



Universidad Austral de Chile

---

Facultad de Ciencias Agrarias  
Escuela de Agronomía

**Determinación de la calidad de calostro mediante  
la calibración de un refractómetro Brix en vacas  
Holstein a pastoreo**

Memoria presentada como parte de los  
requisitos para optar al título de  
Ingeniero Agrónomo

**Josefina Andrea Chahin Doussoulin**

Valdivia – Chile

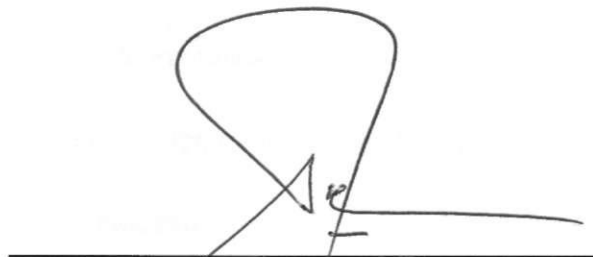
2014

PROFESOR PATROCINANTE:



Ximena Valderrama L.  
Ingeniero Agrónomo, Mg.Sc., Ph.D.  
Instituto de Producción Animal

PROFESORES INFORMANTES:



Oscar Balocchi  
Ingeniero Agrónomo, Ph.D.  
Instituto de Producción Animal



Juan Pablo Keim S.  
Ingeniero Agrónomo, Dr. Cs. Agr.  
Instituto de Producción Animal

**INDICE DE MATERIAS**

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCIÓN	3
1.1	Calostro bovino	3
1.2	Rol del calostro y transferencia de inmunidad pasiva	4
1.3	Factores que determinan la adquisición de inmunoglobulinas	5
1.4	Tipos de inmunoglobulinas en calostro	6
1.5	Inmunoglobulina G	7
1.6	Determinación de Inmunoglobulina G en calostro	8
1.6.1	Inmunodifusión radial (RID)	9
1.6.2	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)	9
1.6.3	Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)	10
1.6.4	Calostrómetro	10
1.6.5	Refractómetro Brix	11
2	MATERIAL Y MÉTODO	13

2.1	Origen de la muestra	13
2.2	Duración del trabajo	13
2.3	Lugar de realización de los análisis	13
2.4	Obtención de muestras	13
2.5	Determinación de IgG	14
2.6	Capacidad de diagnóstico efectivo del refractómetro Brix	15
2.7	Análisis y correlación de datos	16
2.8	Análisis estadístico	17
3	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
3.1	Distribución de muestras	18
3.2	Correlación entre métodos de determinación de IgG por NIRS y por refractómetro Brix	20
3.3	Concentración de inmunoglobulinas según número de parto	21
3.4	Punto de corte para refractómetro Brix	23
4	CONCLUSIONES	26
5	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

**INDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Capacidad de diagnóstico efectivo del refractómetro Brix	24

**INDICE DE FIGURAS**

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Frecuencia de distribución de la concentración de IgG (g/L) de 89 muestras de calostro de vacas Holstein medido a través de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS)	19
2	Frecuencia de distribución de lecturas obtenidas por refractómetro Brix, para la determinación de IgG, de un total de 89 muestras de calostro, de un rebaño de vacas Holstein	20
3	Correlación entre las lecturas por Refractómetro Brix y NIRS de IgG en muestras de calostro de vacas Holstein (n = 89)	21
4	Relación entre las muestras de calostro analizadas por el refractómetro Brix y la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en vacas primíparas (n = 19)	22
5	Relación entre las muestras de calostro analizadas por el refractómetro Brix y la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en vacas múltiparas (n = 69)	23

## RESUMEN

Contar con calostro de calidad, que es aquel que presenta una concentración de inmunoglobulina G (IgG) superior o igual a 50 g/L, es fundamental para la adquisición de inmunidad en los terneros en sus primeras horas de vida. Existen diversos métodos para determinar inmunidad a través de la concentración de IgG en calostro, uno de ellos es el refractómetro Brix, instrumento rápido y fácil de usar, que mide los sólidos solubles en una solución, que en el caso del calostro, corresponden principalmente a IgG.

El objetivo general de este estudio, fue evaluar el refractómetro Brix como método para la evaluación indirecta de la calidad del calostro, en vacas lecheras a pastoreo en Chile. Para esto, se analizaron 100 muestras de calostro provenientes de vacas Holstein, se determinó la concentración de IgG mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) y estos valores se correlacionaron con los grados Brix obtenidos por cada muestra. Esto se realizó tanto para el rebaño completo, como diferenciado según número de lactancias. Los valores se evaluaron mediante regresiones lineales simples, donde el coeficiente de determinación entre las lecturas Brix y NIRS para todo el rebaño ( $R^2 = 0,79$ ), así como para primera lactancia ( $R^2 = 0,67$ ) y segunda lactancia en adelante ( $R^2 = 0,81$ ), mostró un buen ajuste entre los valores obtenidos por ambos métodos. Para determinar el punto de corte en °Brix, a partir del cual existen más de 50 g de IgG por L de calostro, se realizaron las pruebas de sensibilidad, especificidad, precisión y valor predictivo positivo donde se obtuvieron valores de 88, 83, 88 y 88% respectivamente, para el punto de corte de 18°Brix, el cual fue recomendado por este estudio como el más adecuado para detectar correctamente calostros de alta calidad.

En este estudio se pudo concluir que, el Refractómetro Brix es un método indirecto que permite detectar calostros de buena calidad en todo el rebaño. El elevado coeficiente de determinación ( $R^2$ ) obtenido, sugiere que el refractómetro Brix es una alternativa conveniente frente al NIRS, como método de determinación de IgG en calostro bovino.

## SUMMARY

Having quality colostrum is essential for the development of the immune system in newborn calves. Quality colostrum is defined in the present work as having an immunoglobulin G (IgG) concentration above or equal 50 g/L. Currently there are many ways in which immunoglobulin content in colostrum can be determined, one of them being the use of a Brix refractometer. This device provides a quick and easy way to measure biologically relevant organic molecules in a solution, which in the case of bovine colostrum correspond mainly to IgG.

The main focus of the present work is to validate the use of the Brix refractometer as a method for the indirect determination of colostrum quality in grazing dairy cows. To this effect, 100 colostrum samples from Holstein cows were analyzed using near-infrared spectroscopy (NIRS) to obtain the IgG concentration and a Brix refractometer to obtain the Brix degrees of each sample. This data was collected for the whole herd, as well as separated for each lactation. These values were plotted together and its correlation evaluated using a simple linear regression. The determination coefficient between the NIRS and Brix sets of data for the whole herd ( $R^2 = 0,79$ ), as well as the first lactation ( $R^2 = 0,67$ ) and second lactation or more ( $R^2 = 0,81$ ) show a good fit between data obtained from NIRS and Brix analysis. Sensibility, specificity, precision and positive predictive value tests were carried out to determine the cut-off point °Brix number, which is the minimum Brix reading needed to obtain good quality colostrum (IgG  $\geq$  50 g/L). The sensibility, specificity, precision and positive predictive value percentages obtained were 88, 83, 88 and 88% respectively, for the cut-off point of 18° Brix, which was recommended by this study as the most appropriate to properly detect high quality colostrums.

With the results shown in the present work, we can conclude that the Brix refractometer is a good, albeit indirect method for the determination of colostrum quality across a bovine herd. The high determination coefficient ( $R^2$ ) obtained from the linear regression between the NIRS and Brix datasets suggest that the Brix refractometer is a convenient alternative to NIRS for determining immunological quality in bovine colostrum.

