

**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“UTILIZACIÓN DEL CALOSTRO PASTEURIZADO PARA LA CRIANZA DE
TERNEROS”**

por

**María Jimena D’AVIS VELAZQUEZ
Gonzalo Daniel AMÉRICO CHACON**

Tesis de grado presentada
como uno de los requisitos
para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2018**

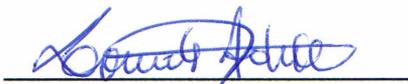
PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

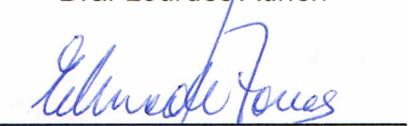
Presidente de mesa:


Dr. Germán Antúnez

Segundo miembro (Tutor):


Dra. Lourdes Adrien

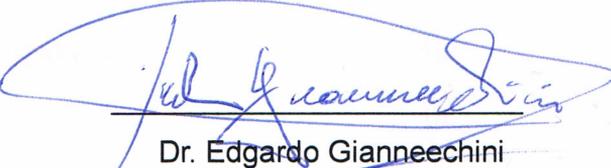
Tercer miembro:


Dra. Elena de Torres

Cuarto miembro (Co- tutor):


Dr. José Eduardo Blanc

Quinto miembro (Co- tutor):


Dr. Edgardo Giannechini

Fecha: 19/12/2018

Autor:


María Jimena D'Avis Velázquez

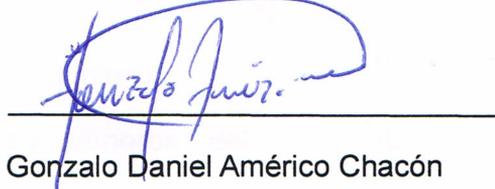

Gonzalo Daniel Américo Chacón

TABLA DE CONTENIDO	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN	8
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 TERNERO AL NACIMIENTO	9
2.2 CALOSTRO	9
2.3 FACTORES QUE AFECTAN LA TRANSFERENCIA DE INMUNIDAD PASIVA	11
2.3.1 Cantidad de calostro suministrado	11
2.3.2 Calidad de calostro	11
2.3.3 Momento en que se suministra el calostro	13
2.4 RECOLECCIÓN DEL CALOSTRO	14
2.5 PASTEURIZACIÓN	14
3. HIPÓTESIS	17
4. OBJETIVOS	17
4.1 Objetivo general	17
4.2 Objetivos específicos	17
5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1 Lugar físico de desarrollo del trabajo	18
5.2 Diseño experimental, animales y período experimental	18
5.3 Manejo preparto del establecimiento	19
5.4 Sistema de crianza de terneros del establecimiento	19

5.5	Recolección del calostro y pasteurización	19
5.6	Determinaciones en suero sanguíneo	20
5.7	Análisis estadístico	20
6.	RESULTADOS	21
6.1	Recuento bacteriano	21
6.2	Evaluación del proceso del calostrado	21
6.2.1	Concentración de proteínas totales	21
6.2.2	Concentración de globulinas	22
6.2.3	Concentración de albúmina	22
7.	DISCUSIÓN	23
8.	CONCLUSIONES	26
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	27

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1: Características y composición química del calostro y leche de ganado Holstein	10
Cuadro 2: Clasificación de la calidad de calostro.	13
Cuadro 3: Carga bacteriana en muestras de calostro antes y después de la pasteurización.	15
Cuadro 4: Recuento bacteriano total del calostro pasteurizado y sin pasteurizar	21
Cuadro 5: Concentración de proteínas totales en suero de terneros calostrados con calostro pasteurizado o no	21
Cuadro 6: Concentración de globulinas(g/l) en suero de terneros	22
Cuadro 7: Concentración de albúmina (g/l) en el suero de los terneros	22

RESUMEN

En este trabajo los objetivos fueron evaluar la carga bacteriana (UFC/ml) del calostro antes y después del proceso de pasteurización a 60°C por 60 minutos y posteriormente evaluar la transferencia de inmunidad pasiva a través de la medición de proteínas totales y albumina en el suero de los terneros alimentados con el calostro pasteurizado y sin pasteurizar. Para esto se utilizaron terneros de la raza Holando, que fueron asignados al azar, a dos tratamientos. Los tratamientos fueron: Grupo control alimentado con calostro sin pasteurizar (No pasteurizado, n=40) y otro grupo de terneros alimentados con calostro pasteurizado a 60 °C por 60 minutos (Pasteurizado, n=40). El calostro se obtuvo de vacas multíparas, realizándose un pool de calostro de varias vacas, luego fue pasteurizado o no (dependiendo del tratamiento) y se almacenó, fraccionado en recipientes de 2L, a temperatura de -20°C. Los terneros fueron separados inmediatamente después del parto de sus madres y fueron identificados. Previo al calostrado artificial y a los 4 días de vida, se obtuvieron muestras de sangre de la yugular. En el suero obtenido, se evaluó la concentración de proteínas totales (PT) y albúmina en el laboratorio. La pasteurización del calostro redujo el recuento bacteriano total ($p < 0,0001$). El recuento bacteriano total (UFC/ml) en el calostro pasteurizado fue de $1714 \pm 1,7$ y el recuento bacteriano total en calostro sin pasteurizar fue de $155096 \pm 1,5$. El tratamiento no afectó la concentración de proteínas totales en el suero de los terneros calostrados con calostro pasteurizado ($p=0,31$). El calostro sin pasteurizar alcanzó niveles altos de contaminación, lo que puede comprometer la salud de los terneros alimentados.

SUMMARY

This study aimed at to evaluating the number of bacteria (UFC/ml) in the colostrum before and after pasteurization at 60°C for 60 min, and to evaluating the passive immunization transfer to the calves by measuring the proteins and albumin in the serum of the calves which were fed with pasteurized colostrum and with unpasteurized colostrum. For this study, we used Holstein calves. Those calves were selected randomly, in two groups. The treatment was: the control group were fed with unpasteurized colostrum (unpasteurized n=40), the other group were fed with pasteurized colostrum at 60°C for 60 min (pasteurized n=40). The colostrum was collected from multiparous cows, making a pool of colostrum from several cows, then pasteurized or not (depending on the treatment) and was stored, fractionated in 2 L containers, at -20°C. The calves were removed from the dam immediately after birth and were identified. Before the artificial feeding and before the 4th day of life, blood samples were collected from the jugular vein. In the collected serum the concentration of total protein (TP) and albumin was determined in the laboratory. The colostrum pasteurization decreased the total bacterial count ($p < 0.0001$). The total bacterial count (UFC/ml) in pasteurized colostrum was 1714 ± 1.7 and the total bacterial count in unpasteurized colostrum was 155096 ± 1.5 . The treatment did not affect the concentration of total protein in the calves' serum fed with pasteurized colostrum ($p = 0.31$). The unpasteurized colostrum reached higher levels of contamination, which can compromise the health of the calves.

