

Pasteurización de calostro: efecto sobre la carga bacteriana y la concentración de inmunoglobulinas G. (Colostrum pasteurization: Effect on bacterial count and immunoglobulin G concentration)

Jorge A. Elizondo-Salazar^{*†}, Bushan M. Jayarao^{*} y Arlyn J. Heinrichs^{*}

^{*}Department of Dairy and Animal Science. The Pennsylvania State University, University Park. USA.

[†]Estación Experimental Alfredo Volio Mata. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

E-mail: jaelizon@cariari.ucr.ac.cr.

REDVET: 2008, Vol. IX, Nº 9

Recibido: 03.03.08 / Referencia provisional: I006_RED VET / Revisado: 22.06.08 / Referencia definitiva: 090903_RED VET / Aceptado: 06.08.08 / Publicado: 01.09.08

Este artículo fue presentado en la Reunión Anual de la American Dairy Science Association- American Society of Animal Science. San Antonio, Texas. 8-18 de Julio, 2007 y está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908/090903.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Resumen

La pasteurización de calostro a nivel de finca ha recibido una considerable atención en los últimos años, con el fin de reducir agentes patógenos bacterianos. La adopción de esta práctica a nivel de finca ha reportado resultados significativos en la salud de las terneras y en los ingresos económicos de los productores. Sin embargo, existe poca información con respecto al efecto que tiene la pasteurización sobre la concentración de inmunoglobulinas G (IgG). Por esta razón, se llevó a cabo una investigación con el objetivo de determinar el efecto de la pasteurización (baja temperatura-largo tiempo) sobre el nivel bacteriano y la concentración de IgG en calostro bovino. Se colectó calostro de primer ordeño de 28 vacas Holstein. Cada muestra se agitó completamente y dos sub-muestras de 10-mL fueron analizadas. La primera sub-muestra sirvió como control mientras

que la segunda fue calentada a 62.8 °C por 30 min. Las muestras de calostro tratadas y sin tratar fueron analizadas para determinar el conteo estándar de placa (CEP), conteo preliminar de incubación (CPI), conteo de coliformes (CC), conteo de no-coliformes (CNC), conteo de estreptococos ambientales (CEA) y conteo de *Staphylococcus aureus* (CSA). Las concentraciones de IgG₁ e IgG₂ fueron medidas utilizando la técnica de inmunodifusión radial. Los resultados del estudio mostraron que la pasteurización tuvo como resultado una reducción significativa ($P < 0.01$) en los niveles de CEP, CC, CNC, CEA y CSA. La pasteurización tuvo también como resultado la desnaturalización del 14% de las IgG totales en el calostro.

Palabras clave: Calostro | pasteurización | inmunoglobulinas | inmunidad pasiva | bacteria

Summary

On-farm pasteurization of colostrum has received considerable attention in recent years, primarily to reduce bacterial pathogens. Application of this practice has been reported to result in significant health benefits for calves and economic returns for producers. However, little information is available on the effect of pasteurization on immunoglobulin G (IgG) concentration. A research study was conducted with the objective to determine the effect of low temperature-long time pasteurization on the bacteriology and IgG concentration in bovine colostrum. First milking colostrum was collected from 28 Holstein cows. Each sample was thoroughly mixed and two 10-mL aliquots were analyzed. The first aliquot served as the control while the second aliquot was heated for at 62.8 °C 30 min. The treated and untreated colostrum samples were examined for standard plate count (SPC), preliminary incubation count (PIC), coagulase-negative staphylococci (CNS) count, environmental streptococci (ES) count, coliform (CC) count, gram-negative noncoliform (NC) count, *Streptococcus agalactiae* (SAG) count, and *Staphylococcus aureus* (SA) count. Colostrum IgG₁ and IgG₂ concentrations were measured using radial immunodiffusion. The results of the study showed that pasteurization resulted in a significant ($P < 0.01$) reduction of SPC, CC, NC, ES, CNS, and SA. Pasteurization also resulted in denaturation of 14% of colostrum total IgG.

