



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EVALUACIÓN DE UN PRODUCTO EN BASE A
INMUNOGLOBULINAS ESPECÍFICAS DE HUEVO EN LA
PREVENCIÓN DE LA DIARREA NEONATAL DEL TERNERO

MARCELO IGNACIO QUIROGA IBARRA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

PROFESOR GUÍA: CÁRLOS NUÑEZ

SANTIAGO, CHILE
2012



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



EVALUACIÓN DE UN PRODUCTO EN BASE A
INMUNOGLOBULINAS ESPECÍFICAS DE HUEVO EN LA
PREVENCIÓN DE LA DIARREA NEONATAL DEL TERNERO

MARCELO IGNACIO QUIROGA IBARRA

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias Clínicas

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA : CARLOS NUÑEZ
PROFESOR CORRECTOR: MARIO DUCHENS
PROFESOR CORRECTOR: ULISES VERGARA

SANTIAGO, CHILE
2012

A mis padres: Jaime y Alicia por su amor y confianza incondicional

A mi hermana: María Isabel por su apoyo y alegría

A mis abuelos: por sus valores y sabiduría

A mis amigos: por tantos momentos compartidos

A mis profesores: por su consejo y amistad

MEMORIA DE TÍTULO

“EVALUACIÓN DE UN PRODUCTO EN BASE A INMUNOGLOBULINAS ESPECÍFICAS DE HUEVO EN LA PREVENCIÓN DE LA DIARRREA NEONATAL DEL TERNERO”

“EVALUATION OF A PRODUCT ABOUT SPECIFIC EGG’S IMMUNOGLOBULINS IN THE PREVENTION OF THE NEONATAL DIARRHEA’S CALF”

Marcelo Ignacio Quiroga Ibarra*

*Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Resumen

Se evaluó un producto elaborado a partir de inmunoglobulinas específicas de huevo en la prevención de la diarrea neonatal del ternero, Protimax®, Trow Nutrition International. Se asignaron aleatoriamente 68 terneras Holstein manejadas en un sistema de crianza artificial a dos grupos equivalentes de 34 animales cada uno. Al grupo tratado se agregó el producto en estudio en el sustituto lácteo en dosis de cinco gramos diarios por animal, desde el primer y hasta los 21 días de vida, en el grupo control no se agregó el producto. Se evaluaron los indicadores medico-productivos: incidencia, mortalidad, duración de los signos clínicos y severidad de la diarrea, además del peso a los 30 días. No se evidenciaron diferencias en ninguno de los parámetros analizados a excepción de la intensidad de los signos clínicos, en el que el grupo tratado presentó diarreas menos severas que el grupo control. Durante el transcurso del estudio se presentó un brote de diarrea con anormalmente alta incidencia y mortalidad de animales, lo cual puede haber influido en los resultados obtenidos, lo anterior sugiere realizar nuevos estudios en condiciones epidemiológicas más controladas.

Palabras Clave: Diarrea neonatal, inmunidad pasiva, calostro, inmunoglobulinas aviares, IgY.

Summary

A product made from specific egg's immunoglobulin was evaluated in the prevention of calf's diarrhea, Protimax®, Trow Nutrition International. 68 Holstein calf were randomized assigned in a artificial rearing system in two groups of 34 calf each. To the treated group the product was added in the milk replacer in doses of 5 gr per animal per day, since the first to the 21 day of life, in the group control nothing was added. The medical productive indicators were evaluated: incidence, death rate, duration of the clinical signs and diarrhea's severity, besides the weight in the day 30. There was no evidence of difference in the parameters analyzed except, the intensity of the clinical signs, in which the treated group show diarrhea less severe. During the course of the study an abnormal high incidence of diarrhea was present with high mortality in animals, this may have influenced the results, for this reason it is suggested repeat the study in a controlled epidemiologic set.

Key words: neonatal diarrhea, passive immunity, colostrum, avian immunoglobulins, IgY

Introducción

Un porcentaje importante de las explotaciones pecuarias en Chile corresponde a lecherías, de ellas un 44% cuenta con sistemas de crianza artificial de terneros, con una gran cantidad de animales por unidad de superficie (32). Esta forma de crianza expone a los animales a ambientes contaminados con agentes potencialmente patógenos, lo que asociado a una inadecuada transferencia de inmunidad a través del calostro en las primeras horas de vida, pueden ser causa de enfermedades e incluso la muerte (11, 14).

La escasa información nacional sobre mortalidad neonatal de terneros, entre las 24 horas y 28 días de vida (14), indica un promedio del 12%, fluctuando los valores para diferentes zonas y sistemas entre un 3% y un 17% (11). Entre los cuadros que afectan a terneras recién nacidas cobran importancia los relacionados con diarreas y cuadros respiratorios, donde datos estadounidenses indican que son causantes de un 52.2 % y un 21.3% de la mortalidad neonatal respectivamente (14). Además de la mortalidad directa, deben sumarse las pérdidas indirectas originadas por los tratamientos de las enfermedades, disminución de la ganancia de peso y mayor susceptibilidad para adquirir otras enfermedades durante el periodo de cría y recría de los terneros (10, 28).