1. INTRODUCCIÓN

La salud de las terneras en establecimientos lecheros es de suma importancia ya que estos necesitan abastecer un número adecuado de remplazos en el rodeo lechero. La crianza de estas terneras tiene siempre como objetivo tener una ternera saludable con una excelente vida productiva. La sobrevida de estas terneras en el periodo neonatal depende de una combinación de factores de manejo, ambientales, nutricionales, inmunológicos y sanitarios. Brindarles alimento de buena calidad es un punto fundamental, su primer alimento, el calostro con bajo recuento bacteriano y con buena composición, les brindara la inmunidad necesaria para sobrevivir. El método de pasteurización puede ayudar a disminuir el recuento bacteriano tanto en el calostro como en la leche (González et al., 2014).

Estudiar los porcentajes de mortalidad en los establecimientos nos puede brindar algunos datos para determinar y realizar protocolos de trabajo.

En los establecimientos lecheros del Uruguay se desconoce la tasa de mortalidad neonatal general anual, aunque en los últimos años se han dado a conocer algunos datos.

En Argentina, en un relevamiento en establecimientos que en su mayoría estaban incluidos en el Programa Cambio Rural y que poseían en promedio 132 vacas totales en producción, con rango de 22 a 462 vacas, durante el periodo junio 2009 y julio 2012, se evaluaron 3440 terneros nacidos y 3072 terneros que ingresaron a las "guacheras". La mortalidad al parto llegó a 6,0% de los terneros nacidos, siendo en su mayoría muertes causadas por problemas de parto (distocias) y un 4,1% de mortalidad durante la cría artificial (Ruiz, 2012).

En una encuesta liderada por INIA a 250 establecimientos lecheros seleccionados por sorteo de los departamentos de Colonia, San José, Florida, Canelones, Río Negro y Paysandú, durante el ejercicio 2013-2014 el porcentaje de mortalidad en el periodo perinatal fue de 7,4 % y 10,8 % durante el periodo de cría hasta el desleche (Riet-Correa y Restaino, 2015).

Datos del grupo CREA en Uruguay en el año 2016 revelan que el porcentaje de mortalidad en terneras en la primera semana de vida es de 0,65 % y en la segunda semana es de 2,07%.

Según registros obtenidos en el Establecimiento del estudio desde el año 2013 al 2018 con un promedio de partos anual de 457 vacas ocurridos entre febrero y setiembre se tiene un promedio de mortalidad de un 10,6 % (Comunicación personal Jimena D´Avis).

En el Grupo CREA Horizonte del departamento de Rio Negro el promedio de mortalidad de terneros de los establecimientos que lo forman durante el ejercicio

2017-2018 es de un 15,8%. Lo cual es un dato más alto de lo que se venía dando años anteriores (Grupo Horizonte, Rio Negro).

Conocer el porcentaje de mortalidad en la crianza, es un punto de partida para poder evaluar la manera de reducir esta tasa y de mejorar la sobrevivencia de los terneros, obteniendo en los establecimientos una mayor eficiencia productiva. Permite detectar sobre qué factores se debe trabajar para prevenir pérdidas.

Uno de los principales puntos en la sobrevivencia de los terneros es el calostro para asegurar una adecuada transferencia de inmunidad pasiva en las terneras, administrar una cantidad adecuada de calostro de buena calidad durante las primeras horas de vida (Stott et al., 1979 a,b; Stott y Fellah, 1983). Para mejorar su calidad disminuyendo el recuento bacteriano y sin afectar las inmunoglobulinas (IG) se puede procesar el calostro mediante la pasteurización a 60° por 60 minutos (González et al., 2014). El calostro es la primera fuente de nutrientes para la ternera después del nacimiento y es además una fuente importante de IG o anticuerpos, cuya absorción es esencial para proteger a las terneras contra infecciones entéricas, las cuáles son la razón principal de mortalidad durante las primeras semanas de vida (Wells et al., 1996)

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 TERNERO AL NACIMIENTO

El ternero nace agamaglobulinémico por lo que depende enteramente de la absorción de inmunoglobulinas (IG) maternas después del parto. La absorción de IG maternas a través del intestino durante las primeras 24 horas de vida, llamada transferencia pasiva, ayuda al ternero contra enfermedades, hasta que su propio sistema inmune comience a funcionar en forma plena (Barrington, 2001).

Un ternero se define con fallas en la transferencia pasiva cuando su suero contiene menos de 10 mg/ml de IG entre las 24 y 72 hs de vida. Lograr un temprano y adecuado suministro de calostro de buena calidad es el factor simplemente más importante que determina la salud y supervivencia del ternero. Además de reducir los riesgos de morbilidad y de mortalidad en la crianza del ternero lactante, una adecuada transferencia de inmunidad pasiva adiciona beneficios a largo tiempo, como serían la reducción de la mortalidad después del desleche, incrementar la ganancia de peso y eficiencia del consumo, reducir la edad al primer parto, mejorar la producción de leche en la primera y segunda lactancia, y reducir la tendencia del descarte durante la primera lactancia (Robinson et al., 1988; Faber et al., 2005) .

2.2 CALOSTRO

El calostro bovino consiste en una mezcla de secreciones lácteas y componentes del suero sanguíneo, IG y otras proteínas del suero, las cuales se acumulan en la glándula mamaria durante el parto en el periodo seco (Foley et al., 1978). Este proceso comienza muchas semanas antes del parto, bajo influencia de hormonas lactogénicas, incluida prolactina y cesa abruptamente al parto (Godden, 2008).

El calostro contiene IG, leucocitos maternos, factor de crecimiento, hormonas, citosinas, factores antimicrobianos no específicos y nutrientes. Las concentraciones de estos componentes son muy altas en la primera secreción después del parto (el primer calostro ordeñado), luego comienza a declinar a través de los próximos seis ordeños (leche en transición) hasta llegar a las concentraciones medidas rutinariamente en la leche (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características y composición química del calostro y leche de ganado Holstein (tomado de Godden, 2008).

	Calostro	Leche de transición		Leche entra
	1er ordeño	2º ordeño	3er ordeño	6º ordeño
Densidad relativa	1,056	1,045	1,035	1,032
Sólidos totales, %	23,9	17,9	14,1	12,9
Grasa, %	6,7	5,4	3,9	4
Proteína total, %	14	8,4	5,1	3,1
Caseínas, %	4,8	4,3	3,8	2,5
Inmunoglobulinas, %	6	4,2	2,4	0,09
IgG, g/Dl	3,2	2,5	1,5	0,06
Lactosa, %	2,7	3,9	4,4	5
IGF-I, µg/l	341	242	144	15
Insulina, µg/l	65,9	34,8	15,8	1,1
Minerales, %	1,11	0,95	0,87	0,74
Calcio, %	0,26	0,15	0,15	0,13
Magnesio, %	0,04	0,01	0,01	0,01
Zinc, mg/100 ml	1,22	-	0,62	0,3
Manganeso, mg/100 ml	0,02	-	0,01	0,004
Hierro, mg/100 g	0,2	-	-	0,05
Cobalto, µg/100 g	0,5	-	-	0,1
Vitamina A, µg/100 ml	295	190	113	34
Vitamina E, µg/g de grasa	84	76	56	15
Riboflavina, µg/ml	4,83	2,71	1,85	1,47
Vitamina B12, µg/100 ml	4,9	-	2,5	0,6
Ácido fólico, µg/100 ml	0,8	-	-	0,2
Colina, mg/ml	0,7	0,34	0,23	0,13

El sistema inmune del ternero recién nacido no posee la capacidad de producir suficientes IG, por lo que el calostro es el que provee al ternero su protección inmunológica durante las primeras semanas de vida. (Nousiainen et al., 1994). El calostro normal contiene más de 1×10^6 células/ml inmunológicamente activos, incluyendo linfocitos T y B, neutrófilos, macrófagos, factores de crecimiento y hormonas como la insulina, el cortisol e IGF-1 (Le Jan 1996; Larson et al., 1980; Godden, 2008).