Key words: Colostrum | pasteurization | immunoglobulins | passive immunity | bacteria.

INTRODUCCIÓN

El calostro es la primera fuente de nutrientes para la ternera después del nacimiento y es además una fuente importante de inmunoglobulinas (Ig) o anticuerpos, cuya absorción es esencial para proteger a las terneras contra infecciones entéricas, las cuáles son la razón principal de mortalidad durante las primeras semanas de vida (Wells et al., 1996). Por mucho tiempo se ha reconocido que para asegurar una adecuada transferencia de inmunidad pasiva en terneras, es necesario la administración de una cantidad adecuada de calostro de buena calidad durante las primeras horas de vida (Stott et al., 1979a,b; Stott and Fellah, 1983). Sin embargo, recientemente se ha sugerido que la contaminación bacteriana juega también un papel importante.

Diversos patógenos pueden ser transmitidos en el calostro, ya sea por descamación directa de la glándula mamaria, contaminación post-ordeño, o proliferación bacteriana en calostro almacenado inapropiadamente. Algunos de los patógenos que se pueden encontrar en calostro son: *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp. y *Salmonella* spp. (Godden et al., 2006). De acuerdo a Stewart et al. (2005), el primer punto de control para alimentar un calostro con una baja carga bacteriana es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación. Existe además una serie de estrategias para prevenir la proliferación bacteriana en el calostro almacenado como la refrigeración, el congelamiento y el uso de agentes preservantes como el sorbato de potasio en calostro fresco (Stewart et al., 2005). Un método adicional para reducir o eliminar los patógenos bacteriales y cuyo uso se está incrementando es la pasteurización de calostro fresco (McMartin et al., 2006).

La adopción de sistemas de pasteurización a nivel de finca ha reportado resultados significativos en la salud de las terneras y en los ingresos económicos del productor (Jamaluddin et al., 1996; Godden et al., 2006). Sin embargo, una de las principales preguntas que surgen con la pasteurización de calostro es con respecto a si la pasteurización causa degradación de las inmunoglobulinas presentes en el calostro. Si la pasteurización resulta en un grado inaceptable de pérdida de anticuerpos en el calostro, entonces la pasteurización puede crear un alto riesgo de falla en la transferencia de inmunidad en las terneras, haciendo este procedimiento impráctico de adoptar comercialmente (Godden et al., 2003). Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto que tiene la pasteurización sobre la carga bacteriana y la concentración de inmunoglobulinas G (IgG) en el calostro bovino.

MATERIALES Y METODOS

El calostro utilizado para este experimento se obtuvo del primer ordeño post-parto de 28 vacas Holstein. El calostro se congeló a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 2 a 8 semanas mientras se obtenían el total de las muestras requeridas. Una vez recolectadas, las 28 muestras se descongelaron a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitaron uniformemente para luego obtener dos sub-muestras de 10-mL cada una. La primera sub-muestra sirvió como control, mientras que la segunda fue calentada a $62.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos.

Las muestras de calostro pasteurizadas y no pasteurizadas fueron examinadas en el laboratorio para determinar el conteo estándar en placa (CEP), conteo preliminar de incubación (CPI), conteo de estreptococos ambientales (CEA), conteo de coliformes (CC), conteo de no coliformes (CNC) y conteo de *Staphylococcus aureus* (CSA). También se determinaron los niveles de IgG_1 e IgG_2 en las muestras de calostro utilizando la técnica de inmunodifusión radial (VMRD, Pullman, WA 99163. USA). Los datos obtenidos se analizaron con el PROC GLM del paquete estadístico SAS (Versión 9.1, SAS Institute Inc., 2004).