Los agentes etiológicos involucrados con mayor frecuencia en diarrea neonatal en terneros corresponden a *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Cryptosporidium sp.*, Rotavirus, Coronavirus, Torovirus, Pestivirus, entre otros (2, 12). Si bien los estudios realizados en Chile en relación a la diarrea neonatal de origen viral en terneros aún resultan escasos y fragmentarios, se puede señalar que Coronavirus y *Escherichia coli* son los agentes viral y bacteriano detectados con mayor frecuencia (11).

Rotavirus: Los Rotavirus son clasificados como un género de la familia Reoviridae, específicamente el rotavirus bovino se clasifica dentro del grupo A y se caracterizan por presentar un genoma ARN de doble hebra y segmentado (12). El virus afecta típicamente a terneros menores de tres semanas de edad, con un *peak* de incidencia a los seis días de edad (26). Después de la ingestión del virus el periodo de incubación es de aproximadamente 16 a 24 horas, con una resolución de la diarrea en casos no complicados de dos días (26, 29). Un foco importante de diseminación de partículas virales lo constituyen animales clínicamente normales, los cuales pueden excretar el virus al medio, en consecuencia resulta posible que terneros neonatos puedan infectarse con fecas de sus madres o de otros terneros diarreicos (26). Rotavirus afecta principalmente a los enterocitos maduros de las vellosidades y las células de

recambio de las criptas (12). El virus se replica en las células provocando la muerte del enterocito. La diarrea entonces, se produce debido a la mala absorción por la pérdida de superficie, a la glucosa y otros carbohidratos no absorbidos que crean un gradiente osmótico hacia el lumen y al aumento de la secreción de fluidos desde las criptas intestinales (12, 26).

Coronavirus: El Coronavirus bovino se clasifica dentro de la familia Coronaviridae, y dentro del grupo II (26). La infección por Coronavirus es causa de diarrea generalmente entre los cinco y veinte días de edad en terneros de lechería como en terneros de carne recién nacidos, ya sea como agente primario y único o en combinación con otros agentes, particularmente Rotavirus y *Cryptosporidium* (29). La patogénesis y las manifestaciones clínicas son muy similares a las generadas por Rotavirus, pero de mayor severidad, resultando muchas veces indistinguible uno de otro (12, 26).

Colibacilosis: Esta infección se caracteriza por la adhesión de una cepa enterotoxigénica de *E. coli* (ECET) a la mucosa del intestino delgado (2). Son afectados preferentemente terneros de dos a tres días de edad en los que produce una diarrea profusa, amarilla, asociado a una severa deshidratación, con una mortalidad elevada en los terneros no tratados (12). El carácter patógeno de estas cepas, radica principalmente en la habilidad de la bacteria para colonizar el intestino y la capacidad de producir toxinas que estimulen la secreción de electrolitos y agua por la mucosa intestinal lo que lleva a la diarrea (2, 12).

Salmonelosis: Dentro de los serotipos de *Salmonella* que afectan al bovino se mencionan a *S. typhimurium* y *S. dublin* como las de mayor importancia (12). Sólo aquellas cepas capaces de invadir la mucosa intestinal causan diarrea por varios mecanismos, incluyendo inflamación y necrosis, incrementando la secreción de fluidos o disminuyendo la absorción y causando una inadecuada digestión (25). Al componente inflamatorio se le ha asignado mayor gravedad a causa de la naturaleza necrótica de la mayoría de las infecciones por *Salmonella*, la cual afecta el borde de las microvellosidades del epitelio intestinal, las células son destruidas y el microorganismo alcanza la lámina propia (25).

Clostridium: La etiología está dada por diferentes tipos de *Clostridium perfringens* que se describen como bacilos anaerobios, Gram positivos, productores de esporas (11). Dentro de éstos, el *C. perfringens* tipo B, causa disentería en terneros de 10 días o más mientras que el tipo C afecta a animales más jóvenes, posiblemente a causa de la disminución de niveles de enzimas digestivas en el ternero neonato, aunque animales sobre dos meses de edad pueden resultar también susceptibles (2). La enfermedad usualmente ocurre en brotes de diarrea

severa con o sin dolor abdominal, se observan a menudo muertes súbitas de terneros de mayor condición y de rápido crecimiento (12).

Protozoos: Las infestaciones protozoarias del bovino asociadas a diarrea neonatal son causadas por dos géneros: *Eimeria* y *Cryptosporidium*; en el caso de *Eimeria* son doce los tipos que afectan a los bovinos, especialmente a animales de seis meses y hasta los dos años de edad. Los adultos generalmente no sufren la enfermedad, porque han generado inmunidad (13). Dentro del género *Cryptosporidium*, ha cobrado importancia *Cryptosporidium parvum*, el cual ataca a terneros jóvenes, principalmente de entre tres días y dos semanas de edad, pudiendo también infectarse a mayor edad pero raramente presentando diarrea después de los tres meses (11, 13). Generalmente se presenta asociado a Rotavirus y Coronavirus originando una diarrea acuosa, amarillenta, mal oliente no hemorrágica. Produce fiebre, deshidratación, anorexia y pérdida progresiva de peso que rara vez conduce a la muerte, sin embargo, al existir sobreinfección el pronóstico se hace desfavorable (13).