Al menos unas porciones de leucocitos maternos son absorbidos intactos a través de la barrera intestinal (Schnorr et al., 1984). Alguna evidencia sugiere que los leucocitos del calostro incrementan una respuesta linfocítica a una mitogénesis no específica, incrementa la fagocitosis, la habilidad para matar bacterias y estimular la respuesta inmunológica humoral (formación de IG) en el ternero (Reidel- Caspari 1993; Le Jan et al., 1996; Donovan et al., 2007).

La lactoferrina, lisozima y lacto-peroxidasa se encuentran en el calostro con actividad antimicrobiana (Pakkanen et al., 1997; Elfstrand et al., 2002). Los oligosacáridos en el calostro protegen contra patógenos actuando como inhibidores competitivos en la superficie del epitelio intestinal (Przybylska et al., 2007).

El total de sólidos en el primer calostro y en la leche entera de vacas Holstein ha sido reportado en 23,9 % y 12,9% respectivamente (cuadro 1; Godden, 2008). El incremento en el contenido de sólidos en el calostro se da por el mayor contenido de proteínas, esto sería por un incremento en IG y en caseínas (Davis y Drackley, 1998). El contenido de grasa en el primer calostro (6,7%) es significativamente alta comparada con la leche entera (3,6%) (Foley et al., 1978). La energía dada por la grasa y la lactosa en el calostro es fundamental para la termogénesis y regulación de temperatura corporal (Godden, 2008).

2.3 FACTORES QUE AFECTAN LA TRANSFERENCIA DE INMUNIDAD PASIVA

2.3.1 Cantidad de calostro suministrado

Para lograr una buena transferencia pasiva de inmunidad en un ternero promedio de 43 Kg de la raza Holstein, se calcula que el mínimo que debería tomar el ternero sería 100 g de IG en el primer consumo de calostro (Davis y Drackley, 1998). La cantidad dependerá de la calidad del calostro, la cantidad de IG que contenga el primer calostro. La IgG compone más del 85 % del total de IG en calostro. Un calostro de alta calidad tendría una concentración mayor a 50 g/l de IgG (McGuirk et al., 2004).

Como los productores frecuentemente no conocen la concentración de IgG del calostro que va a ser utilizado, es recomendado alimentar a los terneros con el 10% o 12% del peso vivo de calostro en la primera toma (3,78 l para un ternero de 43 Kg). En un estudio se vio que la concentración en suero de IgG a las 24 horas fue significativamente mayor en terneros alimentados con 4 litros de un calostro de alta calidad a las 0 horas de nacido y 2 litros a las 12 horas (31,1 mg/ml IgG) en comparación con terneros alimentados solo con 2 litros de calostro a las 0 horas y 2 litros a las 12 horas (23,5 mg/ml) (Morin et al., 1997).

2.3.2 Calidad del calostro

Algunos factores podrían afectar la calidad del calostro como la raza, vacunaciones en el parto, largo del periodo seco y el tiempo de la colección del calostro.

Estudios muestran que la edad de la madre no sería un factor que afectara la calidad de calostro (Tyler et al., 1999) y la nutrición de la vaca en parto tampoco afectaría la concentración de IG en el calostro (Blecha et al., 1981).

El periodo seco de la vaca afectaría tanto la calidad como el volumen producido (Grusenmeyer et al., 2006). Un periodo excesivamente corto o sin periodo seco, produce un calostro con muy baja concentración de IgG (Rastani et al., 2005).

Algunos estudios plantean que la exposición de la vaca en el último periodo de gestación a altas temperaturas está asociada con pobre composición del calostro, esto significa bajo porcentaje de IgG, IgA y bajo porcentaje de proteínas, caseínas, lacto albúminas, grasa y lactosa (Nardone et al., 1997).

Con respecto al momento del ordeño del calostro, la concentración máxima de IG en el calostro es inmediatamente después del parto, y comienza a declinar si el ordeño se retrasa. En un estudio se retrasó el ordeño en 6 horas, 10 horas y 14 horas después del parto resultando en 17%, 27% y 33% de disminución en la concentración de IgG en el calostro respectivamente (Moore et al., 2005).

Existen métodos para evaluar indirectamente la calidad del calostro o su concentración de IgG en condiciones de campo. A continuación, revisaremos algunos de estos métodos:

- **Apreciación visual:**

Es la forma más simple, pero menos objetiva, de evaluar la calidad del calostro. Los calostros de buena calidad generalmente son cremosos, homogéneos, de color amarillo intenso y sin presencia de sangre o grumos. Este método no permite estimar la concentración de IgG en el calostro.

- **Densidad relativa:**

Se determina con el uso de un calostrómetro o densímetro, siendo una medición rápida y de muy bajo costo. Se considera que un calostro es de alta calidad (> 50 g/l

de IgG) si tiene una densidad relativa mayor a 1,050 (Morin et al., 2001). Algunos densímetros ya tienen una escala con la conversión del valor de densidad a concentración de IgG, correspondiéndose los valores mayores a 50 g/l con el color verde de la escala. La lectura de la densidad varía según la temperatura del calostro, debiéndose realizar a temperatura ambiente cercana a 20°C. Si la lectura se hace a temperaturas menores a 20°C, se tiende a sobreestimar la calidad del calostro, y viceversa (Mechor et al., 1992). Este instrumento, cuando se utiliza en condiciones de campo, está sujeto a una variedad de factores ambientales y diferentes temperaturas. Los fabricantes recomiendan su uso a una temperatura estándar de 22°C. El calostrómetro no es un instrumento de alta precisión, pero, permite estimar la calidad del calostro antes de ser otorgado a las terneras y poder así disminuir el riesgo de un fracaso en la transferencia de inmunidad pasiva, debido al uso de un calostro de baja calidad (Fleenor, 1980).

Metodología para medir la densidad del calostro:

1. Tomar una muestra de 500 ml de calostro, recién ordeñado de la vaca.
2. Ponerlo en un recipiente limpio.
3. Llevarlo 22°C.
4. Asegurarse de que el calostro no tenga espuma encima.
5. Colocar el calostrómetro dentro del recipiente. Al realizar la medición debe mantenerse flotando en la muestra. Esperar hasta que el calostrómetro se estabilice para realizar la lectura (3 minutos aproximadamente).
6. Leer el resultado en función del color (Cuadro 2)

Cuadro 2. Clasificación de la calidad de calostro

Clasificación	Color	Concentración IG g/l
Superior	Verde	101-125
Medio	Amarillo	51-100
Inferior	Rojo	25-50

- Refractometría:

Se utilizan refractómetros portátiles, tanto ópticos como digitales, que miden grados Brix, los cuales estiman indirectamente la concentración de IgG en el calostro. En calostros de vacas de raza Holstein, una lectura de 21-22° Brix se corresponde con concentraciones de IgG mayores a 50 g/l (Bielmann et al., 2010).

