tambos. No fue posible establecer asociación entre la concentración de leucocitos y la sobrevida de los terneros.

## 2. Summary

Colostrum is the secretion from the mammary glands during the first 24 hours after calving and is an important source of nutritional, growth, and antimicrobial factors for the calf. It influences the health and the survival rate of calves in the first days of life. The colostrum consists of different cells such as lymphocytes, macrophages, neutrophils and epithelial cells whose immunological components include immunoglobulins, cytokines and a great number of leukocytes. Although several studies have investigated immunoglobulins function in the calf, more information is required to investigate function of colostrum leukocytes and the biological role of those cells in calves. Therefore, the main objective of this experiment was to quantify the concentration of leukocytes in colostrum harvested from primiparous and multiparous Holando cows. Another objective was to identify any relation between concentration of leukocytes, survival rate of 30 days calves, type of calving, number of calving dry days of cows and calf sex. Colostrum samples were collected from 120 (primiparous and multiparous) Holando cows at 6 different dairy farms, 20 cows per farm. Both concentration and density of leukocytes were determined in colostrum samples using the *Huma Count* machine and densimeter, respectively. Average leukocyte concentration and density in colostrum were 263408.33 cells/microlitre and 1.071 g/cm<sup>3</sup>, respectively. Significant differences were found in both leukocyte concentration ( $p < 0.006$ ) and density ( $p < 0.004$ ) in colostrum samples. Moreover, dairy farm number 4 showed the highest leukocyte concentration and density in colostrum samples. There was a correlation between density and number of calvings ( $p < 0.00086$ ). Cows with three calvings showed the highest colostrum density. However, no interaction correlation was determined between leukocyte concentration, survival rate of calves, number and type of calving, and calf sex. Similarly, no effects of colostrum density on survival rate of calves, sex and type of calving were found in the study. There was not a significant correlation between leukocyte concentration and density, between dry days of cows and leukocytes and density vs dry days.

Based on the results obtained in this work it is concluded that it is possible to quantify the concentration of leukocytes in first milking colostrum using the *Huma Count*, Human GmbH, Wiesbaden, Germany. There is a great variability in the concentration of leukocytes and colostrum density between dairy farms. It was not possible establish correlation between leukocyte concentration and survival rate of calves.

### 3. Introducción

El calostro es la acumulación de secreciones lácteas y constituyentes del suero sanguíneo en la que predominan inmunoglobulinas y otras proteínas; a su vez, se produce en la glándula mamaria durante las últimas semanas de la gestación bajo la influencia de los estrógenos y de la progesterona (Abul y col., 1996). A estas secreciones se las conoce como *leche de transición* hasta que se tornan completamente en leche normal (es decir, entera); para los neonatos el gran valor del calostro radica en el potencial de nutrición, de protección y de hidratación que brinda al recién nacido (Campos y col., 2007).

En este sentido, el calostro proporciona al animal recién nacido una fuente importante de energía, de grasa, de vitaminas liposolubles y de minerales con altos contenidos de calcio, de magnesio y de fósforo, al tiempo que también tiene un efecto laxante que ayuda a la eliminación del meconio y al establecimiento de los movimientos intestinales (Campos y col., 2007). Cuenta, además, con altos niveles de inmunoglobulinas que proveen al ternero una protección inmunológica humoral durante las primeras semanas de vida mientras se desarrolla su propio sistema inmune (Elizondo, 2007). El calostro contiene un gran número de linfocitos, neutrófilos, macrófagos, factores de crecimiento y hormonas, como la insulina y el cortisol. Todos ellos juegan un rol importante en la estimulación del desarrollo del tracto gastrointestinal y de otros sistemas del recién nacido (Le Jan, 1996).

La placentación de los rumiantes es sindesmocorial, es decir, el epitelio coriónico está en contacto directo con el endometrio, sin llegar a tocar los vasos sanguíneos de la madre: por lo tanto, no hay paso transplacentario de macromoléculas de la madre al feto (Tizard, 2009). Es precisamente por ello que los neonatos requieren de transferencia de inmunidad pasiva (anticuerpos y linfocitos específicamente sensibilizados contra la mayoría de los microorganismos de su entorno), que es transferida por la madre a través del calostro hasta que el ternero desarrolla su propia inmunidad activa (Tizard, 2009).

#### 3.1. Composición del calostro

El calostro posee un alto porcentaje de agua, de energía, de proteínas, de vitaminas, de minerales, de factores de crecimiento, de elementos protectores de la mucosa del intestino (aglutininas, interferón, interleucinas) y de inmunoglobulinas que aseguran el desarrollo del sistema inmune, además de ser una protección contra bacterias entéricas y de permitir un adecuado crecimiento del ternero (Campos y col., 2007). Por su parte, las sustancias bioactivas presentes en el calostro tienen efectos beneficiosos en la salud de los terneros, en el crecimiento morfológico y la maduración funcional del tracto gastrointestinal, así como en el estatus endócrino y metabólico (Ontsouka y col., 2016).

##### 3.1.1. Inmunoglobulinas

El calostro contiene una gran cantidad de inmunoglobulinas; las de mayor importancia son las de tipo G, M y A. Las de tipo G identifican y ayudan a

destruir invasores: puesto que son las de menor tamaño, se pueden desplazar más fácilmente por el torrente sanguíneo; las de tipo M son la primera línea de defensa del organismo en caso de septicemia, por lo que se trata de moléculas grandes que se ubican en la sangre y que protegen al ternero de las bacterias; finalmente, las de tipo A protegen las superficies mucosas del intestino para que no se adhieran patógenos y causen enfermedades (Campos y col., 2007).

**Tabla 1.** Concentración relativa y actividad de las principales inmunoglobulinas presentes en el calostro bovino

<u>Tipo</u>	<u>% total</u>	<u>Función</u>
IgG	80-85	Destruye microorganismos nocivos, principalmente a nivel de tejidos.
IgA	8-10	Protege las membranas que recubren los órganos (intestino) y previene que antígenos ingresen a la sangre.
IgM	5-12	Destruye microorganismos nocivos, principalmente a nivel de la sangre.

**Fuente: Basurto (2010)**

### 3.1.2. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento presentes en el calostro aumentan la mitosis de las células y el crecimiento de los tejidos al estimular la síntesis de ADN y ARN; asimismo, aceleran el proceso de cicatrización de heridas, al tiempo que estabilizan los niveles de glucosa, disminuyen la necesidad de insulina, y aumentan el crecimiento óseo y muscular, además de estimular la oxidación de las grasas (Campos y col., 2007).

### 3.1.3. Lactoferrina

A pesar de su baja concentración, proporciona propiedades bacteriostáticas y bactericidas al unirse al hierro (Galías y Harguindeguy, 2004).

### 3.1.4. Lisozima

Puede interactuar con la IgA, con la lactoperoxidasa y con el ácido ascórbico para lisar bacterias; su concentración es baja (Galías y Harguindeguy, 2004).

### 3.1.5. Lactoperoxidasa

Provoca la inactivación de proteínas por medio de su halogenación (Galías y Harguindeguy, 2004).

### 3.1.6. Inhibidores de tripsina

Impiden la digestión de proteínas en el intestino. En el neonato, esto es beneficioso porque evita la degradación de proteínas importantes, como las inmunoglobulinas, la lactoferrina y otras proteínas relacionadas a la inmunidad (Galias y Harguindeguy, 2004).

### 3.1.7. Leucocitos

Están presentes en las secreciones de la ubre, incluyendo el calostro. Su cantidad varía de acuerdo a la salud de la ubre, pudiendo exceder fácilmente el 1.000.000 de células/ml. Los leucocitos del calostro están compuestos en forma primaria por linfocitos (>23 %), neutrófilos (>38 %) y macrófagos (>40 %) (Quigley, 1999).

Debido a la falta de proteasas en el tracto intestinal del ternero durante las primeras 24 horas después de nacer y a la presencia de inhibidores de proteasas como la tripsina, los leucocitos del calostro pueden sobrevivir (Quigley, 1999). La principal ruta de absorción de los leucocitos del calostro a través de la barrera intestinal son los folículos asociados a las Placas de Peyer, en yeyuno e íleon (Riedel-Caspari y col., 2002), mientras que una porción de los leucocitos del calostro es absorbida intacta a través de la barrera intestinal (Schnorr y col., 1984). Antes de entrar en circulación sanguínea, los leucocitos maternos transitan entre los tejidos no linfáticos y los tejidos linfáticos secundarios, desapareciendo de la circulación neonatal entre las 24 y las 36 horas posteriores a su ingesta (Reber y col., 2006).

La importancia funcional de los leucocitos del calostro para los terneros no está totalmente esclarecida, pero existe evidencia que sugiere que mejoran la respuesta a mitógenos no específicos y que aumentan la fagocitosis y la habilidad para matar bacterias, además de estimular la respuesta inmune humoral (Le Jan, 1996).