La mayoría de los terneros con diarrea mueren a causa de la deshidratación (4). Por ello la hidratación es la primera medida a la hora de instalar un tratamiento, sumado a otras medidas que comprenden la administración de antibióticos, modificadores de la motilidad intestinal y del pH, protectores y absorbentes gastrointestinales, agentes que regulan la secreción incluyendo astringentes, lactobacilos y otros microorganismos, esteroides, antiadhesivos microbianos, antitoxinas y anticuerpos policlonales (3, 4, 7).

Aunque existen muchas alternativas en el tratamiento de las diarreas, algunas son eficaces y otros de cuestionable valor (7). El aumento de la resistencia de los agentes a los tratamientos antimicrobianos debido al mal uso de los mismos, junto con el excesivo gasto en tiempo del personal, los altos costos del tratamiento y las pérdidas económicas productivas derivadas de la diarrea, han orientado los esfuerzos en la prevención de ésta, principalmente sobre la base de medidas enfocadas a proporcionar una adecuada inmunidad pasiva mediante un adecuado manejo del calostro, propiciar un ambiente limpio, sin estrés y además la administración de otros productos, como por ejemplo probióticos (3, 4, 21).

Una de las principales deficiencias en el manejo del ganado en sus primeras horas de vida es la falla en la transferencia pasiva de inmunidad (FTP) derivada de una inadecuada administración de calostro (14). Se considera FTP si la cantidad de IgG en suero es menor 10 mg/ml en animales de 24 a 48 horas de edad (2, 28). Según datos norteamericanos, cerca del 41 % de las terneras tienen una inadecuada concentración de IgG en circulación a las 24 horas de edad

(28). La concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo está claramente asociada con la sobrevivencia y salud de las terneras y depende principalmente del volumen de calostro consumido, la concentración de Ig en él y la eficiencia de absorción en el intestino, esto último asociado particularmente al momento de la administración del calostro (10, 31).

La calidad del calostro se puede determinar a través de un calostrómetro, el cual estima la concentración de inmunoglobulinas a través de la determinación de la gravedad específica de la muestra, considerándose de excelente calidad aquel con concentraciones mayores a 50 mg/ml (14). La calidad inmunológica del calostro varía dependiendo de la raza, el número de parto, la duración del periodo seco y otros factores. Entonces es recomendable medir la calidad de éste para asegurar que la cantidad entregada sea la adecuada ya que a menor calidad será necesario entregar más volumen (10, 21). Es importante, además, que el calostro sea entregado prontamente ya que la renovación de las células intestinales, el incremento de la acidez abomasal y el aumento de la secreción de enzimas digestivas, entre otros factores, disminuyen rápidamente la absorción de macromoléculas a nivel intestinal disminuyendo a un 50 % ya a la sexta hora de vida (6). Es así como medida general se recomienda que las terneras consuman el 10% de su peso corporal en calostro de excelente calidad dentro de las primeras 2 a 4 horas siguientes al nacimiento (2).

Numerosas investigaciones se han enfocado a evaluar otras alternativas para brindar protección pasiva, además de la suministrada por el calostro materno. La administración del calostro en conjunto con suplementos y otras fuentes de anticuerpos como son las inmunoglobulinas específicas provenientes de huevo de gallina han sido evaluadas como alternativas con el fin de mejorar la inmunidad del ternero recién nacido (8).

Las aves, a diferencia a los mamíferos, no disponen de calostro como mecanismo de transferencia pasiva de anticuerpos, en este caso la yema del huevo es el mecanismo de transferencia pasiva a su descendencia (9). La principal inmunoglobulina presente en el huevo corresponde a la Inmunoglobulina de yema o IgY (20, 23, 34). Su acción corresponde fundamentalmente a un efecto de protección local en la mucosa intestinal, muy similar a la ejercida por la IgA de los mamíferos y que principalmente actúa mediante la aglutinación de agentes patógenos, evitando la adherencia a la mucosa intestinal, favoreciendo la opsonización y fagocitosis de los agentes y neutralizando las toxinas secretadas por éstos (1, 34, 38).

Al igual que las inmunoglobulinas de los mamíferos, la IgY presenta 2 cadenas pesadas (H) con una masa molecular de 67 – 70 kDa cada una y 2 cadenas livianas (L) con una masa de 25 kDa

(1, 8, 9). La cadena H de la IgG mamífera se compone de 4 dominios, el dominio variable (VH) y 3 dominios constantes (CH1, CH2 y CH3) (8). El dominio CH1 se separa de CH2 por una región bisagra, lo que le confiere una notable flexibilidad a los fragmentos Fab (Figura 1) (9, 18). Por el contrario la IgY no contiene una región bisagra y posee cuatro dominios constantes (Cv1 a 4) además del dominio variable, además, hay algunas regiones en las IgY que contienen residuos de prolina y glicina, esto junto con una estructura diferente de hoja- β en los dominios constantes de IgY, serían los responsables de una menor flexibilidad en la estructura de la IgY lo que se expresa en diferentes propiedades fisicoquímicas (8, 22, 24).