## 1 INTRODUCCIÓN

El calostro es un fluido materno fundamental que brinda al ternero nutrientes de alta calidad y protección que la madre no logra traspasar al feto. En todo sistema productivo el consumo de calostro permite disminuir las pérdidas económicas por una mejor resistencia a enfermedades y en consecuencia mejor viabilidad de terneros. Sin embargo, no todos los calostros bovinos en un mismo rebaño presentan la misma calidad (contenido de IgG) que aseguren una mínima inmunidad del ternero en su primer mes de vida. Esta variación hace necesario que se disponga de métodos sencillos, rápidos y precisos, que faciliten la toma de decisiones a nivel predial al momento del nacimiento del ternero.

El objetivo general es evaluar el refractómetro Brix como método para la evaluación indirecta de la calidad del calostro en vacas lecheras a pastoreo en Chile.

Los objetivos específicos son:

- Comparar la valoración indirecta de calidad o contenido de IgG del refractómetro con la determinación por NIRS para el rebaño completo y por partos.
- Elaborar una curva de calibración para el refractómetro Brix en base a una correlación con la determinación de IgG por NIRS.
- Evaluar la sensibilidad y especificidad del método.

### 1.1 Calostro bovino

Se denomina calostro a la primera secreción láctea producida por la glándula mamaria proveniente de los mamíferos, la cual es obtenida posterior al parto. Este producto, es la primera fuente de inmunidad y nutrientes para el neonato en el caso de los bovinos (Bielmann et. al., 2010), el cual mantiene sus características durante los primeros ordeños, generalmente desde el primer al tercer ordeño. Posterior a esto, las secreciones obtenidas hasta que la leche se torne normal, son conocidas como leche de transición. El

valor del calostro, está asociado a su potencial de nutrición, protección e hidratación que brinda al recién nacido (Campos et. al., 2007).

El proceso de formación del calostro, comienza varias semanas previas al parto, bajo la influencia de hormonas lactogénicas, como la prolactina, y cesa abruptamente en el parto. El calostro bovino está formado por secreciones lácteas y constituyentes del suero sanguíneo, en el cual se encuentran grandes concentraciones de inmunoglobulinas y otras proteínas séricas, las cuales se acumulan en la glándula mamaria durante el periodo seco de preparto. Además de estos componentes, se incluyen leucocitos maternos, factores de crecimiento, hormonas, citoquinas, factores antimicrobianos no específicos y nutrientes (Godden, 2008). Elizondo (2007) agrega que el calostro contiene un gran número de linfocitos, neutrófilos, macrófagos, y hormonas como la insulina y el cortisol.

## **1.2 Rol del calostro y transferencia de inmunidad pasiva**

El calostro, al ser una secreción fundamentalmente rica en anticuerpos, provee al neonato de protección inmunológica durante las primeras semanas de vida, siendo vital para su salud y sobrevivencia, además de jugar un importante rol en la estimulación del desarrollo del tracto gastrointestinal y otros sistemas, teniendo un efecto laxante, que estimula la eliminación del meconio y el establecimiento de los movimientos intestinales. Este es la única fuente de inmunidad pasiva para el ternero neonato, debido a que la estructura de la placenta bovina no permite la transferencia de inmunoglobulinas o anticuerpos de la madre al feto, además, el sistema inmune del ternero al nacimiento se encuentra suprimido y no es capaz de producir cantidades suficientes de inmunoglobulinas para combatir infecciones, por lo que son animales susceptibles de ser afectados por agentes patógenos que pueden causarles enfermedades e incluso la muerte. Esta inmunidad demora en activarse al menos seis semanas (Campos et. al., 2007, y Elizondo, 2007).

Esta protección se logra a través del consumo de calostro en las primeras horas de vida para lograr lo que se denomina “transferencia de inmunidad pasiva”. Esta corresponde al proceso a través del cual el ternero logra su protección contra diversos patógenos mediante la absorción de las inmunoglobulinas presentes en el suero (Campos et. al., 2007). La inmunidad pasiva puede ser local (inmunoglobulinas que bañan el lumen del

intestino) y humoral (inmunoglobulinas absorbidas del intestino hacia la sangre). En terneros, la adquisición de inmunidad pasiva es el primer factor que afecta su salud antes de que estos sean capaces de sintetizar sus propios anticuerpos. Los neonatos están capacitados para absorber largas moléculas de proteína, a través del transporte vesicular, no selectivo, donde estas moléculas se adhieren a la superficie de la membrana y traspasan el epitelio del intestino delgado sin que ocurra digestión o alteraciones en dichas moléculas por un corto período de tiempo luego del parto (Morril et. al., 2012). Este hecho se debe a diversas razones, una de ellas es que las células fúndicas del abomaso no secretan ácido clorhídrico durante las primeras 24 horas de vida, por lo que el pepsinógeno no es transformado en pepsina y no son atacadas las proteínas, por otra parte, la renina solo coagula a la caseína, generando una precipitación del calcio, lo que permite un paso gradual de los nutrientes del estómago hacia el intestino, además, el calostro posee un factor inhibidor de la tripsina que impide la digestión de las inmunoglobulinas, las cuales pasan rápidamente a través del intestino hacia el suero sanguíneo. Adicionalmente, el calostro posee una velocidad de tránsito superior a la leche entera (Campos et. al., 2007).

La falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FPT) de inmunoglobulinas, definida como una baja concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo luego de 24 a 48 horas de edad, trae como consecuencia un aumento en la morbilidad y mortalidad de terneros, producto del aumento de la susceptibilidad a los patógenos y por lo tanto a las enfermedades que estos pueden causar (Bielmann et. al., 2010). Weaver et. al. (2000) señalan que se ha estimado que un 35% de los terneros de lechería sufren FPT. Para minimizar el riesgo de que la FPT ocurra, es necesario asegurar una adecuada ingestión de inmunoglobulinas desde el calostro materno, lo cual va a estar determinado por distintos factores (Quigley et. al., 2013).

### **1.3 Factores que determinan la adquisición de inmunoglobulinas**

Dentro de los factores principales que influyen en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas en el ternero se encuentran, el momento de ingestión de calostro luego del parto, su volumen ingerido y la concentración de inmunoglobulinas presentes en el (Morril et. al., 2012).

Para asegurar una correcta absorción de inmunoglobulinas, el ofrecimiento debe ser rápido y en la cantidad adecuada apenas el ternero se levanta, ya que las inmunoglobulinas se absorben intactas en las primeras 24 horas después del parto, transcurrido este tiempo, el tracto intestinal no permite el paso de todas las inmunoglobulinas ni de otras proteínas no específicas cuya acción es la estimulación y crecimiento de los tejidos del animal, luego de 72 horas postparto ninguna inmunoglobulina consigue absorberse. Se ha demostrado que el ternero asegura su supervivencia al ingerir aproximadamente una cantidad de 2 litros durante las primeras 6 horas de vida, luego hasta las 24 horas lo ideal es que el ternero consuma al menos el 10% de su peso vivo en calostro siempre y cuando el aporte por litro sea de 50g de IgG (Campos et. al., 2007). Godden (2008) señala que el factor que más condiciona la absorción de inmunoglobulinas es la edad a la que el ternero se alimenta, mencionando que la eficiencia en la transferencia de inmunoglobulinas hacia el epitelio del intestino es óptima en las primeras 4 horas postparto, pero luego de 6 horas ocurre un descenso progresivo en la eficiencia de absorción, por lo que los productores deben tener como objetivo alimentar a sus terneros 1 a 2 horas luego del nacimiento y como máximo 6 horas luego de este.

Para obtener una inmunidad adecuada, se requiere de una concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo de al menos 10 mg/ml a las 24 horas de edad en el ternero (Jaster, 2005). Para lograr esto, es necesario contar con calostro de alta calidad, que es aquel que presenta una concentración de inmunoglobulinas por sobre 50 g/L, donde se hace necesario brindar al ternero 2 L de calostro para alcanzar el nivel deseado en la sangre (Godden, 2008). La transferencia de la cantidad suficiente de inmunoglobulinas al ternero a través de calostro de alta calidad, es de vital importancia para optimizar la salud de este. La reducción del intervalo de tiempo entre el parto y la recolección de calostro, es la forma más práctica a través de la cual el agricultor puede maximizar la concentración de inmunoglobulinas en el calostro (Conneely et. al., 2013).