Los efectos inmunológicos de los leucocitos del calostro han sido evaluados en varios estudios. Así, Riedel-Caspari (1993) inoculó terneros con *E. coli* y los alimentó con calostro con y sin leucocitos viables (los leucocitos fueron removidos del calostro por centrifugación): los terneros alimentados con calostro sin leucocitos excretaron más bacterias que los alimentados con calostro con leucocitos. Duhamel (1986), por su parte, obtuvo leucocitos de vaquillonas inmunizadas con y sin *Mycobacterium bovis* muertas, y agregó estas células a calostro libre de células provenientes de vacas tuberculinas negativas; el calostro se suministró a los terneros de estas vaquillonas. Los leucocitos obtenidos de la sangre de los terneros fueron analizados para ver su habilidad de respuesta a *Mycobacterium bovis*: los terneros alimentados con calostro con linfocitos de vaquillonas inmunizadas desarrollaron una respuesta a *M. bovis* entre los 3 y 21 días, mientras que los terneros alimentados con calostro proveniente de vaquillonas control no desarrollaron dicha respuesta. Estas investigaciones indicaron que los linfocitos provenientes del calostro juegan un importante papel en la inmunidad celular de los terneros durante su primer mes de vida (Quigley, 1999).

## 4. Revisión bibliográfica

### 4.1. El sistema inmune

El sistema inmune es esencial para la vida, ya que protege al animal de las infecciones (Tizard, 2009). Asimismo, su función fisiológica es la defensa contra los microbios infecciosos, aunque sustancias extrañas no infecciosas pueden también desencadenar respuestas inmunitarias (Abbas, 2012).

Existen múltiples mecanismos que aseguran la ausencia de enfermedad; entre ellos se hallan las barreras físicas, que excluyen a los patógenos, la inmunidad innata, que proporciona una protección inicial rápida, y la inmunidad adquirida, que otorga una protección prolongada efectiva (Tizard, 2009).

### 4.2. Inmunidad innata e inmunidad adaptativa

La primera línea de defensa del organismo es la *inmunidad innata* (natural o nativa), que cuenta con mecanismos de defensa celulares y bioquímicos que existen antes incluso de la infección y que pueden responder con rapidez a ella. Dichos mecanismos reaccionan con los microbios y con los productos de las células dañadas, y responden de una forma prácticamente idéntica a infecciones repetidas (Abbas, 2012).

En la inflamación, el organismo animal concentra sus mecanismos innatos de defensa en los lugares de invasión microbiana, en los cambios o en daños de los tejidos producidos por esa invasión, que al mismo tiempo ocasiona un incremento del flujo sanguíneo y la consecuente acumulación de células, que pueden atacar y destruir al patógeno. Estas células, junto a las enzimas, que son activadas por la presencia de patógenos, pueden destruir la mayoría de los organismos invasores y así evitar su diseminación a lugares no infectados del organismo (Tizard, 2009). Por otra parte, el sistema inmune innato no tiene memoria: por lo tanto, la intensidad y la duración de los procesos como la inflamación se mantienen inalterados, independientemente de la frecuencia de aparición de un mismo patógeno. Pero, en contrapartida, siempre está listo para actuar (Tizard, 2009).

Al contrario de la inmunidad innata, la *inmunidad adaptativa* surge como respuesta a la infección y se adapta a ella. Las respuestas de la inmunidad adaptativa son estimuladas por la exposición a microorganismos infecciosos, lo que aumentan en magnitud y en capacidades defensivas con las sucesivas exposiciones. El sistema inmunitario adaptativo es capaz de distinguir entre un gran número de sustancias microbianas y de otro tipo, además de reaccionar a ellas; por ello es que también se denomina *inmunidad específica*. Los principales componentes de la inmunidad adaptativa son los linfocitos y sus productos de secreción (Abbas, 2012).

La inmunidad adquirida, a diferencia de la innata, se desarrolla lenta pero muy efectivamente. En efecto, cuando se desarrolla una respuesta adquirida frente a un patógeno, las posibilidades de una infección exitosa se reducen considerablemente y el animal puede ser completamente inmune. La

inmunidad adquirida, entonces, constituye el último nivel de defensa del organismo (Tizard, 2009).

La inmunidad adquirida permite que se establezca una memoria de cada encuentro con un organismo, de manera que, si el animal vuelve a encontrarse con el mismo organismo, la inmunidad adquirida responderá rápidamente y de forma aún más eficaz. La inmunidad adquirida posee dos ramas principales, humoral y celular. La primera de ellas está constituida por proteínas llamadas anticuerpos, que ayudan a destruir los patógenos extracelulares o exógenos, debido a que los anticuerpos se encuentran en los fluidos orgánicos (humores); este tipo de respuesta inmune se denomina *humoral*. La otra rama del sistema inmune se dirige contra los patógenos intracelulares o endógenos, y está constituida por células que destruyen células infectadas o anómalas. Este tipo de reacción se conoce, por tanto, como *respuesta inmune mediada por células* (Tizard, 2009).

### 4.3. Células del sistema inmune

Las células de los sistemas inmunitarios se encuentran en la sangre y en la linfa, en forma de células circulantes; en los órganos linfáticos, en forma de grupos definidos por criterios anatómicos y, en casi todos los tejidos, en forma de células dispersas (Abbas, 2012). Los leucocitos, incluyendo los neutrófilos, monocitos, linfocitos y células dendríticas, derivan de células madre mieloides (localizadas en la médula ósea) y todos intervienen en la defensa del organismo (Tizard, 2009).

#### 4.3.1. Fagocitos

Los neutrófilos y los macrófagos son dos tipos de leucocitos especializados en destruir y en ingerir microorganismos invasores. Los neutrófilos responden e ingieren a los organismos invasores rápidamente, pero no pueden sostener una actividad fagocítica mantenida, mientras que los macrófagos se mueven más despacio, pero son extremadamente efectivos y capaces de repetir el proceso fagocitario. La principal función de los fagocitos es identificar, ingerir y destruir los microbios (Abbas, 2012).

##### 4.3.1.1. Neutrófilos

También denominados *leucocitos polimorfonucleares*, son la población más abundante de leucocitos circulantes e intervienen en las primeras fases de las reacciones inflamatorias. Se originan en la médula ósea, en una misma línea con los fagocitos mononucleares. Además, tras la entrada de microbios, los neutrófilos se desplazan a los lugares de infección en unas horas; después de entrar en los tejidos, actúan durante un tiempo y luego mueren (Abbas, 2012).

Entre un 20 y un 30 % de los leucocitos en la sangre de los bovinos son neutrófilos. Estos, generalmente, circulan con otras células en el torrente sanguíneo, pero frente a una invasión microbiana pueden abandonar la circulación sanguínea y dirigirse hacia los tejidos, de manera de actuar como mecanismo de defensa, ingiriendo y destruyendo las partículas extrañas mediante la fagocitosis (Tizard, 2009).

#### 4.3.1.2. *Fagocitos mononucleares*

La principal función de las células mononucleares es la fagocitosis. Las células de este sistema se originan en un precursor común en la médula ósea, circulan en la sangre y maduran y se activan en varios tejidos. Las funciones de los macrófagos, en la defensa del anfitrión, son ingerir y matar microbios, ingerir células apoptóticas antes de que estas puedan liberar su contenido e inducir respuestas inflamatorias, además de ingerir células muertas como parte de un proceso de limpieza (Abbas, 2012). Son tres las células adicionales que participan en las respuestas inmunitarias.

#### 4.3.2. Mastocitos, basófilos y eosinófilos

##### 4.3.2.1. *Mastocitos*

Estas células derivan de la médula ósea y se encuentran en la piel y en el epitelio mucoso; los mastocitos maduros son parte constitutiva de los tejidos sanos, junto a vasos sanguíneos pequeños y nervios. Análogamente, poseen abundantes gránulos en su citoplasma: cuando el contenido de estos gránulos es liberado, se producen cambios en los vasos sanguíneos, que llevan a la inflamación. A su vez, actúan como defensa contra los helmintos y también son responsables de los síntomas de las enfermedades alérgicas (Abbas, 2012).

##### 4.3.2.2. *Basófilos*

Son granulocitos sanguíneos que constituyen menos del 1 % de los leucocitos sanguíneos. Los basófilos derivan de la médula ósea, maduran en ella y circulan en la sangre; aunque normalmente no están presentes en los tejidos, pueden ser reclutados en algunas zonas inflamatorias (Abbas, 2012).

##### 4.3.2.3. *Eosinófilos*

Derivan de la médula ósea y son granulocitos sanguíneos que se encuentran normalmente en los tejidos periféricos; en el marco de una inflamación, su número puede aumentar por reclutamiento desde la sangre. Sus gránulos citoplasmáticos contienen enzimas lesivas para las paredes celulares de los parásitos, pero estas también pueden dañar los tejidos del anfitrión (Abbas, 2012).

#### 4.3.3. Células presentadoras de antígenos

Las células presentadoras de antígenos (APC) se especializan en la captura y en la presentación de antígenos microbianos y de otros tipos a los linfocitos; además, también producen señales que estimulan su proliferación y su diferenciación. Las APC se consideran componentes de los dos sistemas inmunitarios (Abbas, 2012).

##### 4.3.3.1. *Células dendríticas*

Son las células presentadoras de antígeno más importantes, pues activan a los linfocitos T vírgenes. Al igual que los macrófagos, reconocen moléculas producidas por los microbios y no por células de los mamíferos, y responden secretando citosinas. Cuando son activadas por los microbios, adquieren movilidad, migran a los ganglios linfáticos y muestran antígenos microbianos a

los linfocitos T. Las células dendríticas actúan en las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas (Abbas, 2012).