Dentro de todas las propiedades, la resistencia a la proteólisis es de especial importancia la hora de idear una estrategia de inmunidad pasiva por vía oral, ya que para realizar su función a nivel intestinal la inmunoglobulina debe resistir la degradación por parte de las enzimas digestivas (15, 33). La IgY es relativamente resistente a la tripsina y quimotripsina, pero es bastante sensible a la pepsina (27). Esta sensibilidad depende en gran medida de la relación enzima/sustrato y el pH. A pH 5 o superior la IgY es bastante resistente a la pepsina, manteniendo la unión al antígeno y su capacidad aglutinante, sin embargo a pH 4.5 o menos las dos actividades disminuyeron considerablemente llegando a la hidrólisis completa a pH 2 (18, 22, 27). Sin embargo esto se puede prevenir con técnicas de microencapsulamiento, adición de azúcares y/o el procesamiento del huevo entero (15, 18, 22).

La forma tradicional de obtener anticuerpos de mamífero como ratones, conejos, ovejas y caballos mediante la extracción periódica de sangre de los animales, resulta técnicamente compleja y costosa, además de afectar el bienestar animal lo que finalmente limita su producción a escala industrial (18). La existencia de líneas genéticas de gallinas de alta postura permite elaborar en gran escala esta IgY, obteniendo grandes cantidades a un bajo costo (5, 23). Una sola ave usualmente pone unos 280 huevos por año, y un huevo contiene en su yema alrededor de 100-150 mg de IgY, lo que corresponde a aproximadamente 40 gramos de IgY por gallina al año lo que equivale a la producción de 40 conejos (9, 18). Las gallinas presentan una buena respuesta antigénica a vacunas elaboradas con agentes infecciosos que afectan al bovino y sus anticuerpos se transfieren en muy buena concentración a la yema del huevo (15, 33). Es entonces posible utilizar al huevo y sus derivados como un alimento capaz de transferir anticuerpos específicos, brindando protección pasiva a los terneros, con un menor costo y minimizando el sufrimiento animal en el proceso de extracción (Tabla 1) (15).

En trabajos de campo y experimentales, se ha suministrado oralmente IgY (como yema en polvo o huevo entero) a terneros, demostrándose una efectiva protección para la diarrea

causada por Rotavirus, Coronavirus, colibacilosis y *Salmonellas*. (16, 17, 19, 36, 37). En estos estudios las gallinas han sido repetidamente vacunadas contra estos agentes. Cuando se compararon terneros suplementados con grupos control sin tratamiento o con huevo en polvo de gallinas no vacunadas, se obtuvieron diferentes resultados en animales que habían recibido IgY específica con respecto a los que no las habían recibido, entre los cuales pueden citarse los siguientes:

- Menor incidencia de diarrea y menor mortalidad.
- Mayor ganancia de peso.
- Menor duración y severidad de los signos diarreicos.
- Reducción de la colonización intestinal por los agentes infecciosos.
- Reducción de la carga microbiana en el medio ambiente.
- Disminución en los requerimientos de los tratamientos (16, 17, 19, 36, 37).

En vista de las consecuencias clínicas y económicas de las diarreas neonatales y frente a la creciente preocupación por su prevención se han desarrollado y evaluado variados productos basados en inmunoglobulinas de huevo con el fin de inmunizar pasivamente a los terneros contra los agentes más frecuentemente asociados con esta enfermedad. El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia de un producto comercial a base de huevo entero con inmunoglobulinas específicas contra *E. coli*, Rotavirus, Coronavirus, *Salmonella* y *C. Perfringens*, en un sistema de crianza artificial de terneras en una lechería intensiva de la región de Valparaíso

Material y métodos

El estudio se realizó en un predio lechero con aproximadamente 800 vacas en ordeña de la comuna de Casablanca, Región de Valparaíso. Se utilizó un producto comercial en polvo de huevo entero con inmunoglobulinas específicas, PROTIMAX® elaborado por Trow Nutrition International de procedencia estadounidense, el que se incorporó a la rutina de alimentación de las terneras, agregándolo al sustituto lácteo en una dosis de cinco gramos diarios por animal, desde el primer y hasta los 21 días de vida (dosis y frecuencia recomendada por el fabricante) en el grupo tratado, mientras que al grupo control no se agregó el producto. Así las terneras se

asignaron aleatoriamente en los grupos control y tratadas, donde se incorporaron 34 animales en cada uno. Se evaluaron los siguientes indicadores médico-productivos.

- Presencia o ausencia de diarrea
- Mortalidad
- Peso al nacimiento
- Peso a los 30 días de vida
- Duración de los episodios de diarrea y signos clínicos asociados.
- Severidad del cuadro estimado en tres categorías: leve, moderada y grave (Tabla 2)

Cabe señalar que en estricto rigor, para evaluar el efecto del tratamiento es necesario comparar el producto en estudio que contiene estas inmunoglobulinas en el grupo tratado versus un producto similar (por ejemplo huevo entero sin las inmunoglobulinas) para el grupo control. De esta forma las diferencias en los resultados serán atribuibles exclusivamente a la presencia de inmunoglobulinas. Por otra parte la información entregada por el fabricante no especifica la concentración de inmunoglobulinas en el producto, lo que hace difícil estimar y evaluar la respuesta a diferentes dosis. Consecuentemente el presente estudio se enfoca en evaluar el efecto de la introducción del producto en la rutina de alimentación.