#### **1.4 Tipos de inmunoglobulinas en calostro**

Las inmunoglobulinas, son proteínas plasmáticas producidas por los linfocitos en el torrente sanguíneo de los mamíferos en respuesta frente a antígenos extraños. Estas juegan un papel crucial en el mecanismo inmunológico para defender al organismo frente

a patógenos y proporcionar resistencia frente a enfermedades (Conneely et. al., 2013). Existen diversos tipos, dentro de las cuales las de mayor importancia en orden de absorción son las de tipo G, M y A, representando un 85% a 90%, 7% y 5% respectivamente del total de inmunoglobulinas presentes en el calostro bovino (Godden, 2008).

Los distintos tipos de inmunoglobulinas desarrollan diversas funciones, es así como las del tipo M se encuentra en la primera línea de defensa que posee el organismo en caso de septicemia, estas corresponden a grandes moléculas que se ubican en la sangre y brindan protección al ternero contra invasiones bacterianas. Las del tipo A tienen la función de proteger las superficies de las mucosas del intestino para que no puedan adherirse patógenos que pueden ser causantes de enfermedades. Finalmente las del tipo G tienen como acción identificar y destruir a los patógenos invasores, debido a que son más pequeñas que el resto de las inmunoglobulinas, lo que les permite una mayor facilidad para desplazarse a través del torrente sanguíneo (Campos et. al., 2007).

### **1.5 Inmunoglobulina G**

La inmunoglobulina G (IgG) representa la clase más abundante presente en el calostro bovino (Elizondo, 2007), esta corresponde a una glicoproteína monomérica formada por dos cadenas largas y dos cadenas cortas, las cuales están unidas por enlaces disulfuro (Leyton et. al., 2007). La IgG presenta dos subclases, la IgG<sub>1</sub> y la IgG<sub>2</sub> (Jaster, 2005), ambas difieren en sus cadenas de polipéptidos y presencia en el calostro, siendo la más abundante la IgG<sub>1</sub> (Stelwagen et. al., 2008), representando un 80% (Leyton et. al., 2007).

La IgG<sub>1</sub> en particular, es transferida desde el torrente sanguíneo a través de la barrera de la glándula mamaria hacia el calostro, mediante un mecanismo de transporte específico, donde los receptores de las células epiteliales del alveolo de la glándula mamaria capturan la IgG<sub>1</sub> desde el fluido extracelular y la transportan por endocitosis liberándola finalmente dentro de las secreciones del lumen. Las células epiteliales del alveolo dejan de expresar este receptor en respuesta al aumento de las concentraciones de prolactina al comienzo de la lactación (Godden, 2008). IgG<sub>2</sub> puede derivar de la sangre o ser

sintetizada por el plasma o por células epiteliales de la glándula mamaria y es transferida a las células secretoras de la glándula mamaria (Leyton et. al., 2007).

Aunque las otras clases de inmunoglobulinas tienen importantes roles fisiológicos, la predominante cantidad de IgG total o IgG1 en el suero sanguíneo es un indicador adecuado para medir la transferencia de inmunidad pasiva y se ha demostrado que la concentración de IgG en sangre de terneras está relacionada con la sobrevivencia y salud de estas, por lo que se hace fundamental su determinación (Elizondo, 2007).

### **1.6 Determinación de inmunoglobulina G en calostro**

La concentración de IgG en calostro, se ha considerado tradicionalmente como la medida para evaluar la calidad del mismo. Dicha concentración es altamente variable entre vacas (Godden, 2008), por lo que se hace necesario evaluar el calostro que se dará a consumir al ternero con el objetivo de conocer su concentración de IgG y así asegurar que el calostro que se está suministrando es de elevada calidad (concentración de IgG mayor a 50 g/L) (Campos et. al., 2007).

Diversas técnicas se han desarrollado para medir la calidad del calostro, dentro de las cuales se encuentra la inmunodifusión radial (RID), considerado el método más exacto para determinar el contenido de Ig en el calostro (Bielmann et. al., 2010), el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (Elisa), el cual es similar a RID en términos de precisión (Weaver et. al., 2000). También está el método de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS), el cual se ha usado generalmente para determinar la calidad de los alimentos, incluyendo la predicción de los principales componentes del calostro bovino (Rivero et. al., 2012).

Los métodos de laboratorio, para medir con precisión la concentración de IgG son demasiado complejos y caros para su uso rutinario en campo, por lo que se hace esencial un método rápido, preciso y económico para identificar un calostro de calidad (Bielmann et. al., 2010).

Dentro de los métodos más comunes para medir la calidad del calostro utilizados en campo se encuentran el calostrómetro, ya que es rápido, sin embargo es sensible a la temperatura por lo que se vuelve inexacto (Morris et. al., 2012). El refractómetro Brix ha sido reportado como un método útil para estimar IgG en calostro bovino, siendo un método de bajo costo económico, rápido y que requiere el mínimo de equipamiento y entrenamiento (Quigley et. al., 2013).

**1.6.1 Inmunodifusión radial (RID).** La inmunodifusión radial, es considerado el método estándar de oro en comparación a otros métodos, siendo el más exacto para evaluar el contenido de inmunoglobulinas en calostro (Bielmann et. al., 2010).

Este método utiliza anticuerpos antiinmunoglobulinas específicas bovinas, las cuales al estar presentes en una capa de agar sobre una placa, reaccionan con el suero problema formando un anillo de precipitación cuyo diámetro es proporcional a la cantidad de inmunoglobulinas presentes (Leyton et. al., 2007). Entre sus ventajas, esta prueba presenta una alta sensibilidad y especificidad, sin embargo, presenta diversas limitaciones, como el tiempo que requiere para obtener resultados, el cual va de 18 a 24 horas (Bielmann et. al., 2010), su elevado costo y por último, es una técnica propensa a errores en el análisis, particularmente con calostro bovino (Quigley et. al., 2013), presentando mala precisión cuantitativa (Leyton et. al., 2007).

**1.6.2 Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (Elisa).** Generalmente las técnicas de ELISA son ampliamente utilizadas en inmunología, ya sea para la detección cualitativa o cuantitativa de antígenos. La técnica se basa en la interacción entre el antígeno (IgG bovina) y anticuerpos generados por el antígeno. Para medir la cantidad de IgG bovina, los anticuerpos producidos contra IgG bovina se encuentran unidos a la superficie de plástico de una placa de microtitulación que contiene 96 pocillos y las muestras se aplican directamente a la superficie, lo que resulta en la unión específica entre la IgG y el anticuerpo. La detección y cuantificación se basan en la medición colorimétrica del complejo anticuerpo-enzima conjugado y en la interpolación con una curva estándar (Leyton et. al., 2007).

Esta prueba da una concentración semicuantitativa de inmunoglobulina y es similar a la inmunodifusión radial en términos de exactitud, pero presenta un menor costo (weaver et. al., 2000).

**1.6.3 Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS).** La técnica NIRS se perfila como una alternativa a los métodos químicos y químico-biológicos tradicionales, con un gran potencial para estimar con seguridad y rápidamente la composición química nutricional de forrajes, así como también es una herramienta efectiva para predecir el contenido de IgG en calostro líquido (Rivero et. al., 2012). Es una técnica no destructiva, rápida, de gran precisión y exactitud, siempre que se realicen los procedimientos correctos para generar las ecuaciones de predicción requeridas (Alomar y Fuchslocher, 1998).

La técnica se basa en la absorción de energía por parte de las moléculas que constituyen la materia y su posterior reacción de vibración, que puede ser de dos formas fundamentales, de extensión o de doblamiento, de los enlaces covalentes que las conforman (Alomar y Fuchslocher, 1998).