#### 4.3.4. Linfocitos

Existen tres tipos principales: las células asesinas naturales (NK), que tienen un rol importante en la inmunidad innata; los linfocitos T, que regulan la inmunidad adquirida y la inmunidad de base celular, y los linfocitos B, que son responsables de la producción de anticuerpos (Tizard, 2009). Los linfocitos son las células más características de la inmunidad adaptativa (Abbas, 2012), y se distribuyen por todo el cuerpo, diseminados bajo las superficies mucosas, en la sangre y en los órganos linfáticos (Tizard, 2009).

### 4.4. Órganos del sistema inmune

Se clasifican en órganos linfáticos primarios o centrales, también llamados *generadores*; dentro de estos se encuentran la médula ósea, para los linfocitos B, y el timo, para los linfocitos T. Los órganos linfáticos secundarios, también llamados *periféricos*, son el bazo, los ganglios linfáticos, el sistema inmunitario cutáneo y el sistema inmunitario mucoso (Abbas, 2012).

#### 4.4.1. Órganos linfoides primarios

Se desarrollan en estadios fetales tempranos y son los encargados de regular el desarrollo de los linfocitos. Así, los linfocitos inmaduros migran desde la médula ósea hacia los órganos linfáticos primarios, donde madurarán, al tiempo que los órganos linfoides primarios no aumentan en respuesta a una estimulación antigénica (Tizard, 2009).

##### 4.4.1.1. Timo

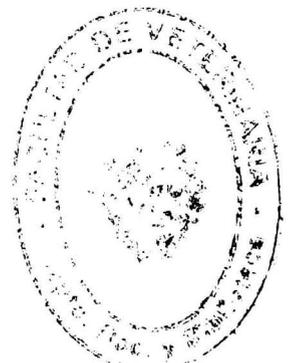
El timo es el lugar de maduración del linfocito T (Abbas, 2012) y la mayor fuente de linfocitos T en el neonato. Asimismo, alberga las respuestas inmunes mediadas por células, que son principalmente desarrolladas por estos linfocitos (Tizard, 2009).

Los linfocitos del timo son linfocitos T en varios estadios de maduración: estos linfocitos crecen en la médula ósea a partir de células mieloides comunes, entran en la circulación y se alojan en la corteza del timo, donde sufren una maduración adicional. Mientras tanto, los linfocitos T maduros, que salen del timo, entran en la sangre y en los tejidos linfáticos periféricos (Abbas, 2012).

##### 4.4.1.2. Placas de Peyer

Son órganos linfoides que se localizan en las paredes del intestino delgado; en rumiantes del 80 al 90 % se encuentran en el íleon. Estos son sitios de rápida proliferación de linfocitos B; aunque la mayoría sufren apoptosis, los supervivientes se liberan a la circulación (Tizard, 2009).

##### 4.4.1.3. Médula ósea



Es el lugar de generación de la mayoría de las células sanguíneas circulantes maduras. Los eritrocitos, los monocitos, las células dendríticas, las plaquetas y los linfocitos B, T y NK se originan de una célula mieloide común. De esta manera, la mayor parte de la maduración de los linfocitos B se produce en la médula ósea, pero puede completarse en los órganos linfáticos secundarios, en especial en el bazo. La maduración del linfocito T se produce completamente en el timo y la maduración del linfocito NK tiene lugar completamente en la médula ósea (Abbas, 2012).

#### 4.4.2. Órganos linfoides secundarios

Se originan durante la vida fetal tardía y persisten en el individuo adulto; además, los órganos linfoides secundarios, a diferencia de los órganos linfoides primarios, aumentan de tamaño como respuesta a una estimulación antigénica. Ejemplos de órganos linfoides secundarios son el bazo, los nódulos linfáticos, las amígdalas y otros tejidos linfoides en los tractos intestinal, respiratorio y urogenital (Tizard, 2009).

##### 4.4.2.1. Ganglios linfáticos

Los ganglios linfáticos son órganos linfáticos secundarios cuyas características anatómicas favorecen el inicio de respuestas inmunitarias adaptativas frente a antígenos que son transportados por los vasos linfáticos desde los tejidos (Abbas, 2012).

##### 4.4.2.2. Bazo

Su principal función es eliminar células sanguíneas, viejas y dañadas, y partículas de la circulación, e iniciar respuestas inmunitarias adaptativas frente a antígenos de transmisión hemática (Abbas, 2012). Las respuestas inmunes ocurren en la pulpa blanca del bazo, que es rica en linfocitos (Tizard, 2009).

### 4.5. Desarrollo del sistema inmune

El timo es el primer órgano linfoide que se desarrolla, seguido por los órganos linfoides secundarios. El feto, por su parte, es capaz de responder a los antígenos casi inmediatamente después de la formación de los órganos linfoides. Todas las respuestas inmunes adquiridas en el recién nacido son primarias y de desarrollo lento, dado que el sistema inmune nunca ha sido utilizado (Tizard, 2009).

#### 4.5.1. El sistema inmune de los terneros

El sistema inmune del ternero se forma en las fases tempranas del desarrollo fetal: allí, el timo fetal es reconocible a los 40 días de gestación, la médula ósea y el bazo aparecen a los 55 días, mientras que los nódulos linfáticos a los 60 y las placas de Peyer no se observan hasta el día 175 (Tizard, 2009).

Por otro lado, los linfocitos de la sangre fetal son capaces de responder a los mitógenos entre los días 75 y 80: como resultado de los altos niveles séricos de esteroides, esta capacidad se pierde temporalmente en el momento del nacimiento. Las subpoblaciones de linfocitos T están presentes en niveles

comparables a los del adulto, pero los recuentos de linfocitos B aumentan significativamente durante los primeros seis meses de vida (Tizard, 2009).

Al nacimiento, los terneros tienen todos los componentes esenciales del sistema inmune que necesitan como futuros adultos; sin embargo, se requiere entre 2 y 4 semanas para que estos componentes sean totalmente funcionales. El sistema inmune no madura completamente hasta que el animal tiene entre 5 y 8 meses, lo que no implica que terneros algunos jóvenes (menores a 8 meses) no puedan responder a antígenos: en estos casos, su respuesta es más débil y lenta que cuando el sistema inmune ya está maduro (González y Dus Santos, 2017).

#### 4.6. Transferencia de inmunidad de la madre a la descendencia

La estructura de la placenta determina la vía por la que los anticuerpos maternos llegan al feto. Así, en los rumiantes el epitelio coriónico está en contacto directo con los tejidos uterinos (placenta sindesmocorial); en este tipo de placentación no hay paso transplacentario de moléculas de inmunoglobulina y los recién nacidos dependen totalmente de los anticuerpos recibidos a través del calostro (Tizard, 2009). El sistema inmune se desarrolla durante el período fetal bajo la protección de la placenta, sin estímulos antigénicos externos; aunque el sistema inmune de los terneros neonatos es inmaduro, también es capaz de montar respuestas inmunes al momento del nacimiento (Reber y col., 2005).

Como el ternero nace con un sistema inmune inmaduro, la madre produce calostro para proporcionarle protección temporal y para ayudarlo en el desarrollo de la inmunidad. El calostro permite la transferencia de inmunoglobulinas, que constituye la parte humoral del sistema inmune neonatal, y proporciona anticuerpos específicos contra patógenos del medio local; también ayuda a establecer la parte celular del sistema inmune neonatal, pues es fuente de leucocitos y de citoquinas (Reber y col., 2008).

#### 4.6.1. Secreción y composición del calostro

**Tabla 2.** Composición del calostro, de la leche de transición y de la leche entera

Componentes	Número de ordeños postparto (días)			
	Calostro	Leche de transición		Leche entera
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 11
<b>Sólidos totales (%)</b>	23.9	17.9	14.1	12.5
<b>Grasa (%)</b>	6.7	5.4	3.9	3.2
<b>Proteína total (%)</b>	14.0	8.4	5.1	3.2
<b>Caseína (%)</b>	4.8	4.3	3.8	2.5
<b>Albumina (%)</b>	0.9	1.1	0.9	0.5
<b>Inmunoglobulinas (%)</b>	6.0	4.2	2.4	0.09
<b>IgG (g/dl)</b>	3.2	2.5	1.5	0.06
<b>Lactosa (%)</b>	2.7	3.9	4.4	4.9
<b>Calcio (%)</b>	0.26	0.15	0.15	0.13
<b>Potasio (%)</b>	0.14	0.13	0.14	0.15
<b>Sodio (%)</b>	0.14	0.13	0.14	0.15
<b>Vitamina A (µg/dl)</b>	295	190	113	34
<b>Vitamina E (µg/g)</b>	84	76	56	15

*Fuente: adaptado de Davis y Drackey (2002)*

La calostrogénesis es la transferencia de componentes celulares y no celulares desde la circulación sanguínea materna al calostro dentro de la glándula mamaria. En los rumiantes, la calostrogénesis comienza 2-3 semanas antes del parto y finaliza abruptamente algún tiempo antes de que este tenga lugar (González y Dus Santos, 2017).