El refractómetro permite medir el estado inmune de la ternera recién nacida a través del suero sanguíneo a nivel de campo, estima la concentración de proteína total en el suero sanguíneo de la ternera. A pesar de la rapidez en su determinación, la

principal desventaja de esta técnica es su incapacidad para detectar o predecir tempranamente una falla en la transferencia de la inmunidad pasiva a causa de la insuficiente ingesta de IG. Esto se debe principalmente a que la muestra de sangre se debe sacar entre las 24 y 48 horas de vida de la ternera, por lo cual a esa hora ya ha ocurrido el cierre de la mucosa intestinal de la ternera.

2.3.3 Momento en que se suministra el calostro

El momento en que se suministra el calostro tiene un efecto marcado sobre la eficiencia aparente de absorción de IgG y por lo tanto sobre la transferencia pasiva de inmunidad. La eficiencia aparente de absorción se estima de forma práctica de la siguiente forma: $[\text{IgG en plasma (g/l)} \times \text{volumen de plasma (l)}] / \text{consumo de IgG (g)}$. Para lograr una buena eficiencia de absorción de IgG, el calostro debe ser ingerido en las primeras 3 a 6 horas de vida, y no más allá de las 12 horas, ya que luego de este período las IG son degradadas por las secreciones digestivas del ternero, y la pared intestinal se vuelve relativamente impermeable a la absorción de macromoléculas intactas, como la IgG (“cierre de la permeabilidad intestinal”). La eficiencia aparente de absorción declina a razón de 0,66% por cada hora de atraso. También es de destacar que, en el mejor de los casos, la eficiencia aparente de absorción no supera el 25 a 27% (Osaka et al., 2014), es decir, la absorción de IgG es naturalmente un proceso poco eficiente.

Cuanto antes se suministre el calostro al ternero mayor será la eficiencia de absorción de IgG hacia la circulación sanguínea, y por ende mayores las chances de lograr una transferencia pasiva de inmunidad exitosa

2.4 RECOLECCIÓN DEL CALOSTRO

El manejo del calostro es simplemente el factor más importante que determina la supervivencia y salud del ternero.

Un exitoso programa del manejo del calostro requiere que se le ofrezca al ternero un volumen suficiente de calostro, limpio, de alta calidad en sus primeras horas de vida.

Se sabe que el calostro puede ser un importante vector para muchas enfermedades causadas por patógenos, como *Mycobacterium avium* paratuberculosis (el organismo que causa la enfermedad de Johnes), *Salmonella*, *Mycoplasma*, *Listeria*, *E. coli* y otros (Domínguez 1997; Stabel 2004). Para reducir el riesgo de infecciones en los terneros recién nacidos con calostros contaminados puede realizar la pasteurización del calostro previo alimentar al ternero.

Las distintas bacterias presentes en el calostro pueden afectar la absorción de IG a nivel intestinal y causar enfermedades a terneros (James et al., 1981). Por este motivo se debe tener particular cuidado en recolectar y manipular calostro en recipientes limpios y desinfectados, para minimizar la contaminación bacteriana. Es recomendable que el calostro tenga un recuento bacteriano total menor a 100.000

unidades formadoras de colonias (UFC) por ml, y un recuento total de coliformes menor a 10.000 unidades formadoras de colonias por ml (McGuirk et al., 2004).

El calostro se debe refrigerar a 4°C o menos o congelar no más allá de 1 hora luego de obtenido (Godden et al., 2009).

2.5 PASTEURIZACIÓN

La pasteurización es un método donde se expone el líquido a elevada temperatura por un período de tiempo con el fin de reducir la contaminación de bacterias.

Pasteurización no es esterilización, la leche pasteurizada contiene cierto nivel de bacterias.

Hay dos tipos de pasteurización en la leche según Quigley (2003) una a altas temperaturas por corto tiempo (HTST) 72°C por 15 segundos y otra donde la leche se calienta a 63°C por 30 minutos. El problema es que si se aplican estos tipos de pasteurización al calostro hay destrucción de proteínas especialmente la inmunoglobulina. Godden et al., (2003) reportó que con la pasteurización a 63°C por 30 minutos se redujo la IgG en un promedio de 26,2%.

Meylan et al., (1995) también vio una reducción de IgG en más de un 12% en calostros pasteurizados.

Según un estudio realizado por González et al., 2014 la pasteurización de calostro bovino a 60° por 60 min redujo la cantidad de bacterias presentes en el calostro sin afectar la transferencia de inmunidad (Cuadro 3).

Cuadro 3. Carga bacteriana en muestras de calostro antes y después de la pasteurización (González et al., 2014).

Lote de pasteurización	Coliformes Totales UFC 100ml ⁻¹		Coliformes Fecales UFC 100ml ⁻¹	
	Antes	Después	Antes	Después
1	167	2	163	0
2	250	0	112	1
3	12	6	8	0
4	37	4	16	1
5	83	5	4	3
Significancia	P<0,01		P <0,01	

Otro trabajo realizado por Elizondo-Salazar y Heinrich (2009) concluye que la pasterización a 60 °C por 30 min reduce la concentración de bacterias y preserva la concentración de IgG, y que además el calostro con alta concentración de bacterias no interfirió en la absorción de IgG.

Algunos de los patógenos que pueden estar presentes en el calostro, ya sea provenientes de la glándula mamaria o de la contaminación en el manejo de este y que pueden ser transmitidos a las terneras incluyen: *Mycobacterium avium* spp, *Mycobacterium Paratuberculosis*, *Salmonella* spp, *Mycoplasma* spp, *Listeria monocytogens*, *Campylobacter* spp., *Mycobacterium bovis* y *Escherichia coli* (Domínguez 1997; Stabel 2004).

Stabel (2001) determinó que la pasteurización del calostro fue efectiva para la destrucción del *M. paratuberculosis*, pero redujo en un 25% las IG.

Según Godden et al. (2006), donde muestras de calostro contaminadas fueron pasteurizadas a 60°C por 120 min, determinó que *Mycoplasma bovis*, *E.coli*, *L. monocytogens* y *Salmonella enteritidis* no fueron detectadas después de 30 min de pasteurización.

Muchos de los estudios utilizan la IgG como indicador molecular para determinar el grado de daño que causa la pasteurización. Sin embargo, hay otras proteínas en el calostro que pueden ser dañadas al ser expuestas al calor. Estudios alemanes (Steinbach et al., 1981) reportan que el calentamiento del calostro a 55° C por 30 min no afecta la IgG ni la IgM; sin embargo, calentando a 60°C por 10 min reduce dramáticamente la IgM.

3. HIPÓTESIS

La pasteurización a 60 °C, durante 60 minutos, disminuye el recuento bacteriano en el calostro y no afecta la transferencia pasiva de inmunidad a los terneros.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Estudiar la carga bacteriana del calostro antes y después del proceso de pasteurización y posteriormente evaluar la transferencia de inmunidad de los terneros alimentados con el mismo.