El espectro del infrarrojo cercano se origina desde matices y combinaciones de las vibraciones fundamentales que se producen en la región infrarroja, a los grupos que contienen H en macromoléculas biológicas, con bandas de absorción superpuestas. El método requiere calibraciones apropiadas, de manera de extraer información relevante para desarrollar un modelo útil, para poder predecir una cualidad particular de las muestras. Se debe tener en cuenta que los errores de predicción pueden provenir de diversos factores asociados con las muestras, el instrumento, los operadores y las técnicas de referencia, ya que el NIRS es una técnica secundaria, que se basa en el modelo desarrollado a partir de datos espectrales y valores de referencia (Rivero et. al., 2012).

**1.6.4 Calostrómetro.** El calostrómetro, es un aparato sencillo que funciona como un lactodécímetro común, la técnica estima la densidad del calostro por su peso específico, cuantificando así indirectamente el nivel de inmunoglobulinas presentes (Campos et. al.,

2007). El calostrómetro se encuentra calibrado en intervalos de 5 mg/mL y lo clasifica en pobre (rojo) para concentraciones menores a 22 mg/mL, moderado (amarillo) para concentraciones entre 22 y 50 mg/mL y excelente (verde) para concentraciones mayores a 50 mg/mL (Elizondo, 2007).

El calostrómetro no es una técnica analítica, por lo que no provee una medida exacta de la cantidad de inmunoglobulinas presentes en el calostro, sin embargo este método puede ser utilizado para estimar la calidad relativa del calostro (Morril et. al., 2012), evitando así el fallo en la transferencia de inmunidad pasiva por el uso de un calostro de baja calidad (Elizondo, 2007).

A pesar de que el calostrómetro es uno de los métodos más comunes para evaluar la calidad del calostro, debido a su adecuado uso para condiciones en campo, ya que solo requiere algunos minutos para tener resultados, son sensibles a la temperatura y frágiles (Bielmann et. al., 2010). La lectura del calostrómetro depende altamente de la temperatura del calostro, por lo tanto, debe realizarse cuando este se encuentra a temperatura ambiente (20-25°C) (Elizondo, 2007), además, las lecturas son afectadas por el contenido de sólidos totales presentes en el calostro y la gravedad específica puede variar dependiendo de la raza, mes de parto y parición (Morril et. al., 2012).

**1.6.5 Refractómetro Brix.** El porcentaje Brix es una medida de las concentraciones de sacarosa en líquidos tales como jugos de fruta, miel y vino. Cuando es utilizado en líquidos que no contienen sacarosa, el porcentaje Brix aproxima el porcentaje de sólidos totales. La refractometría utilizando el refractómetro Brix ha sido utilizada como un medio para estimar la concentración de IgG en el calostro de ovejas, caballos y ganado (Quigley et. al., 2013).

Los refractómetros digitales u ópticos miden el contenido de proteína total de una solución. Las soluciones de proteína refractan la luz, el refractómetro utiliza esta propiedad para estimar los sólidos totales en una solución, midiendo el índice refractivo de la muestra en % Brix. En el calostro materno, la proteína está representada mayoritariamente por IgG, por lo tanto la medición de sólidos totales presentes en el

calostro puede brindar un valor que está altamente correlacionado con la concentración de IgG (Morril et. al., 2012).

El refractómetro posee ventajas sobre otros métodos que estiman las concentraciones de IgG, el refractómetro Brix es de bajo costo, se encuentra fácilmente disponible, es rápido, menos frágil, requiere entrenamiento y equipamiento mínimo, y presenta menor sensibilidad frente a la variación de la temperatura en el calostro, estación del año y otros factores (Quigley et. al., 2013). Biemann et. al. (2010) agregan, que a diferencia del calostrómetro, el refractómetro Brix no es sensible a la temperatura del calostro al momento del análisis, ya que en estudios realizados por dichos autores, al analizar un subconjunto de muestras de calostro a diferentes temperaturas, no se encontraron diferencias significativas entre las puntuaciones Brix tomadas de cada muestra.

Los refractómetros digitales y ópticos han sido probados como herramientas prácticas de gestión, permitiendo diferenciar entre un calostro de buena y pobre calidad (Rivero et. al., 2012), proporcionando una herramienta para que los productores puedan estimar rápidamente y con precisión la concentración de IgG en el calostro, mejorando así la salud de los terneros y con esto la rentabilidad de los productores (Morril et. al., 2012).

## **2 MATERIAL Y MÉTODO**

### **2.1 Origen de la muestra**

Las muestras de calostro provinieron de una lechería de la zona de Máfil en la comuna de Valdivia, Región de los Ríos, a 30 kilómetros al norte de la ciudad de Valdivia. Esta cuenta con un rebaño de 300 vacas con genética Holstein (>70%). La inclusión de las vacas en el muestreo de calostro no discriminó según el número de lactancias de las madres, ni según el tipo de parto, siendo la única condición para el ingreso en el ensayo que estos fueran supervisados.

### **2.2 Duración del trabajo**

Las muestras fueron obtenidas a partir de calostros de partos de primavera, ocurridos entre los meses de septiembre y octubre de 2013. El análisis de datos se realizó entre el 13 de septiembre de 2013 al 07 de noviembre de 2013.

### **2.3 Lugar de realización de los análisis**

Laboratorio de Nutrigenómica del Instituto de Producción Animal (IPA) de la Universidad Austral de Chile, Valdivia.

### **2.4 Obtención de las muestras**

Las muestras fueron obtenidas a partir de 100 vacas de entre uno y diez partos, a partir del calostro de la primera ordeña de cada madre, que fue colectado inmediatamente después del parto para la alimentación del ternero, mediante ordeña manual en un balde individual para cada vaca, obteniéndose 4 L de producto completo. La secreción se homogeneizó para asegurar que la muestra fuera representativa, posteriormente las muestras fueron almacenadas en frascos de 30 ml plásticos con tapa rosca, registrados con el número crotal de cada animal junto con una planilla que indicaba la fecha del muestreo y el número de partos de cada vaca y posteriormente congeladas. Las muestras

congeladas fueron almacenadas en el campo y luego transportadas manteniendo la cadena de frío al Laboratorio de Nutrigenómica del Instituto de Producción Animal de la Universidad Austral de Chile, Valdivia, fueron conservadas y almacenadas en el laboratorio en un congelador a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento de su análisis.

## **2.5 Determinación de IgG**

Para la determinación de IgG, las muestras fueron sometidas a una descongelación lenta a  $4^{\circ}\text{C}$  para evitar la desnaturalización de las proteínas del calostro. Las muestras fueron analizadas una vez que alcanzaron temperatura ambiente. Al momento de las mediciones, las muestras fueron homogeneizadas para obtener una correcta dispersión del contenido.

Se procedió a realizar dos tipos de mediciones, la primera, fue la medición de  $^{\circ}\text{Brix}$ , la cual consistió en depositar alrededor de tres gotas de la muestra de calostro en el prisma del refractómetro Brix, cerrar el cubre objeto del prisma para distribuir el líquido sobre toda la superficie del prisma, sin que existan burbujas de aire, sostener el instrumento bajo una fuente de luz de forma perpendicular a esta y mirar a través del ocular del instrumento, en donde se observó una franja de color azul, la cual indicaba los  $^{\circ}\text{Brix}$  que contiene la muestra. Para disminuir el margen de error, se realizó este procedimiento dos veces por cada muestra. Después de cada medición, el refractómetro Brix fue limpiado y secado, con el objeto de que no queden restos de calostro que puedan alterar el resultado de las muestras siguientes.