El calostro contiene proteínas transferidas activamente desde la circulación sanguínea bajo la influencia de los estrógenos y la progesterona, así como las secreciones de la glándula mamaria acumuladas durante las últimas semanas de gestación (Tizard, 2009). En la glándula mamaria de una vaca clínicamente normal, los macrófagos son el tipo predominante de células, representando entre un 35 % y un 79 % del total (González y Dus Santos, 2017).

Así, pues, en los mamíferos hay más de 1.000.000 de células en el calostro por mililitro. Esta cantidad y el tipo de células varían de acuerdo a la especie, al tiempo de lactación y al estado fisiológico e individual de los animales; de esta forma, por ejemplo, el recién nacido recibe un número significativo de células a través de las secreciones de la glándula mamaria. Cuatro tipos de células caracterizan las secreciones de la glándula mamaria: los linfocitos, los macrófagos, los neutrófilos y las células epiteliales (Le Jan, 1996). Cabe destacar, también, que el calostro contiene grandes cantidades de nutrientes y hormonas importantes para el desarrollo, así como componentes inmunológicos fundamentales, tales como citosinas, anticuerpos maternos y un importante número de leucocitos (Reber y col., 2005).

Por otro lado, el calostro cuenta con grandes cantidades de inmunoglobulinas, que son transferidas desde el torrente sanguíneo de la madre; entre ellas, se destacan tres: las G y sus isómeros G1 y G2, las M y las

A. La distribución de las diferentes clases de inmunoglobulinas en el calostro es variable entre vacas, aunque la mayoría de las inmunoglobulinas del calostro bovino son de la clase G. Dichas inmunoglobulinas tienen aproximadamente un 70 o un 80 % de IgG, un 7 % de IgM y un 5 % de IgA. A su vez, el 60 % de la IgA se sintetiza en la glándula mamaria, la IgG procede del suero de la madre y la IgM se origina en ambas partes (Elizondo, 2007).

De la IgG, en el calostro es la IgG1 la que está presente en mayor proporción. La IgG1 y la IgG2 son llevadas desde la sangre hasta el calostro por medio de un transporte altamente específico, proceso que comienza aproximadamente 8 semanas antes del parto y que se acentúa a las 2 o a las 3 semanas antes del mismo. La IgA y la IgM son sintetizadas por los plasmocitos de la glándula mamaria (Flores y Romero, 2013).

Mientras tanto, los leucocitos componentes del calostro son predominantemente macrófagos (entre un 40 y un 50 %), los restantes leucocitos del calostro son linfocitos (entre un 22 y un 25 %) y neutrófilos (entre un 25 y un 37 %). Los linfocitos calostrales consisten en linfocitos B (de un 2,5 a un 3,5 %), linfocitos T (de 88 a un 89 %) y linfocitos NK (de un 5 a un 15 %) (Reber y col., 2005).

#### 4.6.2. Absorción del calostro

En los neonatos, la actividad proteasa en el tracto digestivo es baja y los inhibidores de tripsina presentes en el calostro la reducen aún más; por lo tanto, las proteínas calostrales no se degradan y alcanzan intactas el intestino delgado (Tizard, 2009). La principal ruta de absorción de los leucocitos del calostro a través de la barrera intestinal son los folículos asociados a las placas de Peyer, en yeyuno e íleon (Riedel-Caspari y col., 2002).

Asimismo, resulta claro que existen células viables en el calostro, y estas células maternas del calostro entran a la circulación del neonato dentro de las primeras 24 horas después del nacimiento (Donovan y col., 2007).

#### 4.7. Inmunidad mediada por células

El calostro bovino contiene aproximadamente  $10^8$  linfocitos/ml, de los cuales la mitad son linfocitos T. Los linfocitos calostrales pueden sobrevivir hasta 36 horas en el intestino de los terneros recién nacidos, y algunos penetran por la pared intestinal a través del epitelio de las placas de Peyer y alcanzan los vasos quilíferos o los nódulos linfáticos mesentéricos (Tizard, 2009).

## 5. Hipótesis

Las hipótesis de este trabajo fueron:

- Que los terneros que consumen calostro con una mayor cantidad de leucocitos tienen una mayor sobrevivencia.
- Que las vacas multíparas tienen mayor cantidad de leucocitos en su calostro.
- Que el calostro con mayor concentración de leucocitos tiene una mayor densidad.
- Que las vacas con un mayor período seco producen calostro con una mayor cantidad de leucocitos.

## 6. Objetivos

### 6.1. Objetivo general

El objetivo general del trabajo fue determinar la cantidad de leucocitos en el calostro de hembras bovinas de raza Holando, primíparas y multíparas, y su relación con la sobrevida de los terneros.

### 6.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos fueron dos:

- Realizar una puesta a punto de la técnica para determinar leucocitos en el calostro bovino;
- Determinar la sobrevida de los terneros en relación a la cantidad de leucocitos que ingieren con el calostro.



## 7. Materiales y métodos

La puesta a punto de la técnica se realizó en el mes de octubre del año 2016 en 2 establecimientos comerciales del departamento de Florida, cuyo rubro principal es la lechería. El ensayo se llevó a cabo en 6 establecimientos comerciales del departamento de Florida, pertenecientes a las seccionales policiales 3.<sup>era</sup>, 7.<sup>ma</sup> y 9.<sup>na</sup>, cuyo rubro principal es la lechería, entre febrero y marzo del año 2017. Se muestreó el calostro hembras bovinas de raza Holando, primíparas y multíparas

Los establecimientos muestreados contaban con la refrendación anual vigente y con buenos resultados de recuentos de células somáticas, así como con un adecuado manejo de los animales durante el período seco.

**Tabla 3.** Descripción de los establecimientos

Establecimiento	Vacas en ordeño	Sanidad en período seco	Alimentación en período seco
1	230	No inmunizan	Campo natural; reserva de silo de sorgo Sorgo grano húmedo, 1,5kg Cascarilla de soja, 1,5kg
2	120	No inmunizan	Campo natural; reserva de silo de sorgo
3	660	Leptospira	Campo natural; silo de sorgo de planta entera
4	859	Saguaypicida Vacunas virales Leptospira Vitaminas A, D, E. Fósforo Pasteurella multocida Salmonella dublin Escherichia coli K99 Mannheimia haemolytica	Campo natural Fardo seco Silo de sorgo, 20kg Ración, 1kg Cascarilla de soja, 1kg DDGS
5	350	Vitaminas A, D, E. Fósforo Pasteurella multocida Escherichia coli K99 Mannheimia haemolytica Salmonella dublin	Campo natural Silo de sorgo de planta entera Fardo seco
6	220	Saguaypicida Fósforo Pasteurella multocida Escherichia coli K99 Mannheimia haemolytica Salmonella dublin	Afrechillo Silo de maíz o sorgo Fardo seco

## 7.1. Obtención de muestras

El trabajo comprendió un muestreo de 120 animales, 20 en cada uno de los 6 establecimientos. Las muestras fueron tomadas de animales clínicamente sanos, con la refrendación anual vigente, sin alteraciones a nivel general, ni en la ubre, ni en su secreción.

Se procedió a la toma de una muestra de 100 ml de calostro proveniente de los 4 cuartos del animal, dentro de las primeras 24 horas postparto. Al momento de obtener la muestra se recogían los siguientes datos: número de identificación de la donadora, tipo de parto, número de lactancias, días de secado, sexo del ternero y su número de identificación.

Las muestras de calostro fueron conservadas en heladera a 4° C por un período máximo de 6 días y, posteriormente, fueron analizadas en el laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Veterinaria.

## 7.2. Procesamiento de muestras

En el laboratorio se determinó la cantidad de leucocitos presentes en cada muestra a través del Equipo *Huma Count*, Human GmbH, Wiesbaden, Germany; además de la densidad de las mismas mediante densímetro.

El *Huma Count* es un instrumento diseñado para contajes hematológicos, que basa su lectura en los cambios de impedancia que producen las células al pasar por los lectores. Este equipo en particular posee un software para veterinaria que permite trabajar con animales de diferentes especies.

Luego de esto, se procedió a la toma de una alícuota de cada una de las muestras y se las llevó a baño María a 37°C durante 15 minutos, con el fin de fluidificar la grasa. Posteriormente se tomó 1 ml de este calostro a 37° y se lo colocó en un tubo con 4 ml de Buffer fosfato salino (PBS). El PBS se utiliza a los efectos de realizar una dilución que permita a la muestra entrar en el rango de lectura del instrumento, para efectuar la corrección por dilución.

Por otra parte, tubo con calostro diluido fue llevado al *Huma Count*, que llevó adelante la lectura de los leucocitos presentes. Con ello se determinó la densidad de cada muestra, a una temperatura entre los 20 y los 25° C, con densímetro. Se utilizó una dilución 50% con agua destilada para facilitar la lectura por el instrumento, y finalmente se efectuó la correspondiente corrección por dilución.

## 7.3. Elaboración de registros

Se confeccionaron las planillas utilizando Microsoft Office Excel con los datos recabados al momento de recoger las muestras de calostro (número de identificación de la donadora, tipo de parto, número de lactancias, días de secado, sexo del ternero y su número de identificación). Posteriormente, a estas planillas se les agregó los datos obtenidos luego de procesar las muestras en el laboratorio.