4.2 Objetivos específicos:

- Estudiar el proceso de pasteurización del calostro a través del recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por ml de calostro, antes y después de la pasteurización a 60°C durante 60 minutos.
- Evaluar el proceso de calostrado en los terneros a través de la medición de las proteínas totales en el suero sanguíneo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Experimentación y Uso de Animales de la Facultad de Veterinaria (CEUAFVET-401).

5.1 Lugar físico de desarrollo del trabajo

El trabajo de campo se llevó a cabo en el establecimiento lechero “La Magdalena” en el Departamento de Rio Negro, Ruta 25, Km 16.

Los análisis de metabolitos sanguíneos se desarrollaron en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal De Facultad de Veterinaria, Sede Paysandú, EEMAC.

El recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de las muestras de calostro se realizó en el Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE “Miguel C. Rubino”.

5.2 Diseño experimental, animales y período experimental

Los partos en el establecimiento ocurrieron en un período que fue desde febrero hasta agosto del año 2015. Para este ensayo se incluyeron 80 terneros. Se realizó una guardia de partos, vigilando la posible ocurrencia de partos distócicos y separando los terneros inmediatamente luego del nacimiento, para evitar de este modo que el ternero ingiriera calostro directamente desde la madre. Se identificaron los terneros y se registraron el número de la madre y el número del ternero.

Los terneros nacidos fueron distribuidos al azar en dos tratamientos que consistieron en:

- Calostro Pasteurizado (CP): administración de pool de calostro pasteurizado a 60°C durante 60 min.
- Calostro No Pasteurizado (CNP): administración de pool de calostro no pasteurizado.

Cada tratamiento incluyó 40 terneros de la raza Holando, machos y hembras (fueron aproximadamente 50% machos y 50% hembras indiferentemente en cada tratamiento).

Previo al suministro de calostro se extrajo una muestra de sangre desde la vena yugular. Las muestras fueron obtenidas en tubos sin anticoagulante. Una vez formado el coagulo, se centrifugaron a 3000RPM y el suero sanguíneo fue conservado a -20°C hasta posterior análisis. Este procedimiento se volvió a realizar a los 3 - 4 días de nacido. Por lo que se obtuvieron dos muestras de sangre de cada ternero en el ensayo, una previo calostrado, y otra a los 3-4 días de vida. Los sueros congelados se enviaron a laboratorio para posterior análisis.

Se alimentaron los terneros vía mamadera, o sonda gástrica si era necesario, con un pool de calostro colectado bajo medidas protocolares, con dos tomas de 2 litros

cada una. La primera administración se realizó antes de las 2 horas de nacido y una segunda antes de las 12 horas de nacido.

El calostro utilizado se comenzó a coleccionar desde el día cero, tomando como día cero el primer día que comenzaron a parir. De esta manera se obtuvo un pool de calostro pasteurizado y sin pasteurizar de calidad para cuando se comenzaran a obtener los terneros del ensayo. Se determinó la calidad del calostro utilizando calostrómetro, estandarizando la temperatura del calostro a 20°C para realizar las mediciones. Solo se utilizaban los calostros con lecturas de densidad relativa mayores a 1.046.

Se almacenaron en botellas de 2 litros identificadas pasteurizadas y no pasteurizadas para ser utilizadas a lo largo del ensayo. Estas se descongelaron a baño maría a 35°C.

5.3 Manejo preparto del establecimiento

Con respecto a las vacas gestantes en el establecimiento se realiza un periodo seco de 60 días. En los últimos 20 a 30 días de gestación las vacas se apartan y pasan a estar en potreros a la vista del personal, donde además comienzan a ingerir una dieta balanceada preparto con sales aniónicas y heno de avena *ad libitum*. En el periodo preparto, las vacas son vigiladas durante las 24 hs del día.

5.4 Sistema de crianza de terneros del establecimiento

El sistema de crianza utilizado en el establecimiento es a estaca individual durante los primeros diez días de vida y luego los terneros pasan a un sistema de crianza colectiva.

Los terneros son identificados al momento del parto y llevados a la estaca, donde tienen sombra. El calostrado de los terneros se realiza de acuerdo con lo mencionado en el ítem anterior. Luego del calostrado, se le comienza a dar 5L de leche pasteurizada, administrada en dos tomas diarias. A medida que pasan los días, se va aumentando progresivamente el volumen hasta llegar a los 8L diarios (en dos administraciones) por ternero.

A los 10 días aproximadamente se colocan en corrales colectivos en lotes de entre 10 y 15 terneros de la misma edad y tamaño, la leche se da en bateas y se administra ración y fardo de paja *ad libitum*. La cría se realiza hasta los 90 días o hasta los 120 Kg. Luego se continúa solo a fardo de alfalfa y ración por un tiempo aproximado de 2 meses.

5.5 Recolección del calostro y pasteurización

Para la pasteurización y distribución de la leche en el establecimiento se utiliza un pasteurizador "H & L Milk taxi 3.0" autopropulsado con dosificador automático, de 260 l de capacidad. Este pasteuriza la leche a 65 °C por 35 minutos y luego por

programación, calienta la leche a 37°C para alimentar los terneros a la hora deseada.

Para el ensayo se utilizó este pasteurizador para realizar la pasteurización a 60°C por 60 minutos. Por recomendaciones del fabricante, no se puede colocar calostro directamente en el tanque del pasteurizador, por lo que se colocó el calostro obtenido en botellas descartables de 2 litros y se realizó la pasteurización en el baño maría.

Las vacas y vaquillonas paridas en el día se llevan al ordeño, en la fosa se identifican y se les revisan los primeros chorros de leche para detectar mastitis o sangre. Las vacas o vaquillonas con estas afecciones quedaron fuera del ensayo. Solo se utilizó el calostro que a simple vista fuera de calidad aceptable. Luego se ordeñó el calostro en tachos de 40 litros previamente desinfectados con ácido peracético al 5 %.

De este pool de calostro se obtuvo una muestra para determinar calidad a través de calostrómetro. Se estandarizó la temperatura a 20°C para efectuar la lectura. Solo se utilizó el calostro con lecturas mayor a 1046. De esta manera se obtuvo el calostro para ser utilizado en el ensayo. Una vez determinada su calidad se tomó una muestra para ser enviada refrigerada a laboratorio para analizar recuento bacteriano. Luego de la pasteurización se volvió a tomar muestra para ser enviada refrigerada a laboratorio para analizar recuento bacteriano. En total se enviaron a laboratorio 26 muestras de calostro para ser analizadas.

El calostro pasteurizado y sin pasteurizar se almacenó en botellas de 2 litros a -20°C, identificados y con fecha.

Todo el calostro que se administró, se descongeló a baño maría a 35°C, para no dañar los componentes de este.

De las muestras enviadas al laboratorio de calostro pasteurizado y sin pasteurizar, se determinó la carga bacteriana por recuento de bacterias viables en placa (Mandigan et al., 2003). La misma se determinó, por la siembra en superficie de placas de Agar para recuento bacteriano (Plate Agar Count, OXOID) de diluciones sucesivas en base 10. Se realizaron diluciones de 1/10 a 1/10000 por duplicado se siembran 0,1ml de las diferentes muestras de calostro en las placas del Agar para recuento, utilizando aquella que presentan un conteo entre 30 y 300 UFC, el número de estas se multiplicaron por 10 y luego por el factor de dilución para determinar la carga bacteriana en 1ml del calostro.