Una segunda alícuota de la muestra fue analizada (leída) mediante el sistema de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS), para lo cual se depositó 1 mL de muestra de calostro sobre el porta objeto de la cubeta y luego se selló con el cubre objeto de cristal de cuarzo, con el debido cuidado de que no se formen burbujas de aire en la superficie del cristal que puedan interferir en la medición, quedando la muestra esparcida homogéneamente por toda la superficie. Para finalizar, se introdujo la muestra en el equipo NIRS, el cual se encuentra calibrado para entregar computacionalmente una curva que permite determinar la cantidad de inmunoglobulina G de la muestra de calostro

(Rivero et. al., 2012). El procedimiento se realizó dos veces por muestra, con el objetivo de disminuir errores de medición y de esta manera obtener valores de mayor exactitud. Al terminar el proceso de medición, cada cubeta y cubre objeto del instrumento fueron lavados y secados para no dejar restos de muestra que puedan contaminar las siguientes evaluaciones.

## 2.6 Capacidad de diagnóstico efectivo del refractómetro Brix

Se utilizó un refractómetro manual con una escala de 0 a 32°Brix, marca MRC, modelo REF-113ATC.

Se realizó un análisis estadístico para determinar el punto de corte de °Brix que sea capaz de predecir de mejor manera calostros de elevada calidad, es decir aquellos que presentan una concentración por sobre 50 g de IgG por litro de calostro, para lo cual se calcularon cuatro parámetros, la sensibilidad (Se), que es la capacidad para que el método Brix estime correctamente los valores sobre 50 g/L NIRS, la especificidad (Sp), definida como la capacidad de la prueba Brix para detectar valores menores a 50 g/L NIRS, el valor predictivo positivo (VPP), que es la probabilidad de que una muestra de calostro, evaluada mediante NIRS, obtenga un resultado positivo para la lectura por °Brix y la precisión, definida como la capacidad del refractómetro para detectar correctamente las muestras sobre (positivas) o bajo (negativas) 50 g/L, entre los discriminados de la misma forma por NIRS.

En base a estas asociaciones, se calculó la sensibilidad (Se), especificidad (Sp), valor predictivo positivo (VPP), y la precisión, según las siguientes fórmulas:

$$Se = \left[ \frac{a}{a + d} \times 100 \right],$$

$$Sp = \left[ \frac{c}{c + b} \times 100 \right],$$

$$VPP = \left[ \frac{a}{a + b} \times 100 \right],$$

$$\text{Precisión} = \left[ \frac{a + b}{a + b + c + d} \times 100 \right].$$

Luego, se realizó un cuadro esquemático, indicando los diagnósticos correctos positivos (a), diagnósticos correctos negativos (b), diagnósticos incorrectos positivos (c) y diagnósticos incorrectos negativos (d). Además se indicaron los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y precisión de los métodos diagnósticos utilizados, señalando cuando alguno de estos parámetros muestra diferencias estadísticamente significativas entre lo observado por los métodos diagnósticos utilizados.

## 2.7 Análisis y correlación de datos

Luego de obtener las lecturas de los °Brix y la determinación de cantidad de IgG, mediante el método NIRS, en muestras de calostro, se procedió a analizar y correlacionar los datos.

El primer análisis que se realizó, fue el de distribución de los valores de IgG entregados por el equipo NIRS por rango, en donde las muestras fueron separadas según su contenido de IgG en intervalos de 10 gramos de IgG por litro de calostro, indicando el valor de corte aceptable de 50 g/L, luego se analizó la distribución de los grados Brix de las muestras en intervalos de 1 °Brix, partiendo de 11 hasta 32 °Brix. Después del análisis de cada muestra con ambos métodos, se realizó una correlación entre los datos obtenidos del equipo NIRS y las lecturas entregadas por Refractómetro Brix, de IgG. Además se hizo una segunda correlación, donde se separó a los animales en dos grupos según número de parto, el primer grupo perteneció a vacas primíparas y el segundo grupo a vacas multíparas.

Para determinar el valor de corte del instrumento Brix, que indique muestras por sobre o bajo 50 g/L NIRS, fueron evaluados los valores de 18, 20, 21 y 22°Brix por ser los más usados en el extranjero, los cuales fueron analizados de manera estadística mediante el cálculo de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y precisión.

## **2.8 Análisis estadístico**

Mediante Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher se determinó la significancia estadística de las variables de la prueba (Se, Sp, VPP y precisión) para las muestras en estudio, para lo cual se consideró un intervalo de confianza del 95%. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando  $P < 0,05$ . El Software utilizado para la realización de todos los análisis estadísticos fue el GraphPad Prism v5.00.

### 3 PRESENTACION Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

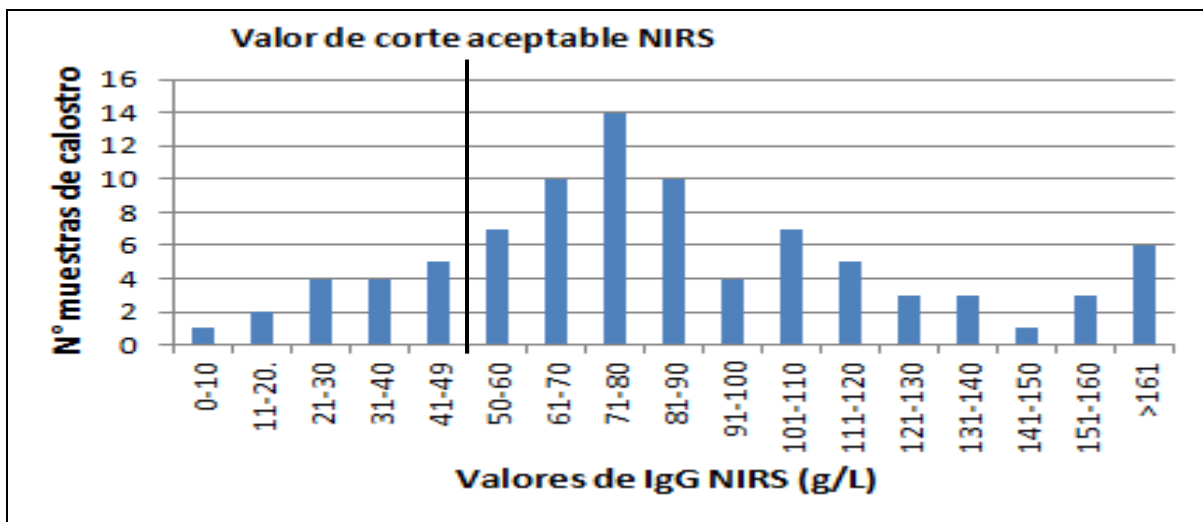
Los siguientes resultados, fueron obtenidos a partir del análisis del calostro de un rebaño de 100 vacas de genética Holstein. Un total de 89 muestras fueron analizadas, ya que el resto presentaba alteraciones, como contaminaciones con sangre, que podían influir en las mediciones del contenido de IgG en el calostro. Del total de muestras analizadas, 19 pertenecieron a vacas primíparas y 69 a vacas múltiparas, quedando una muestra fuera del análisis de correlación según número de parto, ya que no se contaba con dicho registro.

#### 3.1 Distribución de muestras

El rango de los valores de IgG obtenidos mediante NIRS fue desde 8,9 a 223,7 g/L (Figura 1), lo que indica gran variabilidad en la concentración de IgG, al igual que lo observado por Quigley et. al. (2013), lo que deja en evidencia la importancia de la determinación de la calidad del calostro, para evitar brindar al ternero aquel de mala calidad y por lo tanto que ocurra falla en la transferencia de inmunidad pasiva. La media y la mediana, para la concentración de IgG determinada mediante NIRS, fue de 86,6 y 78,6 g/L respectivamente.