## 7.4. Análisis estadístico

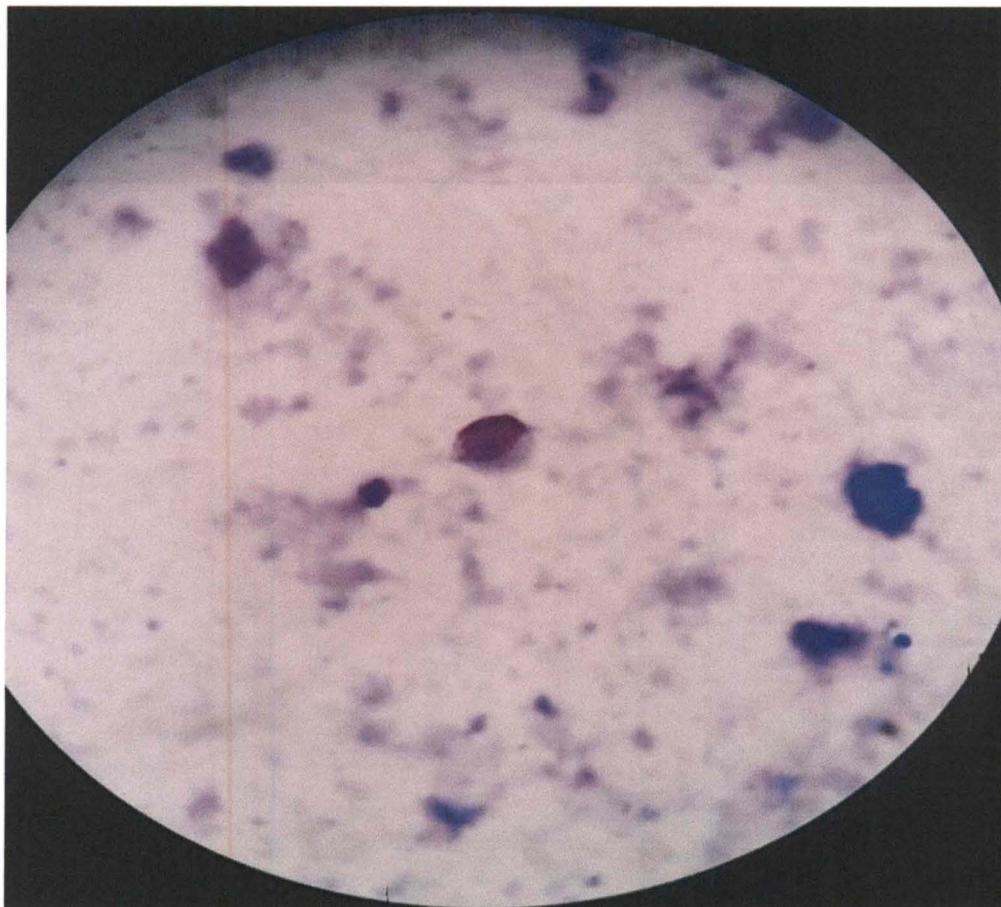
Se realizó una estadística descriptiva de todas las variables mediante tablas, gráficas, medidas de tendencia central y medidas de dispersión. Las variables respuesta fueron cantidad de leucocitos y la densidad, mientras que las variables factor fueron el número de partos, los días de secado, el tipo de parto, el sexo y la sobrevivencia del ternero, y tambo.

Con respecto a la estadística inferencial, se realizó ANOVA para la comparación de medias de más de 2 grupos para todas las variables numéricas. Asimismo, se recurrió al test de Fisher para determinar si las varianzas eran iguales; también se realizó un test de medias 2 grupos (t para varianzas iguales) para todas las comparaciones de 2 grupos. Se trabajó en general con un nivel de confianza del 95 %.

## 8. Resultados

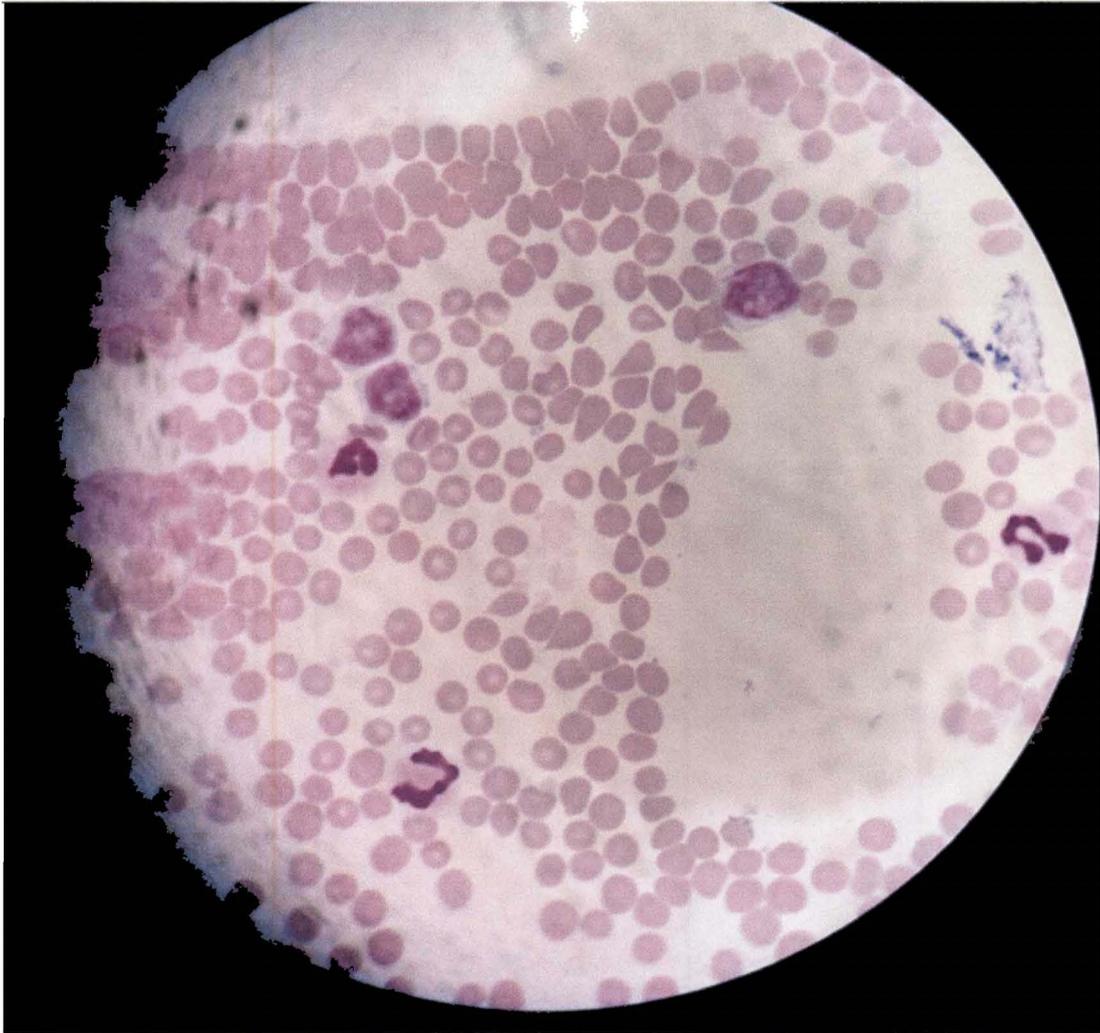
Aquí se observan leucocitos en un frotis de calostro:

**Figura 1.** Frotis de calostro



Aquí se observan leucocitos en un frotis de sangre:

**Figura 2.** Frotis de sangre



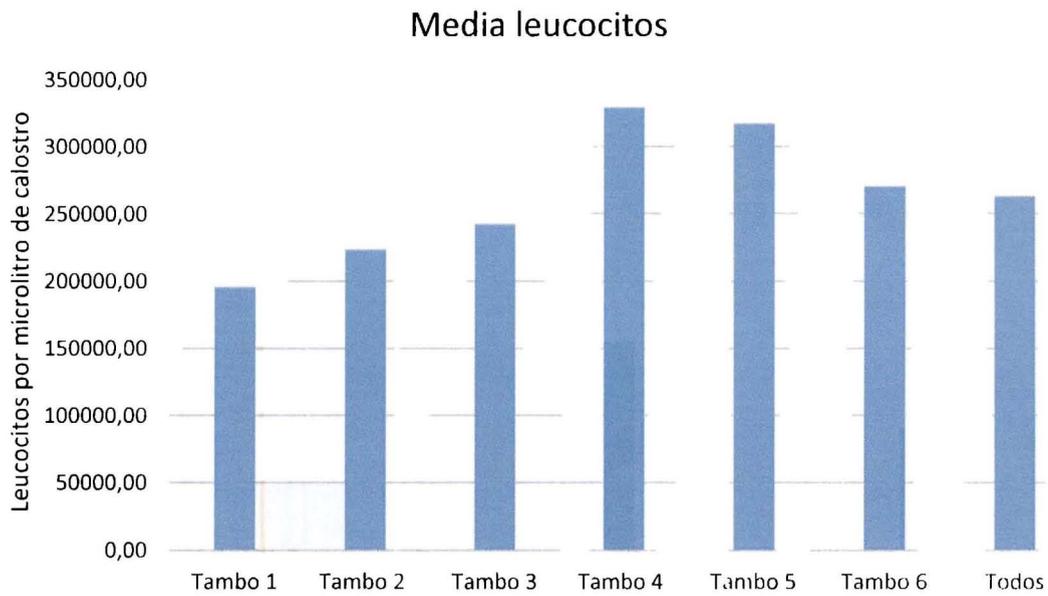
**Tabla 4.** Resultados por establecimiento.