5.6 Determinaciones en suero sanguíneo

En las muestras de suero sanguíneo se analizó la concentración de proteínas totales y albúmina en el equipo Vitalab Selectra 2, del Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de Facultad de Veterinaria, Sede Paysandú, EEMAC. Se utilizaron los kits reactivos del laboratorio Wiener Lab Albúmina AA y Proteínas

Totales AA. Como control se utilizó el control del mismo laboratorio (Standatrol S-E 2 niveles). El coeficiente intra e inter-ensayo fue menor a 5%. La concentración de globulinas se estimó restando la concentración de proteínas totales, la concentración de albúmina.

5.7 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico del SAS (versión 9.2 2008). Se analizó la concentración de proteínas totales, albúmina y globulinas, antes y después del calostrado, considerando estas variables como repetidas en el tiempo. Se utilizó un modelo mixto, que incluyó como efectos fijos el tratamiento y el momento de extracción de sangre (antes y después del calostrado). El calostro fue evaluado utilizando un modelo binominal, con o sin pasteurización. El nivel de significancia fue $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1 Recuento bacteriano

La pasteurización del calostro redujo el recuento bacteriano total ($p < 0,0001$). En el cuadro 4 se presenta el recuento bacteriano total promedio del calostro pasteurizado y sin pasteurizar de un total de 26 muestras.

Cuadro 4: Recuento bacteriano total del calostro pasteurizado y sin pasteurizar

TRATAMIENTO	RECuento BACTERIANO TOTAL (UFC/mL)
PASTEURIZADO	1714±2 b
NO PASTEURIZADO	155096±2 a

Letras distintas indican diferencia significativa entre los tratamientos.

6.2 Evaluación del proceso del calostrado

6.2.1 Concentración de proteínas totales

El tratamiento de pasteurización no afectó la concentración de proteínas totales en el suero de los terneros calostrados ($p=0,31$). La concentración de proteínas totales fue afectada por el momento de extracción de la muestra ($p < 0,0001$), es decir hubo menor concentración de proteínas totales precalostrado con relación a la concentración el día 4 de vida.

De las muestras enviadas al laboratorio se determinó la proporción de terneros que después de calostrados llegaron a tener una concentración de proteínas totales $>5,0$ g/L. De los terneros alimentados con calostro sin pasteurizar un 80% de estos estuvo por encima de 50 g/L de proteínas totales y un 96% de los terneros alimentados con calostro pasteurizado superó los 50 g/L de proteínas totales.

Un 43% de las muestras de suero de los terneros estuvo entre 45-55g/L de proteínas totales en las muestras tomadas previo calostrado y un 43 % estuvo entre 40 g/L-45g/L y el resto entre 30-40g/L de proteínas totales.

En el cuadro 5 se presenta la concentración media de las proteínas totales de los sueros de los terneros.

Cuadro 5. Concentración de proteínas totales en suero de terneros calostrados con calostro pasteurizado o no.

PROTEINAS TOTALES (g/L)		
TRATAMIENTO	PRECALOSTRADO	POST CALOSTRADO
PASTEURIZADO	50±2 b	62±2 a
NO PASTEURIZADO	48±1 b	61±1 a

Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las columnas

6.2.2 Concentración de Globulinas

El tratamiento no afectó la concentración de globulinas en el suero de los terneros calostrados (Cuadro 6) y tampoco hubo interacción entre tratamiento*momento ($p=0,83$). La concentración de globulinas fue afectada por el momento de extracción de la muestra ($p<0,0001$), es decir hubo menor concentración de globulina precalostrado con relación a la concentración el día 4 de vida.

Cuadro 6. Concentración de globulinas (g/L) en suero de terneros

Globulinas (g/L)		
TRATAMIENTO	PRECALOSTRADO	POST CALOSTRADO
PASTEURIZADO	21±1 b	34±1 a
NO PASTEURIZADO	20±1 b	33±1 a

Letras distintas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre las columnas

6.2.3 Concentración de albúmina

La pasteurización no afectó la concentración de albúmina en los terneros ($p=0,89$) (Cuadro 7) y tampoco hubo efecto del momento ($p=0,42$) de extracción de la muestra de sangre.

Cuadro 7. Concentración de albúmina (g/L) en el suero de los terneros

Albúmina (g/L)		
TRATAMIENTO	PRECALOSTRADO	POST CALOSTRADO
PASTEURIZADO	28±1 a	28,4±1 a
NO PASTEURIZADO	28±0,5 a	28,3±0,5 a

Letras distintas indican diferencia significativa entre las columnas

7. DISCUSION

El resultado observado en este trabajo con relación a la carga bacteriana en el calostro después del proceso de pasteurización, indican una reducción significativa en el número de bacterias presentes en el mismo y esta disminución puede influir en una mayor absorción de Ig. Las bacterias presentes en el calostro pueden unirse a los receptores no específicos en los enterocitos de los terneros recién nacidos, por lo tanto, la reducción del número de receptores disponibles para la absorción de Ig disminuye (Staley et al., 1985). Además, se pueden unir a las Ig libres en el lumen intestinal o bloquear directamente la entrada y el transporte de las moléculas de Ig a través de las células epiteliales intestinales, interfiriendo por tanto en la absorción pasiva de Ig del calostro (James et al., 1981).

Si bien en este trabajo no se identificaron las bacterias presentes en el calostro, es de suma importancia el efecto que tiene la pasteurización del calostro para el control de las enfermedades por el mismo transmitidas. Como es sabido, algunos de los patógenos que pueden estar presentes en el calostro y pueden ser transmitidos a los terneros por esta vía son *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Salmonella* spp, *Mycoplasma* spp, *Listeria monocytogenes*, *E. Coli*, *Campylobacter* spp y otros (Domínguez 1997; Stabel 2004; Stewart et al., 2005; Godden et al., 2006; McMartin 2006). La pasteurización del calostro y posteriormente de la leche, es una de las medidas de control para controlar estas enfermedades. En los tambos del Uruguay donde prevalece algunas de estas enfermedades es de suma importancia la utilización de esta herramienta para evitar que estos microorganismos lleguen al ternero por vía oral.

Además del control de las bacterias patógenas, la reducción del recuento bacteriano permite contar con un calostro de mejor calidad. En este trabajo se demostró que el calostro sin pasteurizar contenía un alto recuento bacteriano. Es recomendable que el calostro tenga un recuento bacteriano total menor a 100.000 UFC por ml, y un recuento total de coliformes menor a 10.000 UFC por ml (McGuirk et al., 2004). En este trabajo el calostro pasteurizado obtuvo $1714 \pm 1,7$ UFC/ml vs. $155096 \pm 1,5$ UFC/ml (no pasteurizado), por lo que la pasteurización a 60 °C por 60 minutos dio un buen resultado. González et al. (2014) determinaron también, que la pasteurización a 60°C por 60 minutos disminuyó el recuento de coliformes totales y coliformes fecales a una $p=0,05$ y no afectó la transferencia de inmunidad.

Johnson et al. (2007) estudió la pasteurización 60° por 60 minutos y obtuvo los mismos resultados en donde se obtuvo una reducción del recuento bacteriano y, además, las proteínas totales evaluadas en el suero del ternero no se vieron afectadas por el tratamiento térmico, así como tampoco se vieron afectadas la IgA, IgM, vitamina A, vitamina E, colesterol.

