

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA**

**Facultad de Ciencias Agrícolas**

**Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**“DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE PRODUCCIÓN DE IgG  
EN CRÍAS DE ALPACA (*Vicugna pacos*)”**

**TESIS**

**Presentada por**

**Bach. WILBERT QUISPE MAYTA**

**Para optar el título de**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**TACNA - PERÚ**

**2009**

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA**

**Facultad de Ciencias Agrícolas**

**Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

**“DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE PRODUCCIÓN DE IgG EN  
CRÍAS DE ALPACA (*Vicugna pacos*)”**

TESIS SUSTENTADA Y APROBADA EL DÍA 11 DE DICIEMBRE DE 2009

ESTANDO EL JURADO CALIFICADOR INTEGRADO POR:

Presidente:



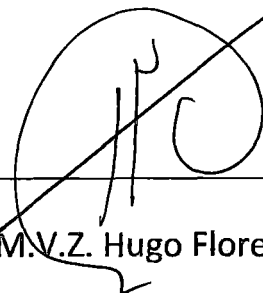
MsC. M.V.Z. Emilio Maquera Llano

Secretario:



Mgr. M.V.Z. Cecilio Hurtado Quispe

Vocal:



Mgr. M.V.Z. Hugo Flores Aybar

Asesor:



M.V. Luis Barrios Moquillaza

UNIVERSIDAD NACIONAL "JORGE BASADRE GRONMANN" DE TACNA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

TITULO PROFESIONAL

Tomo: 02

Folio N° 469

El Decano de la Facultad, CERTIFICA:

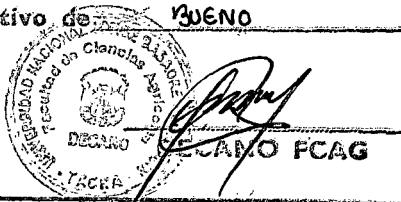
Que el Bachiller: QUISPE MAYTA

WILBERT

ha sustentado el presente Trabajo de Tesis y ha sido **APROBADO**

por UNANIMIDAD con el calificativo de BUENO

Terna: 2010 ENERO



***Dedicatoria:***

*A mis padres, Lidia y Nicolás, que confiaron en que llegaría este momento, y con mucho sacrificio supieron ayudarme cuando más lo necesitaba, con respeto cariño y gratitud a ellos.*

*A ella que con sabiduría sabe enseñarme a entender la vida, y me devuelve a diario las ganas de seguir adelante, a ti Kmu.*

***GRACIAS...***

## **AGRADECIMIENTOS**

*Al Doctor Luis Barrios Moquillaza, por asesorarme en la realización de la tesis, y por haber puesto su confianza en la culminación de la misma.*

*Al Doctor José Elcorobarrutia Byrne (Pepe), por brindarme su apoyo desinteresado y por las largas conversaciones sobre nuestra realidad con muchas tazas de café.*

*Al Doctor Walter Bravo y los profesionales del CICAS La Raya, por brindarme la oportunidad de realizar la investigación.*

*A mi familia por confiar en que llegaría este momento, por sus sacrificios en bien de culminar mis estudios.*

*Al Sr. Freddy Álvarez Camacho, por su apoyo y confianza en todos estos años y ser como mi padre.*

*A Kmu, por brindarme nuevamente la esperanza de conseguir nuevas metas.*

*A mis maestros por incentivar me a interminables horas de estudio, ya que sin ellos no hubiera sido posible alcanzar lo que ahora tengo.*

**“CONTINUAR POR EL SENDERO DE LA VIDA, CON PASOS FIRMES, HASTA CONSEGUIR EL OBJETIVO FINAL, HOY DI UN PASO EXCEPCIONAL.....”**