Tambo	Leucocitos (cel/ $\mu$ l)			Densidad (g/cm <sup>3</sup> )		
	Media	DE	CV	Media	DE	CV
1	195888	154653	79%	1.068	0.012	1.1%
2	223965	102741	46%	1.066	0.016	1.5%
3	242848	107045	44%	1.068	0.018	1.7%
4	329500	107045	32%	1.084	0.018	1.6%
5	317400	157497	50%	1.069	0.018	1.7%
6	270850	128541	47%	1.077	0.021	2.0%

La concentración promedio de leucocitos fue de 263408.33/microlitro, con un rango de 35.300 a 685.000 leucocitos/microlitro. A su vez, la densidad promedio fue de 1.071 g/cm<sup>3</sup>, con un rango de 1.040 a 1.120 g/cm<sup>3</sup>. Se estimó con un nivel de significación del 95 %.

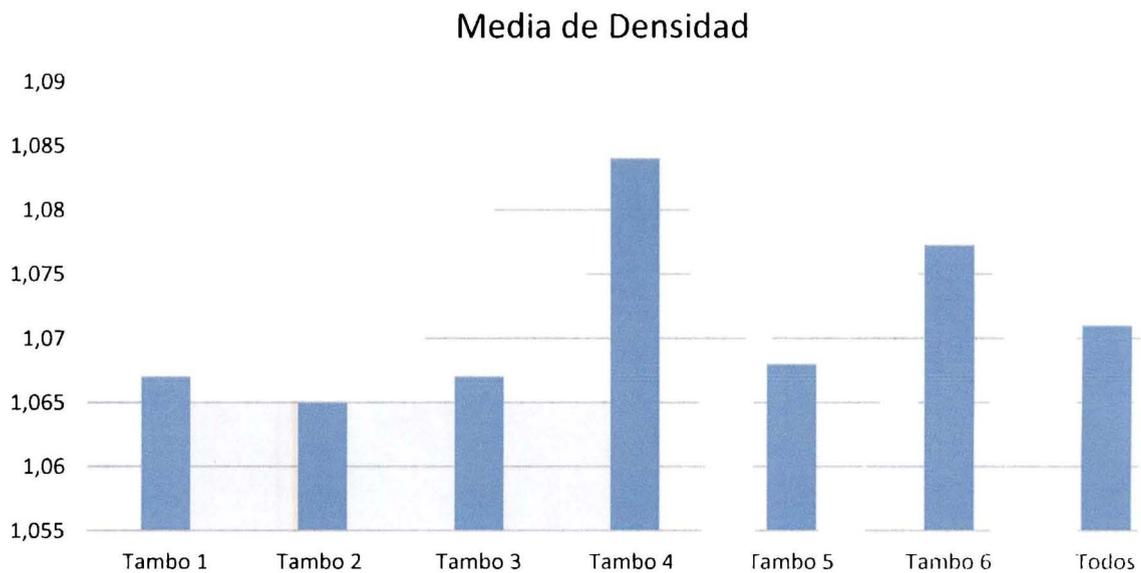
Existen diferencias significativas entre las medias de cantidad de leucocitos de cada tambo ( $p= 0.006$ ); el tambo número 4 es el que tiene mayor cantidad de leucocitos promedio.

**Figura 3. Media de concentración de leucocitos por establecimiento**



Existen diferencias significativas entre las medias de densidad de cada tambo ( $p= 0.004$ ); el tambo número 4 es el que tiene la mayor densidad promedio.

**Figura 4. Media de densidad por establecimiento**

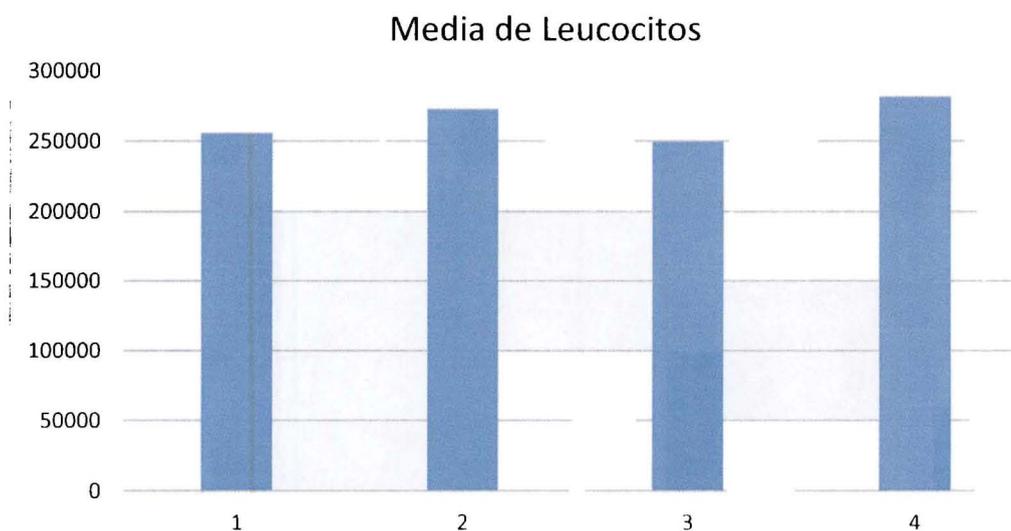


No se encuentra asociación entre la cantidad de leucocitos y la densidad. El coeficiente de correlación fue de  $r=0.12475448$ , con un coeficiente de determinación de  $R^2=0.016$ .

## 8.1. Número de partos

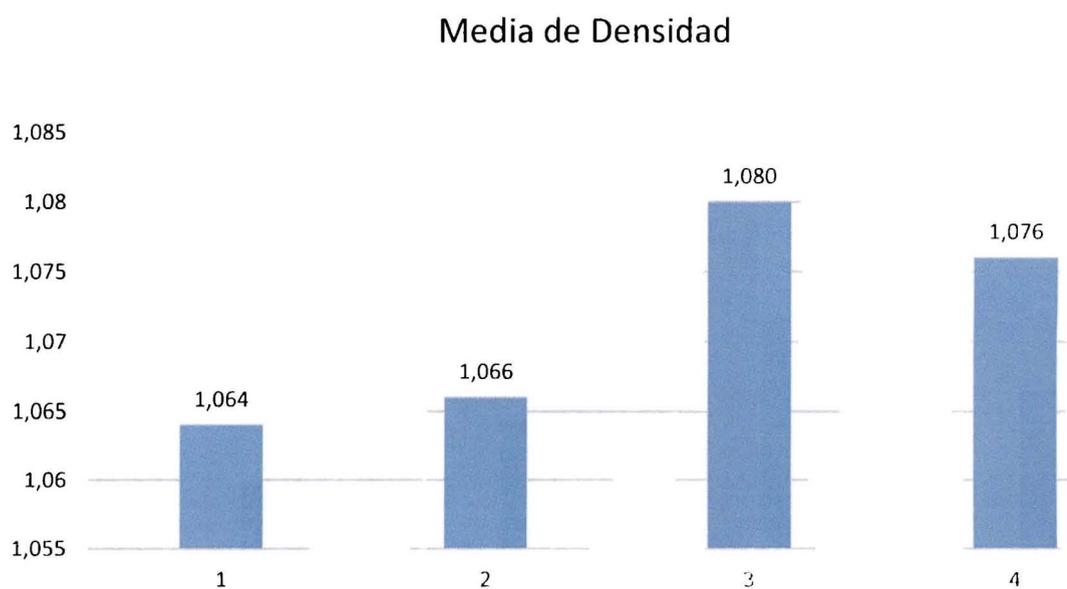
No existen diferencias significativas en la cantidad de leucocitos según el número de partos.

**Figura 5.** Media de concentración de leucocitos según el número de partos



Existen diferencias significativas entre las medias de densidad según el número de partos ( $p= 0.00086$ ); las vacas de 3 o más partos son las que tienen mayor densidad.

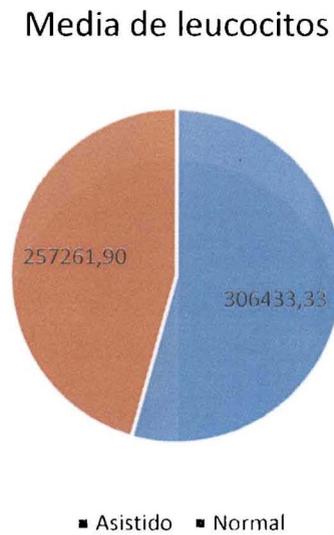
**Figura 6.** Media de densidad según número de partos



## 8.2. Tipo de parto

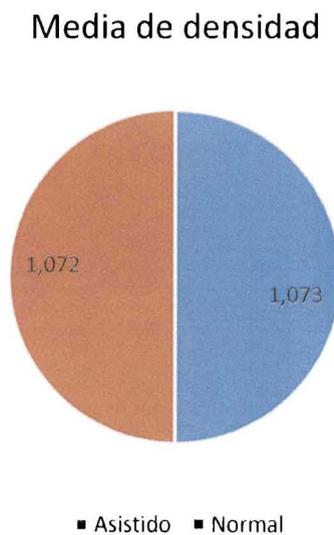
No existen diferencias significativas en la cantidad de leucocitos según el tipo de parto.