La información recopilada en el estudio se utilizó para comparar ambos grupos de animales usando el programa estadístico SPSS®. Para el análisis de la incidencia y mortalidad de las terneras se utilizó la prueba de χ^2 de hipótesis de independencia. La severidad de los signos clínicos se comparó a través de la prueba de U de Mann-Whitney. Finalmente la duración del cuadro y los pesos al día 30 se compararon a través de pruebas de t de Student para muestras independientes. Para todos los análisis se utilizó un nivel de significancia de 5%.

Resultados

Incidencia: Del total de 68 terneras evaluadas 50 presentaron diarrea, lo que corresponde a un 73,5% de incidencia. Dentro del grupo tratado 23 terneras presentaron diarrea, un 67,6 % de incidencia, mientras que en el grupo control 27 presentaron diarrea que equivale al 79,4% (Figura 2). Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($P= 0,27$).

Mortalidad: Del total de 68 terneras evaluadas 17 murieron durante el transcurso del estudio lo que corresponde al 25%. Dentro del grupo tratado 8 murieron lo que equivale a un 23,5% mientras que en el grupo control se registraron 9 muertes, un 26,5% (Figura 2). Las diferencias encontradas entre ambos grupos no fueron significativas ($P= 0,78$).

Peso a los 30 días: Para el grupo tratado se obtuvo un peso promedio (\pm desviación estándar) de $50,9 \pm 1,4$ Kg. Para el grupo control el peso a los 30 días fue de $51,2 \pm 2,9$ Kg. (Figura 3). Estos resultados no mostraron diferencia significativa ($P= 0,71$).

Duración signos clínicos: Para el grupo tratado el promedio de días de duración de los signos fue de $3,9 \pm 1,2$ días. Por otra parte el grupo control mostró una mayor duración de éstos con $4,4 \pm 1,5$ días (Figura 4). Estas diferencias no resultaron significativas ($P= 0,17$).

Severidad de la diarrea: Al analizar los datos obtenemos que las cifras para los niveles de diarrea leve, moderada y grave en el grupo tratado fueron 52,2%, 39,1% y 8,7% respectivamente, mientras que para el grupo control para los niveles leve, moderada y grave fueron 18,5%, 33,3% y 48,1% respectivamente (Figura 5). Según la prueba estadística de U de Mann-Whitney esta diferencia es significativa ($P= 0,01$), lo que indica que la severidad de la diarrea difiere entre ambos grupos, siendo ésta menor en el grupo tratado.

Discusión

En los parámetros evaluados en el presente estudio no se evidenció efecto en incidencia, mortalidad, peso a los 30 días y duración del cuadro. Solamente se determinó un efecto significativo en la severidad de la diarrea, donde el grupo tratado presentó una menor intensidad de los signos clínicos. Este último resultado es discutible puesto que los parámetros utilizados en la elaboración de estos análisis son cualitativos y por lo tanto en su apreciación puede existir un sesgo asociado al efecto del observador.

La administración del producto se realizó de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, respecto a dosis, vía y periodo de consumo. Según lo planteado en la revisión bibliográfica el efecto esperado con este tipo de administración correspondería fundamentalmente a una acción de inmunidad local, puesto que en este escenario no existiría absorción de inmunoglobulinas. Por otra parte el mayor efecto protector de las inmunoglobulinas calostrales en el neonato corresponde a una condición de inmunidad sistémica, derivada de la absorción de inmunoglobulinas durante las primeras horas de vida. Lo anterior sugiere que para obtener ambos efectos (local y sistémico) la administración del producto debería realizarse

tempranamente, 12 horas como máximo después del nacimiento, manteniéndose durante los primeros días de vida. Lo anterior sugiere que se debería evaluar el efecto de administrar el producto en combinación con el calostro y durante los primeros días de vida para lo cual es necesario determinar experimentalmente las dosis y periodos de administración.

Según la literatura y los datos entregados por el fabricante, el producto abarca un amplio espectro de agentes contra los cuales el producto cuenta con inmunoglobulinas específicas, sin embargo en el presente estudio no consideró y en consecuencia no se realizó el diagnóstico específico de él o los agentes causantes del brote de diarrea. Es, entonces posible, que en este caso, los agentes causantes del cuadro sean distintos a los considerados en la elaboración del producto, en consecuencia es probable que los casos estudiados estuvieran asociados a otros agentes, menos frecuentes, pero posibles de ser los causantes de la enfermedad, frente a los cuales el producto no tiene actividad.

Durante el transcurso del estudio el plantel registró un brote de diarrea neonatal de alta incidencia (73,5% en el total de animales del estudio) acompañado de alta mortalidad (25% total), ambas inusualmente elevadas para lo que se registra en estudios nacionales. Esta condición epidemiológica, caracterizada por altas cargas ambientales de agentes derivadas de la presencia de gran cantidad de individuos enfermos confinados en un reducido espacio, determina un aumento en la susceptibilidad de los individuos y/o de la virulencia de los agentes, lo cual determina una situación excepcional, donde este tipo de medidas de manejo escasamente puede tener un efecto evidente en la prevención de este tipo de cuadros, y este u otros productos no mostrarán los efectos positivos que podrían tener en condiciones de menor riesgo epidemiológico.