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto de la Pasteurización Sobre la Carga Bacteriana

La leche es un producto biológico rico en carbohidratos, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y otros elementos, y posee un pH cercano a la neutralidad. Por estas cualidades, se constituye en un medio adecuado de cultivo para muchas bacterias contaminantes. A pesar de ser recogida asépticamente y procedente de un animal sano, siempre contiene células provenientes de la sangre y de la glándula mamaria, además de los diversos microorganismos que habitan normalmente en el canal del pezón. La pasteurización puede servir como un método efectivo y práctico para reducir la cantidad de bacterias presentes en el calostro y disminuir así la exposición de patógenos a las muy susceptibles terneras recién nacidas.

La carga bacteriana en muestras de calostro antes y después de la pasteurización se presenta en el Cuadro 1.

Los resultados del presente trabajo muestran claramente que el tratamiento térmico de calostro a $62.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos reduce significativamente la carga bacteriana. Diversos estudios han demostrado que la pasteurización de calostro bovino a temperaturas y tiempos usados convencionalmente para leche de consumo humano puede reducir o eliminar importantes patógenos bacteriales como *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp. y *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (Stabel, 2001). Green et al. (2002) reporta que el calostro bovino puede ser satisfactoriamente pasteurizado usando ya sea un pasteurizador comercial

tipo bache (63 °C por 30 min) o un sistema de alta temperatura corto tiempo (72 °C por 15 s) para eliminar importantes patógenos bacteriales incluyendo *Salmonella* spp., *L. monocytogens* y *E. coli* O157:H7. Stabel et al. (2004) establece que la pasteurización a alta temperatura y corto tiempo de calostro usando un pasteurizador comercial fue efectivo en destruir *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* inoculado en calostro a razón de 105 UFC/mL. Meylan et al. (1996) por su parte indica que la simulación de pasteurización de calostro con muestras de 50 ml a 63 °C por 30 min, efectivamente eliminó *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* de calostro inoculado con 102 ó 103 UFC/mL. En un estudio llevado a cabo por Godden et al. (2006), diferentes volúmenes de calostro fueron inoculados con *Mycoplasma bovis*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogens* y *Salmonella enteritidis*. Después de tratar el calostro a una temperatura de 60 °C por 30 min, los patógenos no fueron detectados.

Cuadro 1. Carga bacteriana en muestras de calostro antes y después de la pasteurización.

Análisis bacterial	Carga bacteriana, UFC ¹ /mL		EEM ²	P
	Sin pasteurizar	Pasteurizado		
Conteo estándar en placa	16161.4	21.4	4084.0	0.00 1
Conteo preliminar de incubación	11317.9	12.9	2985.9	0.00 1
Conteo de coliformes	10293.6	3.6	3749.6	0.00 1
Conteo de no-coliformes	2162.1	0.0	629.9	0.00 1
Conteo de estreptococos ambientales	3784.3	0.0	2520.9	0.00 1
Conteo de <i>Staphylococcus aureus</i>	3627.1	0.0	2524.7	0.02 2

¹ Unidades formadoras de colonias.

² Error estándar de la media.

Efecto de la Pasteurización Sobre los Niveles de Inmunoglobulinas G

El calostro contiene una alta concentración de inmunoglobulinas que son transferidas desde el torrente sanguíneo de la madre (Sasaki et al., 1977; Larson et al., 1980). En el calostro se encuentran principalmente 3 tipos de inmunoglobulinas a saber: G, M y A. La mayoría de Ig en el calostro bovino son de la clase G, más específicamente G₁ (Muller and Ellinger, 1981). La distribución de las diferentes clases de Ig en el calostro es muy variable entre vacas (Stott et al., 1981; Petrie, 1984). Las IgG, IgA y IgM típicamente contabilizan aproximadamente 85%, 5% y 7% del total de Ig

en el calostro, respectivamente (Sasaki et al., 1977; Larson et al., 1980).