**Figura 7.** Media de leucocitos según el tipo de parto



No existen diferencias significativas en la densidad según el tipo de parto.

**Figura 8.** Media de densidad según tipo de parto



### 8.3. Sexo del ternero

No existen diferencias significativas en la cantidad de Leucocitos según sexo del ternero.

**Figura 9.** Media de leucocitos según el sexo del ternero

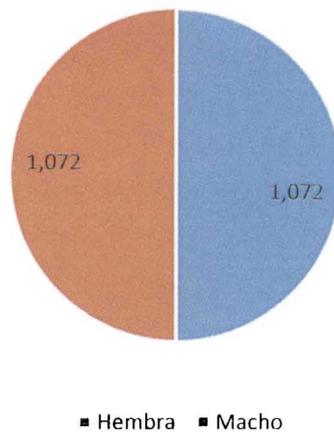
Media de leucocitos



No existen diferencias significativas en las medias de densidad según sexo del ternero.

**Figura 10.** Media de densidad según el sexo del ternero

Media de densidad

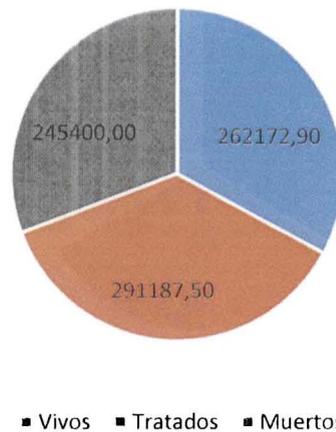


## 8.4. Sobrevida del ternero

No existen diferencias significativas en la cantidad de leucocitos según la sobrevida del ternero.

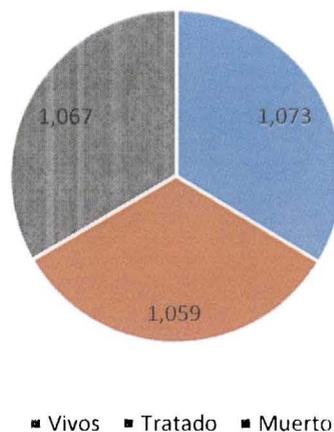
**Figura 11.** Promedio de leucocitos según sobrevida del ternero

Promedio de leucocitos



**Figura 12.** Promedio de densidad según sobrevida de los terneros

Promedio de densidad



No existen diferencias significativas, pero hay una tendencia que indica que el calostro de mayor densidad fue consumido por los terneros vivos, sin problemas, pero los n son muy diferentes ( $p= 0.10$ ).

## 8.5. Período seco

No se encuentra asociación entre la cantidad de leucocitos y los días de secado (coeficiente de correlación  $r = -0.0458994$ ). Tampoco se encuentra asociación entre la densidad y los días de secado (coeficiente de correlación  $r = 0.01022949$ ).

## 9. Discusión

Las hipótesis con las que se comenzó el trabajo planteaban que los terneros que consumen calostro con mayor cantidad de leucocitos tienen una mayor sobrevivencia, hecho que no pudo ser comprobado, ya que no se encontraron diferencias significativas en la sobrevivencia de los terneros según la cantidad de leucocitos ingeridos con el calostro. De todas maneras, las vacas multíparas tienen una mayor cantidad de leucocitos en su calostro, esto coincide con lo estipulado por varios autores (Campos y col., 2007; Elizondo, 2007; Godden, 2008); sin embargo, en el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en la concentración de leucocitos según el número de partos.

Por otra parte, también fue hipótesis que el calostro con mayor concentración de leucocitos tuviera una densidad mayor. En el presente trabajo esto no pudo comprobarse, puesto que no se encontró asociación entre la concentración de leucocitos y la densidad. Lo mismo ocurrió en cuanto a que las vacas con más período seco producen calostro con mayor cantidad de leucocitos, dado que no se encontró asociación entre la concentración de leucocitos y los días de secado; esto difiere con los trabajos realizados por Campos y col. (2007) y Elizondo (2007). Tampoco se encontró asociación entre la densidad y los días de secado, concordando con Morin y col. (2001).

El promedio de concentración de leucocitos fue de 263408330/ml, valor que no coincide con lo estipulado en la bibliografía, que habla de 1.000.000 leucocitos por mililitro (Le Jan (1996); Quigley (1999); Chase y col. (2008); Godden (2008); González y Dus Santos (2017)). Existen muy pocos trabajos realizados durante el primer día postparto como para poder realizar comparaciones; de todas formas, en el trabajo realizado por Kutscher (1998) también se encontró un elevado recuento celular en el primer día postparto. La vaca está en una situación de estrés en el parto y también existe una inflamación fisiológica de la glándula mamaria, hecho que puede aumentar la cantidad de leucocitos que pasan a la ubre y, por ende, al calostro, disminuyendo su concentración en los siguientes días, tal como expresa Kutscher (1998).

El aparato que se utilizó para realizar las mediciones (*Huma Count*) es un instrumento diseñado para contajes hematológicos, que basa su lectura en los cambios de impedancia que producen las células al pasar por los lectores. Es un aparato muy sensible y pequeñas partículas que se parezcan a células pueden ser medidas, por ejemplo, pequeños coágulos y microglóbulos grasos, alterando los valores finales.

Finalmente, en cuanto a la densidad de calostro, se encontraron diferencias significativas al relacionarlo con el número de partos. Las vacas de 3 partos son las que tienen la mayor densidad promedio, esto concuerda con resultados expuestos por Morin y col. (2001), donde la densidad del calostro de vacas de primera y de segunda lactancia es menor que la de vacas de 3 o más lactancias. Según Fortín y Perdomo (2009), la mayor densidad del calostro se obtuvo en vacas de 2 y 3 partos, lo que difiere un poco con los datos encontrados en este trabajo, ya que la mayor densidad del calostro fue en vacas de 3 partos y luego en vacas de 4 o más partos.

## 10. Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que:

Es posible determinar la concentración de leucocitos en el calostro de primer ordeño a través del equipo *Huma Count*, Human GmbH, Wiesbaden, Germany.

Existe una gran variabilidad en la concentración media de leucocitos y en la densidad media de calostro entre tambos.

No fue posible establecer asociación entre la concentración de leucocitos y la sobrevida de los terneros.

## 11. Referencias bibliográficas

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober SJ (1997) Inmunología celular y molecular, 3.<sup>a</sup> ed., Madrid, Interamericana, 552 p.
2. Abbas AK (2012) Inmunología celular y molecular, 7.<sup>a</sup> ed., Barcelona, Elsevier, 546 p.
3. Campos Ganoa R, Carrillo AF, Loaiza V, Giraldo L (2007) El calostro: herramienta para la cría de terneros, Palmira, Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <<http://www.bdigital.unal.edu.co/5055/1/romulocamposgaona.20072.pdf>>. Fecha de consulta: 23 de noviembre de 2017.
4. Chase CCL, Hurley DJ, Reber AJ (2008) Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*; 24: 87-104.
5. Davis CI, Drackley Y, James K (2002) El calostro en su “desarrollo, nutrición y manejo del ternero joven”, Buenos Aires, Intermédica, 314 p.
6. Donovan DC, Reber AJ, Gabbard JD, Aceves-Avila M, Galland KI, Holbert KA, Lane LO, Hurley DJ (2007) Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves. *American Journal of Veterinary Research*; 68: 778-782.
7. Elizondo J (2007) Importancia del calostro en la crianza de terneras. *ECAG- Informa*; 40: 53-55.
8. Elizondo J (2007) Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agronomía Mesoamericana*; 18: 271-281. Disponible en: <<http://www.redalyc.org/pdf/437/43718213.pdf>>. Fecha de consulta: 23 de noviembre de 2017.
9. Flores Guevara RE, Romero Rivas AM (2013) Calidad del calostro y estatus inmunitario de terneras en su primera semana de vida por medio de la densidad de proteínas séricas en cuatro ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate. Tesis. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de el Salvador, 71 p. Disponible en: <<http://ri.ues.edu.sv/5279/>>. Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2017.
10. Galias A, Harguindeguy A (2004) Relevamiento del nivel de calostrado en terneros Hereford. Tesis. Facultad de Veterinaria, UdelaR, 25 p.
11. Godden S (2008) Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*; 24:19-39.
12. González DD, Dus Santos MJ (2017) Bovine colostrum cells: the often forgotten component of colostrum. *Journal of the American Veterinary Medical Association*; 250: 998-1005.
13. Kutscher C (1998) Determinación de células somáticas en calostro postparto de vacas de lechería mediante dos métodos de recuento. Tesis. Universidad Austral de Chile, 35 p.
14. Le Jan C (1996) Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Veterinary Research*; 27: 4003-4017.