Los resultados obtenidos difieren con la información descrita en publicaciones previas, en las cuales se encuentran resultados positivos en los parámetros estudiados, las cuales corresponden a ensayos de laboratorio, con un bajo número de animales, con factores ambientales controlados y con infecciones experimentales en base a agentes identificados e inoculados controladamente y en general en condiciones de bajo desafío. Esto contrasta con el sistema donde se desarrolló el ensayo en el cual se mantiene un alto número de animales por unidad superficie, los animales son manejados en condiciones productivas, la probable transmisión de agentes es accidental asociada a la exposición a utensilios o ambiente contaminado y el control individual sobre cada individuo es menor.

En consideración a todo lo anterior es posible concluir que para las condiciones específicas de este estudio el producto no representó una ventaja en la prevención de la diarrea neonatal, sin embargo en condiciones más usuales su efecto pudiera ser positivo.

El diseño de los ensayos para evaluar este tipo de aditivos en condiciones naturales, o de manejo regular, deberían considerar diferentes situaciones epidemiológicas, un mayor tamaño muestral, condición inmunológica de los animales, asociada a al consumo de calostro, identificación de los agentes involucrados en los cuadros e información sobre la concentración de inmunoglobulinas en el producto, a fin de determinar la dosificación más adecuada.

Referencias

1. Alarcón C, Hurtado H, Castellanos J. Anticuerpos aviares: alternativa en producción y diagnóstico. *Biomédica* (20). 2000; 338-343.
2. Baquero-Parrado JR. Diarrea neonatal indiferenciada en terneros: consideraciones sobre su prevención en campo. *Vet Zootec* (2). 2008; 59-68.
3. Constable P. Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *J Vet Intern Med* (20). 2004; 8-17.
4. Constable P. Treatment of calf diarrhea: Antimicrobial and ancillary treatments. *Vet Clin North Am. Food Anim. Pract.* (25) 2009; 101-120.
5. Cook ME, Trott DL. IgY – Immune component of eggs as a source of passive immunity for animals and humans. *World's Poultry Science Journal* (66). 2010; 215-226.
6. Cortese VS. Neonatal immunology. *Vet Clin Food Anim* (25). 2009; 221-227.
7. Chacana PA, Terzolo HR, Gutiérrez E, Schade R. Tecnología IgY o aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina: biología, propiedades y su aplicación en medicina humana y veterinaria. *Rev Med Vet* (85). 2004; 179-189.
8. Chalghoumi R, Beckers Y, Portelle D, Théwis A. Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* (13). 2009; 295-308.
9. Dias da Silva W, Tambourgi D. IgY: A promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol* (135). 2010; 173-180.

10. Elizondo-Salazar J. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agronomía Mesoamericana* (18). 2007; 271-281.
11. Foster C. Memoria de título médico veterinario. Estudio anatómico e histopatológico de las patologías digestivas en terneros de crianza artificial muertos en el primer mes de vida. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. 2007. 84p
12. Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am. Food Anim* (25). 2009; 13-36.
13. Gorman T. Coccidiosis y cryptosporidiosis de los rumiantes. *Patología Animal* (8). 1994; 40-45.
14. Heinrichs AJ, Radostits OM. Health and production management of dairy calves and replacement heifers. In: *Herd Health, Food Animal Production Medicine*. Third ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania, 2001.
15. Hodek P, Stiborová M. Chicken antibodies – superior alternative for conventional immunoglobulins. *Indian nat Sci Acad*. 2003; 461-468.
16. Ikemori Y, Kuroki M, Peralta R, Yokoyama H, Kodama Y. Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am J Vet Res* (53). 1992; 2005.
17. Ikemori Y, Ohta M, Umeda K, Icatlo FC, Kuroki M, Yokohama H. et al. Passive protection of neonatal calves against bovine coronavirus-induced diarrhea by administration of egg yolk or colostrum antibody powder. *Vet Microbiol* (58) 1997; 105.
18. Kovacs-Nolan J, Mine Y. Avian egg antibodies: basic and potential applications. *Avian and Poultry Biology Reviews* (15). 2004; 25-46.
19. Kuroki M, Ohta Y, Ikemori Y, Peralta RC, Yokohama H, Kodama Y. Passive protection against bovine rotavirus in calves by specific immunoglobulins from chicken egg yolk. *Arch. Virol*. 1994; 143.
20. Lee EN, Sunwoo HH, Menninen K, Sim J. In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Poultry Sci* (81). 2002; 632-641.