En este estudio un total de 28 pares de muestras de calostro pre- y post-pasteurizado fueron colectados y analizados. Las muestras de calostro pasteurizado tuvieron concentraciones inferiores de inmunoglobulinas G ($P \leq 0.01$) con respecto a las muestras no pasteurizadas. El promedio de la concentración de inmunoglobulinas G totales para las muestras pre- y post-pasteurizadas fue de 89.1 y 76.7 mg/mL (Cuadro 2), lo que representa una reducción del 14%. El porcentaje promedio de reducción de IgG₁ y IgG₂ fue de 13 y 32%, respectivamente. Es necesario recordar que la concentración de IgG₁ es mucho mayor que la concentración de IgG₂, por lo que una pequeña reducción en esta subclase representará un alto porcentaje.

Cuadro 2. Nivel de inmunoglobulinas en muestras de calostro antes y después de la pasteurización

Immunoglobulina, mg/mL	Sin pasteurizar	Pasteurizado	EEM ¹	P
IgG ₁	84.8	73.8	2.7	0.009
IgG ₂	4.3	2.9	0.4	0.010
IgG totales	89.1	76.7	2.8	0.005

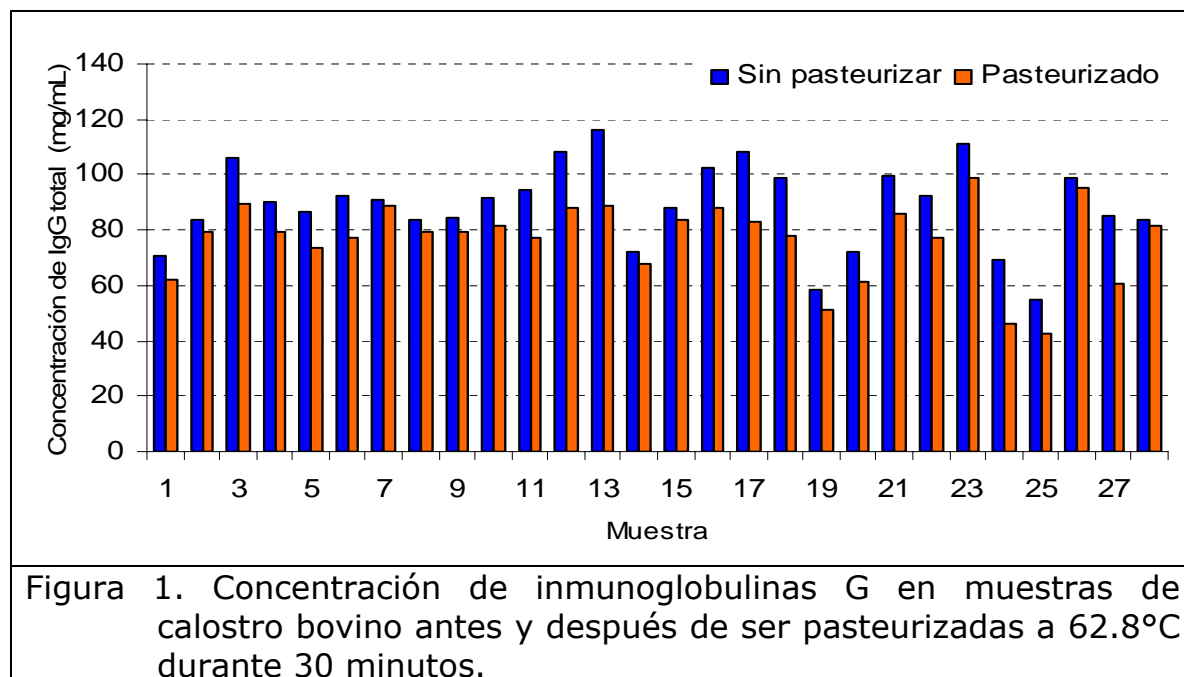
¹ Error estándar de la media

La pérdida de inmunoglobulinas totales observada en este experimento son muy similares a las reportadas por Meylan et al. (1996), quién reportó una reducción de IgG del 12.3%.