## RESUMEN

Se determinó la edad de producción de concentraciones adecuadas de IgG de camélido ( $> 1000$  mg/dL) en crías de alpaca (*Vicugna pacos*) en el Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos CICAS "La Raya" durante los meses de marzo a julio, se utilizaron 20 animales recién nacidos, 10 con acceso libre al calostro de su madre (grupo 1) y 10 alimentados con calostro de bovino (grupo 2), el monitoreo fue desde el día de nacimiento hasta los cuatro meses de edad. Mediante la técnica de inmunodifusión radial simple, se encontraron concentraciones promedio de IgG en suero de 397,284 mg/dL, 360,878 mg/dL, 431, 008 mg/dL, 379,153 mg/dL, 497, 865 mg/dL, 889,014 mg/dL, 1444,935 mg/dL, 1863,717 mg/dL y 2086,633 mg/dL a los 2, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 días respectivamente, para el grupo 2; mientras que 3165,237 mg/dL, 1483,118 mg/dL, 1240,814 mg/dL, 1035,778 mg/dL, 717,639 mg/dL, 527,523 mg/dL, 932,568 mg/dL, 1195,951 mg/dL y 1368,578 mg/dL, para los mismos días respectivamente, en el grupo 1. Se evaluó además la influencia del peso al nacimiento sobre el inicio de producción de niveles adecuados de IgG, resultando esta no significativa ( $p \leq 0,05$ ), pero existe una clara interacción ( $p \leq 0,01$ ) entre ambos factores (peso al nacimiento y edad de la cría). En conclusión se determinó que las crías de alpaca inician la producción de IgG en niveles de concentración adecuados ( $> 1000$  mg/dL) a partir de los 79 días de vida, ajustándose esta producción a una tendencia lineal polinómica cuadrática ( $p \leq 0,01$ ), considerándose entonces desde esta edad altamente reactiva a la exposición de antígenos.

**Palabras clave:** camélidos, inmunología, inmunoglobulina G.

## ABSTRACT

It was determined the age of production of suitable level of de IgG ( $> 1000$  mg/dL) in newborn alpaca (*Vicugna pacos*) in the Investigation Center of South American Camelids CICAS "La Raya" between March to July, was utilized 20 animals, 10 with free availability to mother colostrum (group 1) and 10 feeding with bovine colostrum (group 2), the evaluation was since de the birth until four month. Serum IgG concentration was measured by use of single radial immunodiffusion assay. Mean serum IgG concentration was 397,284 mg/dL, 360,878 mg/dL, 431, 008 mg/dL, 379,153 mg/dL, 497, 865 mg/dL, 889,014 mg/dL, 1444,935 mg/dL, 1863,717 mg/dL y 2086,633 mg/dL at 2, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 and 120 days of age respectively to group 2; while 3165,237 mg/dL, 1483,118 mg/dL, 1240,814 mg/dL, 1035,778 mg/dL, 717,639 mg/dL, 527,523 mg/dL, 932,568 mg/dL, 1195,951 mg/dL y 1368,578 mg/dL, to seem days respectively, to group 1. The body weight at birth influence over the levels of IgG was evaluated, it was not significative ( $p \leq 0,05$ ). But there is an interaction between weight at birth and the age to begin to produce owner IgG ( $p \leq 0,01$ ). The newborn alpacas, develop suitable levels of serum IgG concentration ( $> 1000$  mg/dL) since 79 days of age, fitting up this production to a quadratic polynomial linear tendency ( $p \leq 0,01$ ), considering since this age highly reactive to exposition of antigens.

**Key word:** camelids, immunology, IgG.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	6
MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
RESULTADOS.....	30
DISCUSIÓN.....	48
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA.....	54
ANEXOS.....	63

## TABLAS

Tabla 1: Diámetros de reacción en placa de inmunodifusión radial simple para sueros del grupo 1 .....	26
Tabla 2: Diámetros de reacción en placa de inmunodifusión radial simple para sueros del grupo 2 (IgG bovino) .....	26
Tabla 3: Diámetros de reacción en placa de inmunodifusión radial simple para sueros del grupo 2 (IgG camélido).....	27
Tabla 4: Medidas de tendencia central para el grupo 1 .....	31
Tabla 5: <i>Análisis de varianza para regresión edad vs concentración de IgG en el grupo 1</i> .....	34
Tabla 6: Medidas de tendencia central para concentraciones de IgG de camélido para el grupo 2 .....	35
Tabla 7: <i>Análisis de varianza para regresión edad vs IgG de camélido en el grupo 2</i> .....	39
Tabla 8: Medidas de tendencia central para valores de IgG de bovino en suero de crías de alpaca para el grupo 2.....	40
Tabla 9: <i>Análisis de varianza para la regresión edad vs concentración de IgG de bovino en tratamiento experimental</i> .....	43
Tabla 10: Medidas de tendencia central para peso al nacimiento .....	45
Tabla 11: <i>Análisis de varianza para regresión de Interacción peso nacimiento y edad de producción de IgG de camélido en crías de alpaca</i> .....	46