15. Liebler-Tenorio EM, Riedel-Caspari G, Pohlenz JF (2002) Uptake of colostrum leukocytes in the intestinal tract of newborn calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 85: 33-40.
16. Morin DE, Constable PD, Maunsell FP, McCoy GC (2001) Factors Associated with Colostrum Specific Gravity in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*; 84: 937-943.
17. Ontsouka EC, Albrecht C, Bruckmaier RM (2016) Invited review: growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. *Journal of Dairy Science*; 99: 4111-4123.
18. Quigley J (1999) Leucocitos en el calostro. Disponible en: <<http://www.calfnotes.com/pdffiles/CN050e.pdf>>. Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2017.
19. Reber AJ, Donovan DC, Gabbard J, Galland K, Aceves-Avila M, Holbert KA, Marshall L, Hurley DJ (2008) Transfer of maternal colostrum leukocytes promotes development of the neonatal immune system: I. Effects on monocyte lineage cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 123: 186-196.
20. Reber A, Lockwood A, Hippen AR, Hurley DJ (2006) Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 109: 139-150.
21. Reber AL, Hippen AR, Hurley DJ (2005) Effects of the ingestion of whole colostrum or cell-free colostrum on the capacity of leukocytes in newborn calves to stimulate or respond in one-way mixed leukocyte cultures. *American Journal of Veterinary Research*; 66: 1854-1860.
22. Schnorr KL, Pearson LD (1984) Intestinal absorption of maternal leukocytes by newborn lambs. *Journal of Reproductive Immunology*; 6: 329-337.
23. Tizard IR (2009) *Introducción a la inmunología veterinaria*, 8ª ed., Barcelona, Elsevier, 574 p.

# Anexos

**Tabla 1.** Análisis de varianza para concentración de leucocitos por tambo

**Tabla 2.** Análisis de varianza para densidad por tambo

**Tabla 3.** Análisis de varianza para concentración de leucocitos según número de partos

**Tabla 4.** Análisis de varianza para densidad según número de partos

**Tabla 5.** Prueba de t para densidad entre vacas de primer y segundo parto

**Tabla 6.** Prueba de t para densidad entre vacas de tres y cuatro o más partos

**Tabla 7.** Prueba de t para densidad entre vacas de dos y tres partos

**Tabla 8.** Prueba de t para concentración de leucocitos según tipo de parto

**Tabla 9.** Prueba de t para densidad según tipo de parto

**Tabla 10.** Prueba de t para concentración de leucocitos según sexo del ternero

**Tabla 11.** Prueba de t para densidad según sexo del ternero

**Tabla 12.** Análisis de varianza para concentración de leucocitos según sobrevida de los terneros

**Tabla 13.** Análisis de varianza para densidad según sobrevida de los terneros

**Tabla 1.** Análisis de varianza para concentración de leucocitos por tambo

Análisis de varianza de un factor

*Resumen*

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Tambo 1	20	3917750	195887.5	2.3917E+10
Tambo 2	20	4479300	223965	1.0556E+10
Tambo 3	20	4856950	242847.5	1.1459E+10
Tambo 4	20	6590000	329500	8719815789
Tambo 5	20	6348000	317400	2.4805E+10
Tambo 6	20	5417000	270850	1.6523E+10

*Análisis de varianza*

<i>FV</i>	<i>Sc</i>	<i>Gl</i>	<i>Mc</i>	<i>Fc</i>	<i>Prob</i>	<i>Ft</i>
Entre grupos	2.77523E+11	5	55504696883	3.469775		2.2939112
Dentro de grupos	1.82362E+12	114	15996627125			
Total	2.10114E+12	119				

**Tabla 2.** Análisis de varianza para densidad por tambo

Análisis de varianza de un factor

*Resumen*

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Tambo 1	20	21.34	1.067	0.00012737
Tambo 2	20	21.315	1.066	0.00026388
Tambo 3	20	21.355	1.068	0.00031704
Tambo 4	20	21.684	1.084	0.00027175
Tambo 5	20	21.37	1.069	0.00033184
Tambo 6	20	21.545	1.077	0.00044599

*Análisis de varianza*

<i>FV</i>	<i>Sc</i>	<i>Gl</i>	<i>Mc</i>	<i>Fc</i>	<i>Prob</i>	<i>Ft</i>
Entre grupos	0.005407542	5	0.001081508	3.69143654		2.293911
Dentro de los grupos	0.03339945	114	0.000292978			
Total	0.038806992	119				

**Tabla 3.** Análisis de varianza para concentración de leucocitos según número de partos

Análisis de varianza de un factor

*Resumen*

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
1	37	9474250	256060.811	3.0084E+10
2	22	6003500	272886.364	1.7827E+10
3	35	8763250	250378.571	1.333E+10
4 o más	28	7897500	282053.571	8149135913

*Análisis de varianza*

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>MC</i>	<i>FC</i>	<i>Prob</i>	<i>Ft</i>
Entre grupos	1.965E+10	4	4912481283	0.26976026		2.44920211
Dentro de los grupos	2.1306E+12	117	1.8211E+10			
Total	2.1503E+12	121				

**Tabla 4.** Análisis de varianza para densidad según número de partos

Análisis de varianza de un factor

*Resumen*

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
1	37	39.385	1.064	0.00026637
2	20	21.319	1.066	0.00034963
3	35	37.775	1.080	0.00026639
4 o más	28	30.13	1.076	0.00030992

*Análisis de varianza*

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>MC</i>	<i>Fc</i>	<i>Prob</i>	<i>Ft</i>
Entre grupos	0.00514985	3	0.00171662	5.91635635		2.68280941
Dentro de los grupos	0.03365714	116	0.00029015			
Total	0.03880699	119				

**Tabla 5.** Prueba de t para densidad entre vacas de primer y segundo parto

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	1	2
Media	1.064459459	1.06595
Varianza	0.000266366	0.00034963
Observaciones	37	20
Varianza agrupada	0.00029513	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	55	
		-
Estadístico t	0.312619231	
P(T<=t) dos colas		
Valor crítico de t (dos colas)	2.004044783	

**Tabla 6.** Prueba de t para densidad entre vacas de tres y cuatro o más partos

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	3	4 o más
Media	1.07928571	1.07607143
Varianza	0.00026639	0.00030992
Observaciones	35	28
Varianza agrupada	0.00028566	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	61	
Estadístico t	0.75007686	
P(T<=t) dos colas	0.4560918	
Valor crítico de t (dos colas)	1.99962358	

**Tabla 7.** Prueba de t para densidad entre vacas de dos y tres partos

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	2	3
Media	1.06595	1.079285714
Varianza	0.00034963	0.000266387
Observaciones	20	35
Varianza agrupada	0.00029623	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	53	
Estadístico t	-2.7642084	
P(T<=t) dos colas		
Valor crítico de t (dos colas)	2.005746	

**Tabla 8.** Prueba de t para concentración de leucocitos según tipo de parto

## Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

	<i>Asistido</i>	<i>Normal</i>
Media	306433.33	257261.90
Varianza	3.137E+10	1.5675E+10
Observaciones	15	105
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	16	
Estadístico t	1.03878773	
P(T<=t) dos colas		
Valor crítico de t (dos colas)	2.1199053	

**Tabla 9.** Prueba de t para densidad según tipo de parto

## Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Asistido</i>	<i>Normal</i>
Media	1.073	1.072
Varianza	0.00046381	0.00031057
Observaciones	15	105
Varianza agrupada	0.00032875	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	118	
Estadístico t	0.21122798	
P(T<=t) dos colas		
Valor crítico de t (dos colas)	1.98027225	

**Tabla 10.** Prueba de t para concentración de leucocitos según sexo del ternero

## Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Hembra</i>	<i>Macho</i>
Media	260387.50	270456.94
Varianza	19320744812	14141772450
Observaciones	84	36
Varianza agrupada	17784608942	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	118	
Estadístico t	-0.379038758	
P(T<=t) dos colas		0.705340265

**Tabla 11.** Prueba de t para densidad según sexo del ternero

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	<i>Hembra</i>	<i>Macho</i>
Media	1.072	1.072
Varianza	0.000313334	0.00036571
Observaciones	84	36
Varianza agrupada	0.00032887	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	118	
Estadístico t	0.029658633	
P(T<=t) dos colas		
Valor crítico de t (dos colas)	1.980272249	

**Tabla 12.** Análisis de varianza para concentración de leucocitos según sobrevida de los terneros

Análisis de varianza de un factor

*Resumen*

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Vivos	107	28052500	262172.90	1.7287E+10
Tratados	8	2329500	291187.50	2.6901E+10
Muertos	5	1227000	245400.00	1.8121E+10

*Análisis de varianza*

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>MC</i>	<i>Fc</i>	<i>Prob</i>	<i>Ft</i>
Entre grupos	7958271515	2	3979135757	0.22241696		3.0737629
Dentro de los grupos	2.0932E+12	117	1.789E+10			
Total	2.1011E+12	119				

**Tabla 13.** Análisis de varianza para densidad según sobrevida de los terneros

Análisis de varianza de un factor

*Resumen*

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Vivos	107	114.799	1.073	0.00030687

Tratados	8	8.475	1.059	0.0002817
Muertos	5	5.335	1.067	0.0007075

*Análisis de varianza*

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>MC</i>	<i>Fc</i>	<i>Prob</i>	<i>Ft</i>
Entre grupos	0.00147646	2	0.00073823	2.31373773	0.10339961	3.0737629
Dentro de los grupos	0.03733053	117	0.00031906			
Total	0.03880699	119				