Con respecto al posible efecto que tiene la calidad del calostro sobre la reducción en el nivel de Ig, el estudio de Meylan et al. (1996) indica que la pérdida de IgG fue mayor en 5 muestras de calostro de buena calidad (>48 mg/mL) que en 7 muestras de calostro de menor calidad (<48 mg/mL). En otro estudio, Godden et al. (2003) demostraron que el calostro de alta calidad mostró una mayor reducción de IgG en el calostro post-pasteurizado. En el presente estudio, solamente se utilizó calostro con niveles mayores a 50 mg de IgG/mL y la pérdida de IgG fue mayor a 10 mg/mL en 13 de 17 muestras con niveles superiores a 85 mg/mL, mientras que solamente 4 de 11 muestras con niveles inferiores a 85 mg/mL mostraron pérdidas mayores a 10 mg/mL, demostrando nuevamente que el calostro de mayor calidad presenta una mayor reducción de IgG al ser pasteurizado. Hay que considerar, sin embargo, que el nivel de reducción no es necesariamente el punto más importante a tomar en cuenta, sino es más importante considerar el total de IgG funcionales en el producto final después de la pasteurización.

En la Figura 1, se puede notar como al pasteurizar calostro de buena calidad (>50 mg/mL) es muy posible que la concentración de IgG sea

mayor que el límite establecido de 50 mg/mL (Davis and Drackley, 1998) en el producto final.



El presente estudio ha demostrado que la pasteurización de calostro puede reducir significativamente la carga bacteriana en calostro bovino. De acuerdo a Godden et al. (2006), si estos resultados pueden repetirse con sistemas de pasteurización comerciales, entonces el beneficio más inmediato de alimentar calostro pasteurizado puede ser reducir la enteritis causada por coliformes fecales, lo mismo que prevenir la transmisión de otros patógenos económicamente importantes como *Salmonella* y *Mycoplasma* spp. Finalmente, si la hipótesis de que bacterias vivas en el calostro pueden interferir con la absorción pasiva de los anticuerpos en el calostro, entonces proveer calostro pasteurizado puede ayudar a aumentar la transferencia de IgG en terneras recién nacidas (James and Polan, 1978; James et al., 1981; Staley and Bush, 1985). Sin embargo, se requiere de más investigaciones para estudiar el efecto que tiene el suministrar calostro pasteurizado sobre la absorción de IgG y la salud de las terneras.

Algunas medidas que los productores deben considerar a la hora de implementar un sistema de pasteurización de calostro son:

- Utilizar solamente calostro de buena calidad (>50 mg/mL) medido con un calostrómetro.
- Colectar y almacenar calostro bajo adecuadas medidas higiénicas.
- Mantener el calostro pre- y post-pasteurizado a bajas temperaturas.
- Monitorear la función y desempeño del pasteurizador haciendo cultivos rutinarios de bacterias.
- Prestar atención al mantenimiento y a la limpieza diaria del equipo.

- Proveer de 3 a 4 litros de calostro durante las primeras horas de vida de las terneras.

CONCLUSIONES

La pasteurización de calostro presenta una buena alternativa para reducir el nivel de bacterias, sin afectar grandemente el nivel de inmunoglobulinas. Sin embargo, se requiere llevar a cabo más investigaciones que incluyan diferentes volúmenes de calostro, diferentes tiempos de pasteurización y diferentes temperaturas con el fin de determinar la mejor combinación, de manera que se de una mínima reducción de IgG. Por otra parte es importante estudiar el efecto de la pasteurización del calostro sobre la transferencia de inmunidad pasiva, la salud y crecimiento de los animales.