## FIGURAS

Figura 1: Valores de IgG de camélido para el grupo 1 .....	32
Figura 2: Nube de puntos para concentración de IgG de grupo 1 .....	33
Figura 3: Curva de regresión para edad vs concentración de IgG en el grupo 1.....	34
Figura 4: Valores de IgG de camélido para el grupo 2 .....	36
Figura 5: Nube de puntos para concentración de IgG de camélido para el grupo 2.....	37
Figura 6: Curva de regresión de edad vs concentraciones de IgG de camélido en el grupo 2.....	38
Figura 7: Nube de puntos para concentraciones de IgG de bovino en el grupo 2.....	41
Figura 8: Curva de regresión para edad vs concentración de IgG de bovino en el grupo 2 .....	42
Figura 9: Peso al nacimiento para crías de alpaca ( <i>Vicugna pacos</i> ) .....	44
Figura 10: Interacción peso nacimiento y edad de producción de IgG de camélido en crías de alpaca .....	47

## INTRODUCCIÓN

Los camélidos del viejo mundo *Camelus dromedarius* y *Camelus bactrianus*; y los camélidos del nuevo mundo, llama (*Lama glama*) y alpaca (*Vicugna pacos*) junto con sus ancestros silvestres guanaco (*Lama guanicoe*) y vicuña (*Vicugna vicugna*), respectivamente; son las únicas especies sobrevivientes de la familia *Camelidae*. A pesar de la importancia económica de estas especies en sus países de origen, su sistema inmunológico recién ha ocupado el interés de los investigadores en los últimos 15 años (Herrera, 2008), sin embargo, el verdadero potencial económico de esta especie no se expresa a cabalidad, pues se encuentra limitada por diversos factores, entre ellos, el alto índice de mortalidad neonatal 15 - 80%, reduciendo considerablemente los beneficios de esta actividad ganadera y una gran pérdida de nuestro valioso material genético (Ramirez, 1989) (Garnica & Bravo, 2001).

Para prevenir enfermedades infecciosas se emplean medidas de higiene y manejo adecuado, entre otras, la ingestión de calostro dentro de las primeras 12 horas de vida (Ameghino & De Martini, 1991).

Debido a que el principal objetivo de la vacuna es proveer una inmunidad efectiva que se traduzca en mantener niveles adecuados de anticuerpos específicos y linfocitos memoria para una posterior

activación rápida ante un nuevo contacto antigénico (Roitt, 1994), y considerando que en el neonato la reacción inmunitaria es inhibida por los anticuerpos maternos, la vacunación de estos se hace insatisfactoria, pudiendo esta inhibición persistir durante meses, dependiendo de la cantidad de anticuerpos transferidos y de la vida media de las inmunoglobulinas participantes (Tizar, 2001).

Los rumiantes al nacimiento nacen hipogammaglobulinémicos o agammaglobulinémicos, sin embargo las crías de bovinos son capaces de producir IgG endógeno durante las 3 primeras semanas de vida, pero a niveles poco significativas, pero también se evidencia que los fetos de bovino tienen una limitada capacidad de producir IgG (Devery, Davis, & Larson, 1979). Así mismo considerando que los porcinos también comparten el mismo tipo de placenta que los rumiantes, bajo condiciones normales nacen libres de inmunoglobulinas, con ningún tipo de actividad de anticuerpos, pero así mismo los fetos de esta especie son capaces de montar una reacción inmune si son expuestos a estímulos antigénicos en el útero (Redman, 1979).

Por otro lado la adquisición y absorción de adecuados niveles de inmunoglobulina del calostro es esencial para la salud del neonato. Máximos niveles de IgG sérica en neonatos lactantes es alcanzado a

las 06 horas (Pachari M, 2008), bajando luego estos valores de 24,52 a 8,8 mg/mL, considerándose concentraciones sobre los 10 mg/mL indicadores de transferencia pasiva exitosa. Las concentraciones de IgG declinan después de 2 a 5 semanas y hay un marcado incremento entre los 1 y 2 meses, hecho que indica que el sistema inmune del neonato ha comenzado a madurar (Wernery, 2001).