En este trabajo el calostro pasteurizado si bien contenía un recuento bacteriano significativamente menor al no pasteurizado, igual contenía determinada carga bacteriana. Esto nos determina que ese calostro pasteurizado debe ser utilizado inmediatamente, o almacenado en frío, para evitar la multiplicación de bacterias que puedan afectar la calidad de este. En este sentido, según Stewart et al. (2005), el primer punto de control para obtener calostro con baja carga bacteriana es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación. Además del tratamiento térmico, la refrigeración, congelación y el uso de preservantes como el sorbato de potasio en el calostro fresco previenen la proliferación bacteriana. Obteniendo calostros con menor carga bacteriana mediante buenas prácticas de manejo e higiene y determinando la calidad de este mediante la utilización de un calostrometro, se podrá determinar que calostro se puede utilizar para alimentar a los terneros y a su vez generar banco de calostro

El calostrómetro permite estimar la calidad del calostro basado en la densidad de este. Los calostros con una densidad superior a los 1035 ya son considerados buenos según Fleenor y Stott (1980) y calostros de 1055 o más, son excelentes.

Una vez pasteurizado el calostro se puede congelar y almacenar, hasta por un año, sin que pierda actividad o disminuya el contenido de IG (Davis y Drackley 1998).

La utilización de este calostro es de suma importancia para los terneros recién nacidos ya que estos nacen agamaglobulinémicos y la transferencia de inmunidad pasiva determinará la salud y supervivencia del ternero en sus primeros 15 días (Robinson et al., 1988; Faber et al., 2005). Los terneros a pesar de no tener IG al nacimiento son inmunocompetentes y producen aproximadamente 1gr de IgG1 por día endógenamente, el cual solo comienza a ser una defensa para el organismo después de 15 días de vida (Devery et al., 1979). A los 2 - 3 días de nacidos se puede realizar análisis con refractómetro para evaluar la transferencia de inmunidad pasiva en el ternero

La relación entre la proteína total del suero y la IgG cambia con la edad por lo que las mediciones se realizan en terneros de más de un día de nacidos y menos de 3 días de vida para asegurar que haya ocurrido la absorción de IgG en el intestino del ternero (Quigley 1999). Debido a que las IG constituyen una gran proporción de las proteínas en el suero del ternero neonato y la concentración de proteínas que no son inmunoglobulinas en el suero del ternero son relativamente constantes, el refractómetro provee una representación cercana de la concentración de inmunoglobulinas séricas (Calloway et al., 2002). Estos últimos autores establecen que valores mayores a 5 o 5,2 g/dl tienen una exitosa transferencia de inmunidad pasiva. Terneros con proteína sérica entre 5,0 y 5,4 g/dl se consideran con una transferencia incompleta de inmunidad pasiva y terneros con <5,0 g/dl una incompleta transferencia (Quigley, 1999). Por lo que el refractómetro es una

herramienta que se puede utilizar a nivel de campo fácil, rápida y precisa, para evaluar si se está logrando una buena transferencia de inmunidad pasiva.

Los resultados de este trabajo brindan información con respecto al calostro pasteurizado a 60° por 60 minutos, este tratamiento tiene un efecto en cuanto a la reducción de bacterias en el calostro (recuento bacteriano total $p < 0.0001$) sin afectar la concentración de proteínas totales en el suero de los terneros. La concentración de globulinas en el suero de los terneros alimentados con calostro pasteurizado no se vio afectada. Al evaluar la concentración de proteínas totales en los terneros recién nacidos previo calostrado se puede observar que un 43 % de estos presentaron niveles de proteínas totales que estuvieron entre el rango de 40 g/l-45g/l y un 43 % estuvo en el rango de 45 g/l-50 g/l. Mientras que el resto presentó niveles entre 30 g/l-40 g/l. Se puede observar un porcentaje de terneros que está en un rango de concentración de proteínas totales muy cercano al óptimo de lo requerido por una exitosa inmunidad. Esto puede ser un punto de partida para un futuro estudio y evaluar si factores del parto pueden brindar un mejor estado de salud al ternero al momento del parto.

Luego de utilizar el calostro pasteurizado, es muy importante continuar su crianza con leche pasteurizada para prevenir enfermedades entéricas (Stewart et al., 2005).

8. CONCLUSIONES

El proceso de pasteurización a 60°C durante 60 minutos del calostro redujo el recuento de Unidades Formadoras de Colonias por ml de calostro.

El calostrado en los terneros alimentados con calostro pasteurizado a 60°C durante 60 minutos no afectó la transferencia pasiva de proteínas totales ni globulinas evaluadas en el suero sanguíneo de los terneros.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Barrington GM, Parish SM (2001). Bovine neonatal immunology. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 17:463-476.
2. Biemann V, Gillan J, Perkins N, Skidmore A, Godden S, Leslie K (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 93:3713–3721.
3. Blecha GK, Bulls RC, Olson DP (1981). Effects of prepartum protein restriction in the beef cow on immunoglobulin content in blood and colostrum and subsequent immunoglobulin absorption by the neonatal calf. *J Anim Sci*, 53:1174–1180.
4. Calloway C, Tyler J, Tessman R, Hostetler R, Holle J (2002). Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. *J Am Vet Med Assoc*, 221(11):1605-1608.
5. Davis CL, Drackley JK (1998). The development, nutrition, and management of the young calf. Ames, Iowa State University Press, 179–206p.
6. Devery J, Davis C, Larson B (1979). Endogenous production of IgG in newborn calves. *J Dairy Sci*, 62:1814–1818.
7. Domínguez E, Perez MD, Calvo M (1997). Effect of heat treatment on the antigen-binding activity of anti-peroxidase immunoglobulins in bovine colostrum. *J Dairy Sci*, 80:3182-3187.
8. Donovan DC, Reber AJ, Gabbard JD, Aceves-Avila M, Galland KL, Holbert KA, Ely LO, Hurley DJ (2007). Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular response to pathogen antigens in neonatal calves. *Am J Vet Res*, 68: 778–82.
9. Elfstrand L, Lindmark-Mansson H, Paulsson M, Nyberg L, Åkesson B (2002). Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *Int Dairy J*, 12:879–87.
10. Elizondo-Salazar, Heinrichs J (2009). Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. *J Dairy Sci*, 92: 4565-4571.
11. Faber SN, Faber NE, McCauley TC, Ax RL (2005). Effects of colostrum ingestion on lactational performance. *The Professional Animal Scientist*, 21:420–425.
12. Fleenor WA, Stott GH (1980). Hydrometer test for estimation of Immunoglobulin Concentration in Bovine Colostrum. *J Dairy Sci*, 63:973-977.
13. Foley JA, Otterby DE (1978). Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum. *J Dairy Sci*, 61:1033–1060.
14. Godden SM, Smith S, Feirtag JM, Green LR, Wells SJ, Fetrow JP (2003). Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. *J Dairy Sci*, 86:1503-1512.