21. Lorenz I. Diarrhoea of the young calf: an update. World Buiatrics Congress. Nice, France [Internet]. 2006. Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/lorenz.pdf> [Citado en May 2012].
22. Michael A, Meenatchisundaram S, Parameswari G, Subbraj T, Selvakumaran R, Ramalingam S. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as an alternative to mammalian antibodies. *Indian Journal of Science and Technology*. 2010; 468-474.
23. Mine Y. Egg yolk antibody (IgY). In: *Egg Bioscience and Biotechnology*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey. 2008. p. 206-237.
24. Mine Y, Kovacs-Nolan J. Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious disease: a review. *Journal of Medicinal Food* (5). 2002; 159-169.
25. Mohler V, Izzo M, House J. Salmonella in calves. *Vet Clin Food Anim* (25). 2009; 37-54.
26. Murphy FA, Gibbs EP, Horzinek MC, Studdert MJ. *Veterinary Virology*. Third ed. Academic Press. San Diego, California, 1999.
27. Narat M. Production of antibodies in chickens. *Food Technol. Biotechnol* (41). 2003; 259-267.
28. Quigley, J. The role of oral immunoglobulins in systemic and intestinal immunity of neonatal calves. Diamond V Mills, Cedar Rapid, Iowa, USA [Internet]. 2004. Disponible en: http://www.extension.iastate.edu/NR/rdonlyres/E805E929-2CEC-4DA8-A98C-CE1F618022D3/87071/RoleOfOrallmmunogloblins_Quigley.pdf [Citado en May 2012].
29. Reinhardt G. Enfermedad digestiva del ternero de origen viral. *Patología Animal* 1994; 27-33.
30. Rejas J, Alonso A. Principios generales de fluidoterapia en rumiantes. *Rev electron clin vet*. Vol III, Nº 6. [Internet]. 2008. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n060608/060802.pdf> [Citado en May 2012]
31. Stott GH, Marx DB, Menefee, BE, Nightengale GT. Colostral immunoglobulin transfer in calves. *J Dairy Sci* (62). 1979; 1632-1638.
32. Tadich N. Ambiente y enfermedad en los animales de crianza artificial. *Patología Animal* (8). 1994; 10-14.

33. Tini M, Jewell UR, Camenisch G, Chilov D, Gassmann M. Generation and application of chicken egg-yolk antibodies. *Comp Biochem Physi* (131). 2002; 569-574.
34. Tizard IR. *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. 8ª ed. Elsevier S.L. Barcelona, España, 2009.
35. University of Wisconsin – Madison. School of Veterinary Medicine. Calf health scoring chart [Internet]. 2009. Disponible en: http://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/8calf/calf_health_scoring_chart.pdf [Citado en May 2012]
36. Vega C, Bok M, Chacana P, Saif L, Fernández F, Parreño V. Egg yolk IgY: protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. *Vet Immunol Immunopathol*. (142). 2011; 156-160.
37. Yokoyama H, Peralta R, Umeda K, Hashi T, Icatlo F, Kuroki M, Ikemori Y, Kodama Y. Prevention of fatal salmonellosis in neonatal calves, using orally administered chicken egg yolk *Salmonella*-specific antibodies *Am. J. Vet. Res* (59). 1998; 416.
38. Yongping X, Xiaoyu L, Liji J, Yuhong Z, Yanan L, Shuying Li, et al. Application of chicken egg yolk immunoglobulins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: A review. *Biotechnology Advances* (29). 2011; 860-868.

Figuras

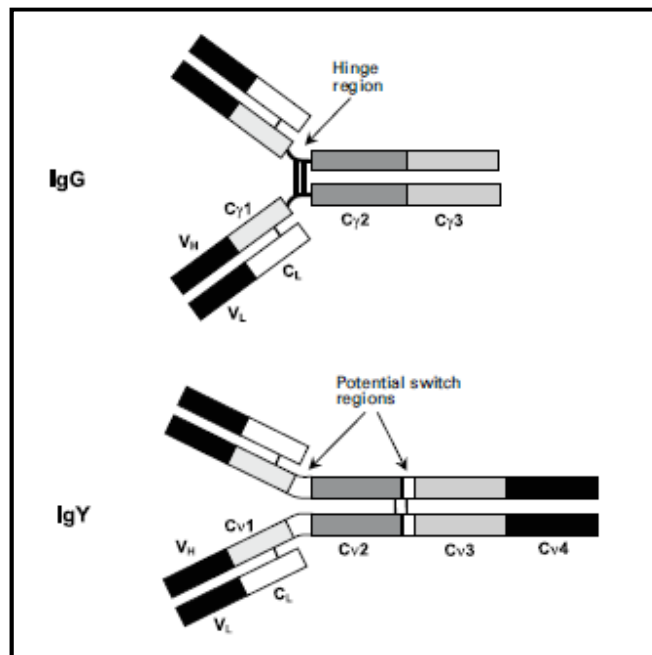


Figura 1: Estructura de las inmunoglobulinas mamífera IgG y aviar IgY*

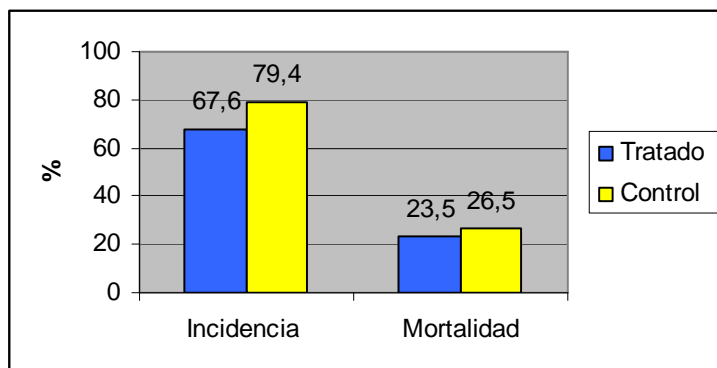


Figura 2: Porcentajes de incidencia y mortalidad encontrados en el estudio según grupo control y tratado