Al igual que la recomendación de otros autores (Bielmann et. al., 2010, y Chigerwe et. al., 2008), quienes utilizaron la radio inmunodifusión (RID) como método de determinación de la concentración de IgG en calostro, en este estudio se consideró como calostro de calidad aceptable, a aquellos que presentaron una concentración de IgG igual o superior a 50 g/L (medido mediante NIRS). Dicho valor se encuentra representado en la Figura 1 (valor de corte aceptable NIRS), en la cual se presenta la frecuencia de distribución de los valores de IgG del calostro medidos a través de NIRS. Se observa que, el mayor número de muestras se encontraron entre 50 y 110 g/L, representando un 58,4% del total y tan solo el 17,8% de las muestras se presentaron bajo el valor de corte de 50 g/L para la

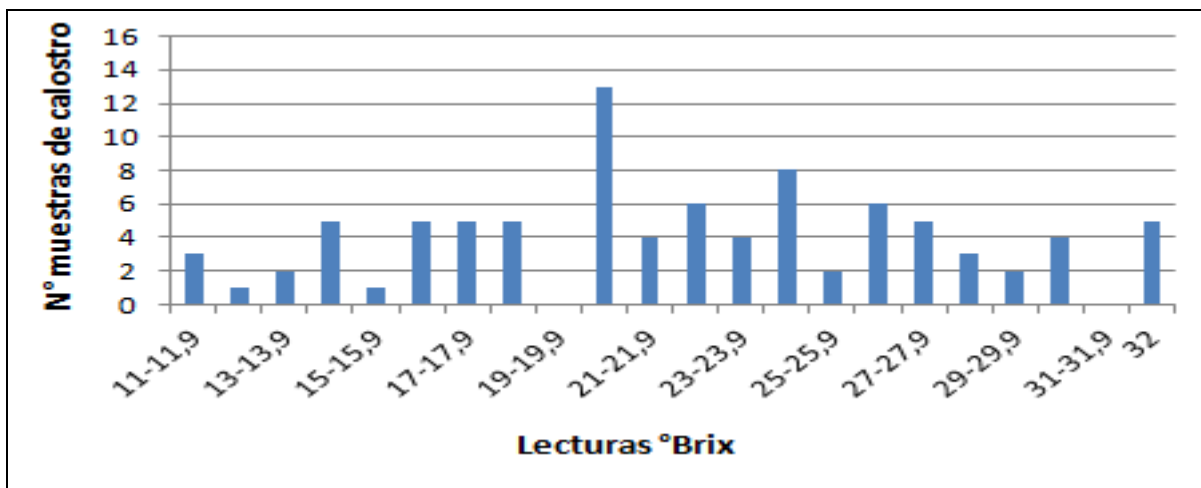
concentración de IgG, lo que es similar a lo observado por otros autores, quienes reportaron un 16% de muestras bajo el valor de corte (Quigley et. al., 2013).



**FIGURA 1.** Frecuencia de distribución de la concentración de IgG (g/L) de 89 muestras de calostro de vacas Holstein medido a través de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS).

La frecuencia de distribución de los grados Brix, obtenidos por las muestras de calostro analizadas, se muestra en la Figura 2. Las lecturas presentaron un rango desde 11 a 32° Brix, siendo la media de 22° Brix y la mediana de 22,1° Brix. Dentro de las muestras, 5 del total obtuvieron un valor por encima del máximo que marca el refractómetro (32° Brix), traspasando el nivel superior de la distribución. 22 muestras se encontraron bajo 18° Brix, lo que representa un 24,7% del total, ese mismo porcentaje se observó para el rango de muestras que se encuentran entre 18 y 22° Brix, por último un 50,5% del total de muestras se presentó sobre los 22° Brix y no se presentaron muestras para el rango entre 19 a 19,9° Brix.

La idea de agrupar los grados Brix según rangos obedece a lo mencionado por Biemann et. al. (2010), quienes destacan que existe dificultad para leer la escala del refractómetro Brix y asignar un valor adecuado, ya que en algunas muestras no es posible distinguir entre decimales, puesto que la línea que indica los grados Brix se encuentra poco definida o borrosa.

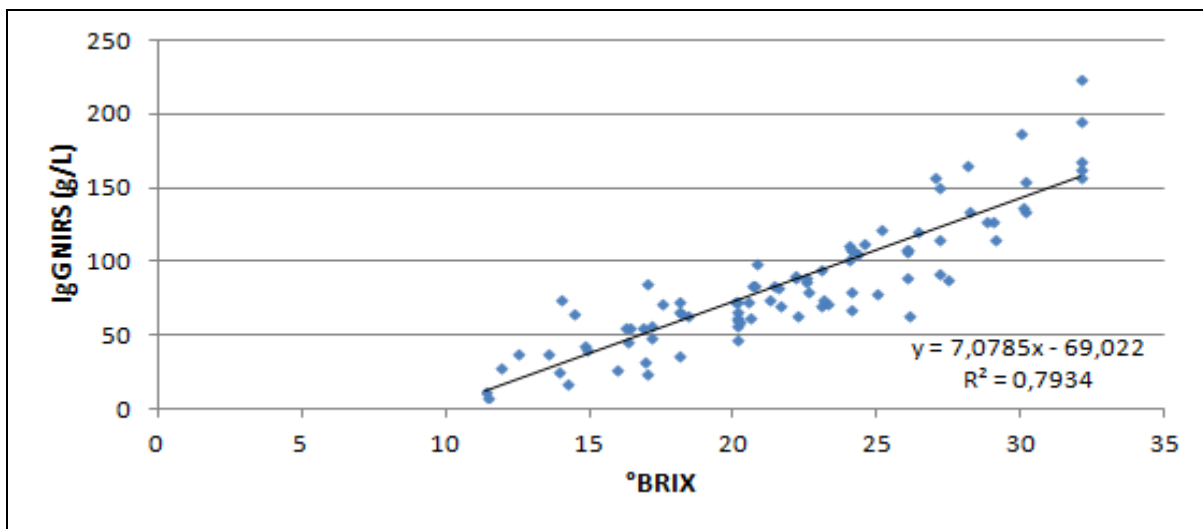


**FIGURA 2. Frecuencia de distribución de lecturas obtenidas por refractómetro Brix, para la determinación de IgG, de un total de 89 muestras de calostro, de un rebaño de vacas Holstein.**

### 3.2 Correlación entre métodos de determinación de IgG por NIRS y por refractómetro Brix

La relación entre las lecturas entregadas por el refractómetro Brix y la cantidad de IgG (g/L) que contienen las muestras de calostro analizadas por NIRS, se estableció mediante una regresión simple (Figura 3), donde se observa que existe un alto grado de correlación entre los grados Brix y las concentraciones de IgG estimadas por NIRS, con un coeficiente de correlación de 0,89 y un  $R^2 = 0,79$ .

Este  $R^2$  (0,79), es superior al obtenido por otros autores, como Lozic (2012), Biemann et. al. (2010) y Chigerwe et. al. (2008), quienes reportaron un  $R^2$  de 0,56, 0,50 y 0,41 respectivamente. Fox y McSweeney (1998) señalan que dichas diferencias pueden deberse a un efecto ocasionado por el volumen y la proporción de proteína presente en el calostro, los cuales afectarían la precisión del refractómetro, además los glóbulos de grasa y micelas de caseína presentes en la leche, pueden alterar el índice refractivo de esta. En consideración a lo mencionado anteriormente, es posible que los individuos de este estudio hayan tenido menor variabilidad en la composición del calostro, evitando que ocurra una alteración en las lecturas del instrumento, conllevando a un mayor coeficiente de determinación entre las lecturas obtenidas por el refractómetro Brix y la determinación de IgG mediante NIRS.