15. Godden S, McMartin J, Feirtag J, Stabel R, Bey S, Goyal L, Metzger J, Fetrow S, Wells H, Chester-Jones (2006). Heat-Treatment of Bovine Colostrum. II: Effects of Heating Duration on Pathogen Viability and Immunoglobulin G. *J Dairy Sci*, 89:3476-3483.
16. Godden S (2008). Colostrum management for daily calves. *Vet Clin Food Anim*, 24:19-39.
17. Godden S, Haines D, Konkol K, Peterson J (2009). Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. *J Dairy Sci*, 92: 1758-1764.
18. González R, González J, Peña B, Reyes JL, Robles P (2014). Transferencia de inmunidad pasiva en becerras Holstein alimentadas con calostro pasteurizado. *AgroFaz*, 14(1)1-6.
19. González R, Rodríguez K, Isidro L, González J, Peña B, Núñez L, Macias J, Robles P (2015). Efecto de la pasteurización sobre la carga bacteriana en calostro bovino. <http://www.produccion-animal.com.ar>. Fecha de consulta: 15/11/2018.
20. Grusenmeyer DJ, Ryan CM, Galton DM (2006). Shortening the dry period from 60 to 40 days does not affect colostrum quality but decreases colostrum yield by Holstein cows. *J Dairy Sci*, 89(Suppl 1):336.
21. James RE, Polan CE, Cummins KA (1981). Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [Iodine-125] y-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J Dairy Sci*, 64:52-61.
22. Johnson J, Godden S, Molitor T, Ames T, Hagman D (2007). Effects of Feeding Heat-Treated Colostrum on Passive Transfer of Immune and Nutritional Parameters in Neonatal Dairy Calves. *J Dairy Sci*, 90:5189–5198.
23. Larson BL, Heary HL Jr, Devery JE (1980). Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J Dairy Sci*, 63:665–71.
24. Le Jan C (1996). Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Vet Res*, 27:403–417.
25. Mandigan MT, Martinko MT, Parker J (2003). Crecimiento bacteriano. En: Brock biología de los microorganismos. 10a edición. Madrid, Prentice-Hall, pp.137-166.
26. McGuirk SM, Collins M (2004). Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 20(3):593–603.
27. McMartin S, Godden S, Metzger L, Feirtag J, Bey R, Stabel J, Goyal S, Fetrow J, Wells S, Chester-Jones H (2006). Heat treatment of bovine colostrum. I: Effects of Temperature on Viscosity and Immunoglobulin G Level. *J Dairy Sci*, 89:2110-2118.
28. Mechor GD, Gröhn YT, McDowell LR, Van Saun RJ. (1992). Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components. *J Dairy Sci*, 75:3131–3135.
29. Meylan M, Rings M, Shulaw WP, Kowalski JJ, Bech-Nielsen S, Hoffsis GF (1995). Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* and preservation of immunoglobulin G in bovine colostrum under experimental conditions simulating pasteurization. *Am J Vet Res*, 57:1580–1585.

30. Moore M, Tyler JW, Chigerwe M, Dawes ME, Middleton JR (2005). Effect of delayed colostrum collection on colostrum IgG concentration in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc*, 226(8):1375–1377.
31. Morin DE, McCoy GC, Hurley WL (1997). Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *J Dairy Sci*, 80:747–753.
32. Morin DE, Constable PD, Maunsell FP, McCoy GC (2001). Factors associated with colostrum specific gravity in dairy cows. *J Dairy Sci*, 84:937–943.
33. Nardone A, Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B (1997). Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. *J Dairy Sci*, 80:838–844.
34. Nousiainen J, Korhonen H, Syvaoja EL, Savolainen S, Saloniemi H, Halonen H (1994). The effect of colostrum, immunoglobulin supplement on the passive immunity, growth and health of neonatal calves. *Agric Sci Finly*, 3:421-428.
35. Osaka I, Matsui Y, Terada F (2014). Effect of the mass of immunoglobulin (Ig)G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. *J Dairy Sci*, 97:6608–6612.
36. Pakkanen R, Aalto J (1997). Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Int Dairy J*, 7:285–297
37. Przybylska J, Albera E, Kankofer M (2007). Antioxidants in bovine colostrum. *Reprod Domest Anim*, 42:402–409.
38. Quigley J (2003). Calf Note.com#96. Pasteurized colostrum. <https://calfnotes.com/pdffiles/CN096.pdf>. Fecha de consulta: 1/11/2018.
39. Quigley JD (1999). Notas acerca de terneros # 39- Usando el refractómetro. Disponible en: <http://www.calfnotes.com/pdffiles/CN039e.pdf>. Fecha de consulta: 1/11/2018.
40. Rastani RR, Grummer RR, Bertics SJ, Gumen A, Wiltbank MC, Mashek DG, Schwab MC (2005). Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance and metabolic profiles. *J Dairy Sci*, 88(3):1004–1014.
41. Reidel-Caspari G (1993). The influence of colostrum leukocytes on the course of an experimental *Escherichia coli* infection and serum antibodies in neonatal calves. *Vet Immunol Immunopathol*, 35:275-288.
42. Riet F, Restaino E (2015). Disponible en: <http://www.inia.uy/estaciones-experimentales/direcciones-regionales/inia-la-estanzuela/producción-de-leche-en-uruguay>. Fecha de consulta: 20/12/2018.
43. Robison JD, Stott GH, DeNise SK (1988). Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. *J Dairy Sci*, 71:1283-1287.
44. Ruiz G (2012). INTA. <https://inta.gob.ar/documentos/seguiamiento-en-crianza-artificial-de-terneros>. Fecha de consulta: 1/10/2018.
45. Schnorr KL, Pearson LF (1984). Intestinal absorption of maternal leucocytes by newborn lambs. *J Reprod Immunol*, 6:329–337.

46. Stabel JR (2001). On farm batch pasteurization destroys *Mycobacterium paratuberculosis* in waste milk. *J Dairy Sci*, 84:524-527.
47. Stabel JR, Hurd S, Calvente L, Rosenbusch RF (2004). Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. In Raw Milk by a commercial on- farm high-temperature, short-time pasteurizer. *J Dairy Sci*, 87:2177-2183.
48. Staley TE, Bush LJ (1985). Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease. *J Dairy Sci*, 68:184-205.
49. Steinbach G, Kreutzer B, Meyer H (1981). Effect of heating on the immunobiological value of bovine colostrum. *Monat. Fur Veter*, 36:29-31.
50. Stewart S, Godden, Bey R, Rapnicki P, Fetrow J, Farnsworth R, Scanlon M, Arnold Y, Clow L, Mueller K, Ferrouillet C (2005). Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. *J Dairy Sci*, 88:2571-2578.
51. Stott GH, Fella A (1983). Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *J Dairy Sci*, 66:1319-1328.
52. Stott GH, Marx DB, Menefee BE, Nightengale GT (1979a). Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. *J Dairy Sci*, 62:1766-1773.
53. Stott GH, Marx DB, Menefee BE, Nightengale GT (1979b). Colostral immunoglobulin transfer in calves III. Amount of absorption. *J Dairy Sci*, 62:1902-1907.
54. Tyler JW, Steevens BJ, Hostetler DE, Holle JM, Denbigh JL (1999). Colostral immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows. *Am J Vet Res*, 60:1136–1139.
55. Wells SJ, Dargatz DA, Ott SL (1996). Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. *Prevent Vet Med*, 29:9-19.