* Fuente: Kovacs-Nolan, 2004

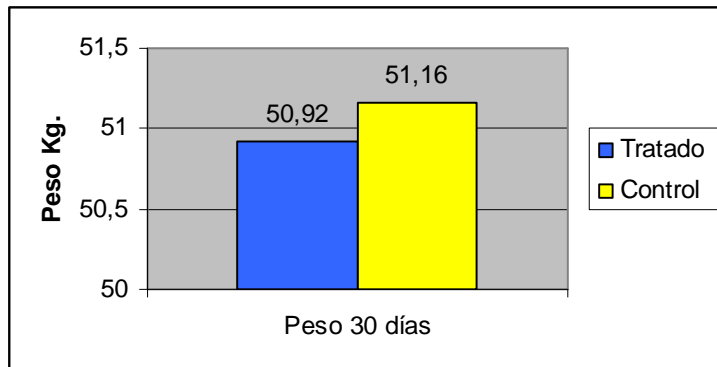


Figura 3: Peso en Kg. evaluado a los 30 días de vida según grupo control y tratado

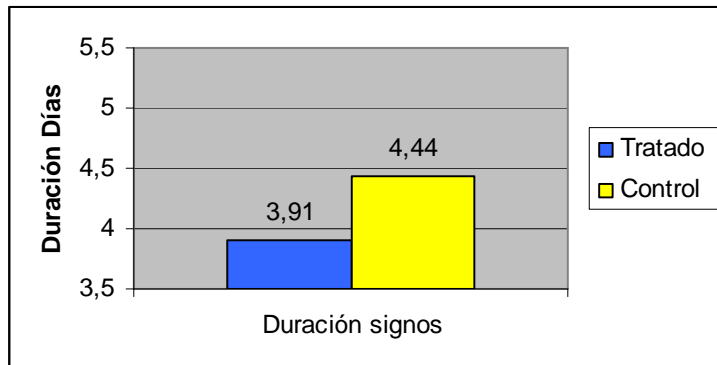


Figura 4: Días de duración de los signos clínicos según grupo control y tratado

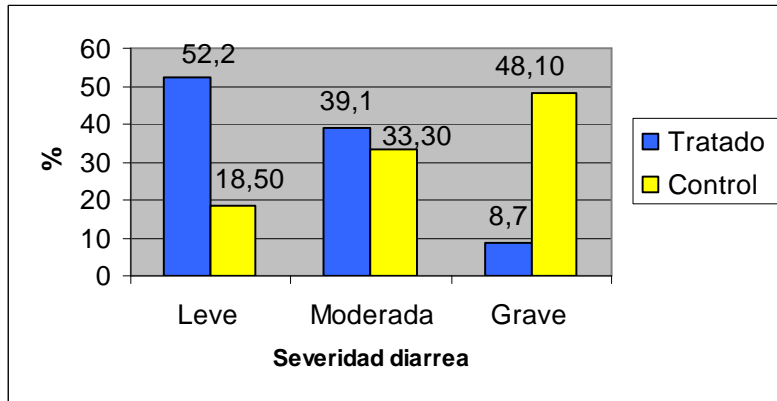


Figura 5: Severidad del cuadro de diarrea en grupo tratado y control según porcentaje alcanzado

Tablas

Animals	Rabbit (IgG)	Chicken (IgY)
Source of antibody	Blood serum	Egg yolk
Kind of antibody	Polyclonal	Polyclonal
Antibody sampling	Bleeding	Collecting eggs
Antibody amount	200 mg/bleed (40 ml blood)	100 ± 150 mg/egg
Quantity of antibody (per year)	1400 mg	40, 000 mg
Amount of specific antibody	~5%	2 ±10%
Protein A/G binding	Yes	No
Interaction with mammalian IgG	Yes	No
Interaction with rheumatoid factor	Yes	No
Activation of mammalian complement	Yes	No

Tabla 1: Comparación de la IgG mamífera e IgY aviar*

* Fuente: Michael, 2010

Severidad diarrea	Fecas	Deshidratación	Compromiso sistémico
Leve	Grado 1-2	< 2%	<ul style="list-style-type: none"> • Apetito normal • De pié
Moderada	Grado 3	2 – 8%	<ul style="list-style-type: none"> • Bajo apetito • De pié
Grave	Grado 3	> 8%	<ul style="list-style-type: none"> • Anorexia • Decúbito

Tabla 2: Clasificación de la severidad de la diarrea según grado de fecas, deshidratación y compromiso sistémico del animal**

** Fuente: Rejas, 2008; University of Wisconsin, 2009