**FIGURA 3. Correlación entre las lecturas por Refractómetro Brix y NIRS de IgG en muestras de calostro de vacas Holstein (n = 89).**

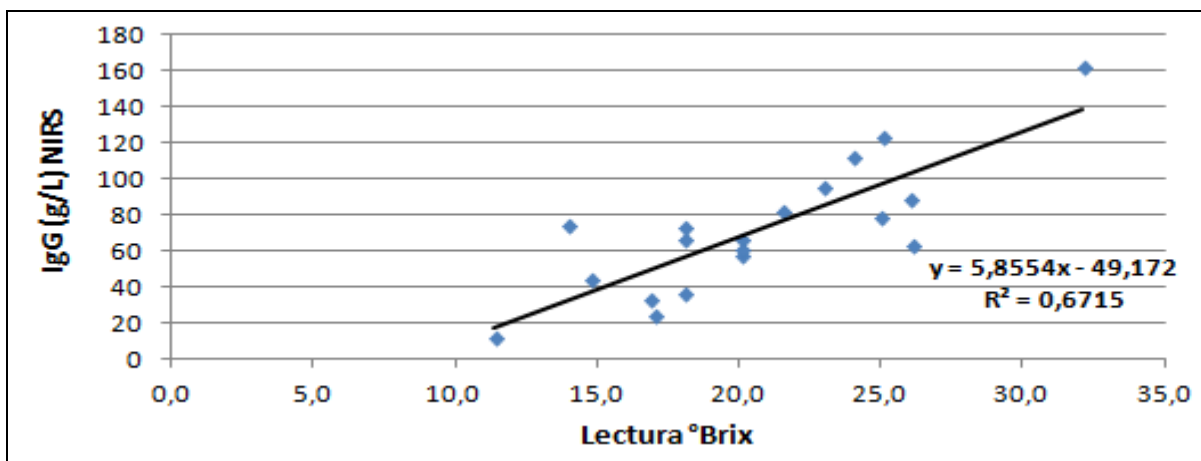
### 3.3 Concentración de Inmunoglobulinas según número de parto

En la Figura 4, se observa que para las vacas de primer parto, existe un alto coeficiente de determinación ( $R^2 = 0,67$ ) entre los grados Brix y los valores entregados a través del equipo NIRS, con un coeficiente de correlación del  $r = 0,82$ . Sin embargo, se debe tomar en cuenta que el número de muestras es reducido ( $n=19$ ), por lo que se debe ser cuidadoso con su interpretación.

El calostro de estos animales es sorprendentemente de alta calidad, presentándose tan solo 5 muestras por debajo del valor aceptable de 50 g/L de IgG. Lo anterior se contrapone a lo mencionado en la literatura, donde es de conocimiento común que el calostro de vacas primíparas, no presenta buena calidad inmunológica, siendo inferior en su contenido de IgG respecto a vacas multíparas de la misma raza (Oyeniya y Hunter, 1978).

Al comparar el  $R^2$  obtenido para vacas primíparas en este estudio (0,67) con el publicado por Lozic (2012) ( $R^2 = 0,185$ ), se observa que este último, no obtuvo un buen ajuste entre los grados Brix y los valores entregados por el NIRS, producto de una mayor variabilidad

en las lecturas Brix para una misma concentración de IgG. La mayor calidad de calostro presentado por las vacas primíparas en el presente estudio, podría deberse a un factor genético y a la exposición al medio ambiente, donde el rebaño, al estar a pastoreo y en la zona sur, pudo haberse enfrentado a condiciones de bajas temperaturas, lluvias, mayor exposición frente a patógenos, lo que pudo haber generado un mayor contenido de IgG en el calostro.

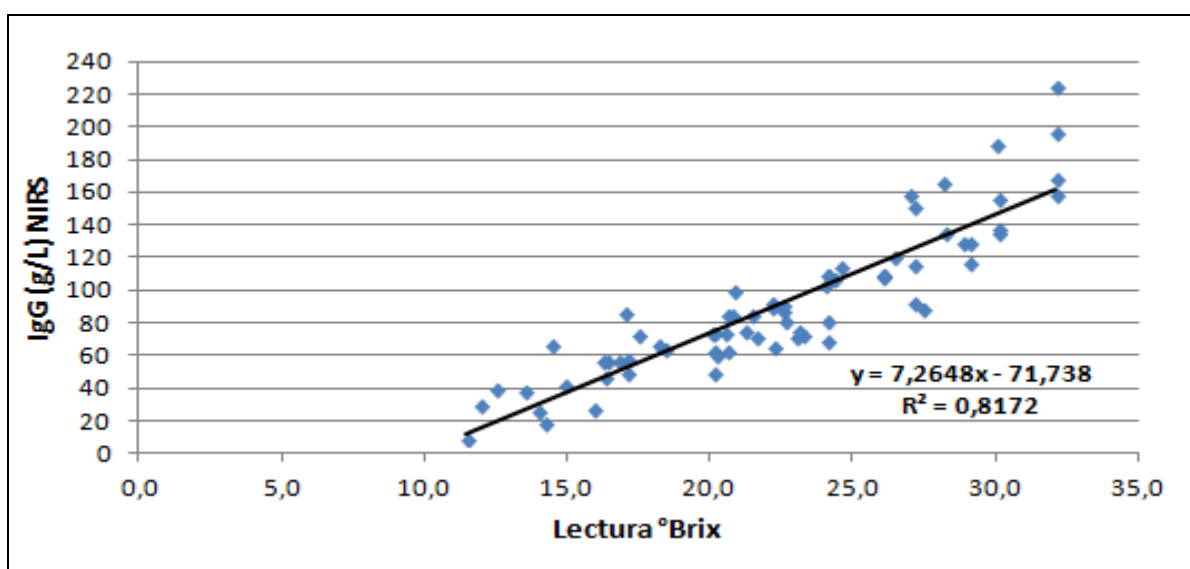


**FIGURA 4. Relación entre las muestras de calostro analizadas por el refractómetro Brix y la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en vacas primíparas (n =19).**

En la Figura 5, se muestra la relación existente entre las muestras de calostro analizadas por el refractómetro Brix y el NIRS, en vacas múltiparas. Se observa que la ecuación interpreta en su mayor medida el comportamiento de los datos, entre estos dos métodos de evaluación, con un  $R^2$  de 0,81, el cual es mayor al presentando por Lozic (2012) ( $R^2 = 0,72$ ).

Es fundamental destacar el hecho, de que en este estudio los datos de lecturas de grados Brix y valores de IgG medidos a través de NIRS, tanto para vacas múltiparas como para vacas primíparas, se ajustan bien a la curva de regresión, siendo posible utilizar una sola curva y no hacer una separación según número de parto. Lo anterior no es posible en el caso de Lozic (2012), donde es necesario realizar distintas curvas de regresión para vacas de primer parto y de segundo parto en adelante, ya que el  $R^2$  para vacas primíparas

no es representativo. Lo anterior es reafirmado en estudios realizados por Biemann et. al. (2010), quienes destacan que existe la necesidad de tener diferentes puntos de corte de grados Brix para animales de distinto número de parto. Cabe destacar que si bien el refractómetro Brix es un método que nos permite seleccionar calostros de mínima calidad hacia arriba, hay que tener en consideración que se debe evaluar la calidad de calostro para vacas primíparas. Si el predio presenta buena calidad, como en este estudio, el calostro se puede dar a los terneros y si es de mala calidad o se desconoce, se debe dar calostro de vacas de más de un parto o mezclar el de vaca primípara con este.



**FIGURA 5. Relación entre las muestras de calostro analizadas por el refractómetro Brix y la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) en vacas múltiparas (n =69).**

### 3.4 Punto de corte para refractómetro Brix

Con el objetivo de asegurar que el calostro de mínima calidad requerida sea suministrado a los terneros, Biemann et. al. (2010) sugieren, que es necesario determinar los valores de corte apropiado de grados Brix, que correspondan estrechamente a los valores de concentración de IgG obtenidos mediante radio inmunodifusión (RID), sobre 50 g/L, que serían muestras de calidad positiva o aceptable. En el caso de este estudio, se utilizó el mismo criterio, pero la concentración fue medida a través del método NIRS (Rivero et. al., 2012).