LITERATURA CITADA

- Davis, C. L. and J. K. Drackley. 1998. The development, nutrition, and management of the young calf. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Godden, S. M., S. McMartin, J. Feirtag, J. Stabel, R. Bey, S. Goyal, L. Metzger, J. Fetrow, S. Wells, and H. Chester-Jones. 2006. Heat treatment of bovine colostrum. II. Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. J. Dairy Sci. 89:3476-3483.
- Godden, S. M., S. Smith, J. M. Feirtag, L. R. Green, S. J. Wells, and J. P. Fetrow. 2003. Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. J. Dairy Sci. 86:1503-1512.
- Jamaluddin, A. A., D. W. Hird, M. C. Thurmond, and T. E. Carpenter. 1996. Effect of preweaning feeding of pasteurized and nonpasteurized milk on postweaning weight gain of heifer calves on a Californian dairy. Prevent. Vet. Med. 28:91-99.
- James, R. E. and C. E. Polan. 1978. Effect of orally administered duodenal fluid on serum proteins in neonatal calves. J. Dairy Sci. 61:1444-1449.
- James, R. E., C. E. Polan, and K. A. Cummins. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [Iodine-125] {gamma}-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. J. Dairy Sci. 64:52-61.
- Larson, B. L., H. L. Heary, and J. E. Devery. 1980. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. J. Dairy Sci. 63:665-671.
- McMartin, S., S. Godden, L. Metzger, J. Feirtag, R. Bey, J. Stabel, S. Goyal, J. Fetrow, S. Wells, and H. Chester-Jones. 2006. Heat treatment of bovine colostrum. I: Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. J. Dairy Sci. 89:2110-2118.

- Muller, L. D. and D. K. Ellinger. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among dairy breeds of dairy cattle. J. Dairy Sci. 64:1727-1730.
- Petrie, L. 1984. Maximizing the absorption of colostral immunoglobulins in the newborn dairy calf. Vet. Rec. 114:157-163.
- Sasaki, M., C. L. Davis, and B. L. Larson. 1977. Immunoglobulin IgG₁ metabolism in new born calves. J. Dairy Sci. 60:623-626.
- Stabel, J. R. 2001. On-Farm batch pasteurization destroys Mycobacterium paratuberculosis in waste milk. J. Dairy Sci. 84:524-527.
- Stabel, J. R., S. Hurd, L. Calvente, and R. F. Rosenbusch. 2004. Destruction of Mycobacterium paratuberculosis, Salmonella spp., and Mycoplasma spp. in raw milk by a commercial on-farm high-temperature, short-time pasteurizer. J. Dairy Sci. 87:2177-2183.
- Staley, T. E. and L. J. Bush. 1985. Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease. J. Dairy Sci. 68:184-205.
- Stewart, S., S. M. Godden, R. Bey, P. Rapnicki, J. Fetrow, R. Farnsworth, M. Scanlon, Y. Arnold, L. Clow, K. Mueller, and C. Ferrouillet. 2005. Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. J. Dairy Sci. 88:2571-2578.
- Stott, G. H. and A. Fellah. 1983. Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. J. Dairy Sci. 66:1319-1328.
- Stott, G. H., W. A. Fleenor, and W. C. Kleese. 1981. Colostral immunoglobulin concentration in two fractions of first milking postpartum and five additional milkings. J. Dairy Sci. 64:459-465.
- Stott, G. H., D. B. Marx, B. E. Menefee, and G. T. Nightengale. 1979a. Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. J. Dairy Sci. 62:1766-1773.
- Stott, G. H., D. B. Marx, B. E. Menefee, and G. T. Nightengale. 1979b. Colostral immunoglobulin transfer in calves III. Amount of absorption. J. Dairy Sci. 62:1902-1907.
- Wells, S. J., D. A. Dargatz, and S. L. Ott. 1996. Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. Prevent. Vet. Med. 29:9-19.

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN n° 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional. Se puede acceder vía web a través del portal [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> o en desde **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por **correo electrónico** solicitándolo a redvet@veterinaria.org Si deseas postular tu artículo para ser publicado en **REDVET®** contacta con redvet@veterinaria.org después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html> Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> y **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> **Veterinaria Organización S.L.® (Copyright) 1996-2008** E_mail: info@veterinaria.org