Para evaluar la capacidad de diagnóstico efectivo del refractómetro Brix, 4 niveles de cortes diferentes fueron utilizados: 18, 20, 21 y 22° Brix. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y precisión fueron calculados, de manera de identificar el punto de corte apropiado para este estudio, que permita estimar de mejor manera los 50 g de IgG por L de calostro (Cuadro 1).

**CUADRO 1. Capacidad de diagnóstico efectivo del refractómetro Brix.**

%	°Brix			
	18	20	21	22
<b>Se</b>	88 a	82 a	66 b	61 b
<b>Sp</b>	83 a	93 a	100 b	100 b
<b>P</b>	88 a	84 a	72 a	67 a
<b>VPP</b>	88 a	82 ab	66 cd	61 d

-Se: Sensibilidad, Sp: Especificidad, P: Precisión y VPP: Valor predictivo positivo. Las letras distintas en forma horizontal indican diferencias significativas al  $P < 0,05$ .

En el Cuadro 1, se observa la sensibilidad, la cual indica que para los valores de 18 y 20° Brix, se obtuvo la mayor capacidad del método Brix para estimar correctamente los valores sobre 50 g/L NIRS, obteniendo un 88 y 82% respectivamente, sin que existan diferencias estadísticamente significativas entre dichos valores. La especificidad, que indica la capacidad de la prueba Brix para detectar valores menores de 50 g/L, fue aumentando junto con los puntos de corte de grados Brix, siendo máxima para 21 y 22° Brix, diferenciándose estadísticamente de los puntos de corte de 18 y 20° Brix. Para la precisión, que es la capacidad del método para detectar valores sobre o bajo 50 g/L, a pesar de observarse una diferencia numérica no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los distintos grados Brix evaluados. Lo anterior puede deberse al número de muestras evaluadas y probablemente al aumentar el n muestral se presentaría una mayor robustez de los datos y por tanto de su significancia. El valor predictivo positivo para el punto de corte de 18° Brix fue de 88%, representando el valor más alto entre los distintos puntos de corte, diferenciándose estadísticamente de los demás.

El punto de corte publicado por algunos autores para predecir la concentración de IgG es variable, encontrándose sugerencias de puntos de corte desde 18 (Morril et. al., 2012) a 22° Brix (Bielmann et. al., 2010). La idea es determinar el punto de corte con el mínimo posible de falsos negativos, permitiendo que menos muestras de calostro positivas nos queden fuera del punto de corte. En el presente estudio, a medida que nos acercamos al punto de corte de 21° Brix, se dejan fuera mayor cantidad de muestras de calostro y entre 18 y 20° Brix, se recuperan muestras positivas (sobre 50 g/L).

Morril et. al. (2012) afirman, que la sensibilidad es la prueba más importante, incluso que la especificidad, por lo que se debe maximizar, ya que esto permite obtener la menor cantidad de muestras clasificadas erróneamente como sobre 50 g/L y se evita la alimentación con calostro que presenta insuficiente cantidad de IgG (<50 g/L). El uso de puntos de corte por sobre el óptimo, disminuiría las posibilidades de clasificar de forma incorrecta calostro pobre, como calostro de calidad, sin embargo, ciertos calostros de baja calidad, pueden clasificarse de manera errónea como adecuados. En base a lo mencionado por dichos autores, para este rebaño se recomienda el punto de corte de 18° Brix, el cual presenta una sensibilidad, especificidad, precisión y valor predictivo positivo de 88, 83, 88 y 88% respectivamente, siendo el que mejor discrimina entre calostros de calidad aceptable.

#### 4 CONCLUSIONES

- El refractómetro Brix, es un método rápido y preciso, que permite evaluar la calidad del calostro, a través de la determinación indirecta de la concentración de IgG, del calostro de vacas de primer parto en adelante.
- Existe un alto grado de correlación entre los grados Brix y las concentraciones de IgG estimadas por NIRS, tanto para vacas multíparas, como para vacas primíparas.
- Para este predio, el calostro proveniente de vacas de primer parto, presenta una elevada calidad, haciendo posible la utilización de la misma curva de calibración y punto de corte de grados Brix, para todo el rebaño al parto.
- Tanto la prueba de sensibilidad, como la de especificidad, indican que el refractómetro Brix, al compararlo con el método NIRS, es capaz de diferenciar entre calostros de buena ( $\geq 50$  g de IgG/L) y mala calidad.
- Para este estudio, se sugiere utilizar el punto de corte de 18°Brix, ya que es el que presenta mayor sensibilidad, permitiendo asegurar que calostro de calidad, con una concentración de IgG superior a 50 g/L, será brindado a los terneros para lograr un adecuado nivel de inmunidad.

## 5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOMAR, D, y FUCHSLOCHER, R., 1998. Fundamentos de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. *Agro Sur* 26 (1): 88-104.

BIELMANN, V, GILAN, J, PERKINS, N, SKIDMORE, A, GODDEN, S, Y LESLIE, K., 2010. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *American Dairy Science Association*. 93:3713-3721.

CHIGERWE, M, TYLER, J, MIDDLETON, J, SPAIN, J, DILL, J, STEEVENS, B., 2008. Comparison of four methods to assess colostral IgG concentration in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 233:761-766.

CONNELLY, M, BERRY, D, SAYERS, R, MURPHY, J, LORENZ, I, DOHERTY, M, KENNEDY, E., 2013. Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrums of dairy cows. *Animal*. pp: 1824-1832.

CAMPOS, R, CARILLO, A, LOAIZA, V, y GIRALDO, L., 2007. *El Calostro: Herramienta para la cría de terneros*. Universidad Nacional de Colombia. 16 pp.

ELIZONDO, J., 2007. Importancia del calostro en la crianza de terneros. *Revista ECAG informa*, Nº 40 Abril-Junio 2007.

FOX, P, y MCSWEENEY, P., 1998. *Dairy chemistry and biochemistry*. Chapman and Hall, London, UK.

- GODDEN, S., 2008. Colostrum Management for Dairy Calves. *Vet Clin Food Anim.* 24:19-39.
- JASTER, E., 2005. Evaluation of Quality, Quantity, and Timing of Colostrum Feeding on Immunoglobulin G Absorption in Jersey Calves. *J. Dairy Sci.* 88:296-302.
- LEYTON, W., 2007. Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review 389:93-109.
- LOZIC, S., 2012. Calibración de refractómetro Brix para la determinación del contenido de inmunoglobulina G en calostro bovino. Tesis ingeniero agrónomo. Universidad Austral de Chile. 30 p.
- MORRIL, K, CONRAD, E, POLO, J, LAGO, A, CAMPBELL, J, QUIGLEY, J, TYLER, H., 2012. Estimate of colostrum immunoglobulin G concentration using refractometry without or with caprylic acid fractionation. *J. Dairy Sci.* 95:3987-3996.
- OYENIYI, O, y HUNTER, A., 1978. Colostral constituents including immunoglobulins in the first three milkings postpartum. *J. Dairy Sci.* 61:44-48.
- QUIGLEY, J, LAGO, A, CHAPMAN, C, ERICKSON, P, POLO, J., 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrums. *J. Dairy Sci.* 96:1148-1155.
- RIVERO, M, VALDERRAMA, X, HAINES, D, y ALOMAR, D., 2012. Prediction of immunoglobulin G content in bovine colostrum by near-infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 95:1410-1418.

STELWAGEN, K, CARPENTER, E, HAIGH, B, HODGKINSON, A, y WHEELER, T., 2009.  
Immune components of bovine colostrum and milk. J. Anim. Sci. 87(13 Suppl.):3-9.

WEAVER, D, TYLER, D, VANMETRE, D, HOSTETLER, D, BARRINGTON, G., 2000.  
Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. J. Vet. Intern. Med. 14:569-577.