La concentración de IgG puede ser estimada mediante varias técnicas, incluidas la determinación de proteínas totales, y globulinas, turbidométrico de sulfato de zinc, precipitación en sulfato de sodio, aglutinación en latex, coagulación en glutaraldehído, ELISA, inmunoturbidométrico e inmunodifusión radial simple (Hutchison, Salman, Garry, Johnson, Collins, & Keefe, 1995). De todas estas técnicas, la más utilizada para la determinación de concentraciones de IgG es la de inmunodifusión radial simple (SRID), para algunos estudios estos kits fueron elaborados en los mismos laboratorios, estandarizados y calibrados con IgG de bovino y equino disponibles comercialmente. Luego se utilizaron kit estandarizados disponibles comercialmente, una de las desventajas de esta técnica, es que es considerada muy pocas veces, por ser muy costosa, adicionalmente al largo tiempo asociado para generar resultados, que generalmente es de 24 a 48 horas, pero la mayor ventaja de esta técnica, es que

permite la cuantificación de las concentraciones de IgG, siendo esta la más recomendada para trabajos de investigación que busquen cuantificar las concentraciones de IgG (Weaver, Tyler, Marion, Wallace, Nagy, & Holle, 2000).

Teniendo en cuenta estos aspectos, se tiene que hay un desconocimiento del verdadero tiempo después del parto, en que las crías de alpaca empiezan a sintetizar sus propios anticuerpos (IgG) a niveles adecuados  $>1000$  mg/dL (Wernery, 2001).

Por tanto es posible la presencia de anticuerpos (IgG) propios en suero de crías de alpaca en concentraciones adecuadas ( $>1000$  mg/dL) antes del mes de edad, así como la existencia de alguna relación entre la edad y el peso al nacimiento de la cría y el inicio de producción de IgG propio.

Determinar la edad de la cría al inicio de producción de niveles adecuados de IgG en suero y relacionar el peso al nacimiento y la edad de la cría con el inicio de la producción de niveles adecuados de IgG en crías de alpaca, fueron los objetivos de la investigación.

Al determinar el período en que las crías de alpaca alcanzan la madurez inmunológica y sean capaces de producir niveles adecuados de anticuerpos y por tanto refractarias a la aplicación de vacunas,

debido a que la inmunidad materna ha desaparecido, se podrán establecer programas de vacunación adecuados, sin temor a la interferencia de la inmunidad materna.

Con el presente trabajo de investigación se buscó contribuir con el conocimiento sobre inmunología en camélidos sudamericanos, enfatizando la relación entre las enfermedades infecciosas (entero toxemia, colibacilosis, etc.), que afectan a las crías de alpaca y el desarrollo de la inmunidad propia, contribuyéndose indirectamente en la sanidad, ya que los resultados podrán servir para el establecimiento de programas de vacunación en crías contra las principales enfermedades infecciosas.

## **CAPÍTULO I**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **1.1. Aspectos inmunológicos**

##### **1.1.1. Desarrollo del sistema inmunitario**

El desarrollo del sistema inmunitario en el feto de los mamíferos sigue un patrón constante. El timo es el primer órgano linfóide en formarse, seguido de cerca por los órganos linfoides secundarios. Los linfocitos B se desarrollan poco después de la aparición del bazo y los ganglios linfáticos, pero los anticuerpos casi nunca se encuentran sino hasta la última parte de la vida fetal, cuando mucho. La capacidad del feto de reaccionar a los antígenos se desarrolla rápidamente luego de que aparecen los órganos linfoides, pero no todos los antígenos tienen la misma capacidad de estimular a este tejido en el feto. El sistema inmunitario se forma en una serie de etapas, cada una de las cuales permite al feto reaccionar a más antígenos. Estos pasos son dirigidos por un incremento gradual en el uso de mutaciones somáticas para incrementar la diversidad de los anticuerpos. La capacidad de montar inmunoreacciones de tipo celular se desarrolla al mismo tiempo que la producción de anticuerpos (Tizar, 2001).

Durante las diez primeras semanas de edad los cerdos sufren cambios en su sistema inmunitario. En la etapa de lactancia los lechones son protegidos pasivamente de los agentes externos por medio del calostro y la leche de la cerda mientras maduran sus sistemas de defensa; se sugiere que durante la lactancia, los lechones tienen un sistema inmune deprimido, pues poseen bajas concentraciones de linfocitos T y B, así como niveles elevados de sustancias inmunosupresoras como cortisol y alfafetoproteína. Sin embargo, los lechones producen anticuerpos como respuesta a la inoculación parenteral con antígenos inactivados después de los 10 días de edad y pueden ser inmunizados con virus de la fiebre porcina clásica desde el primer día de edad (Gonzales, Cisneros, Vega, & Morilla, 1993).

### **1.1.2. Ontogenia de la respuesta inmune**

El sistema inmunitario de los mamíferos no es totalmente funcional durante la vida fetal ni aun en el momento del nacimiento. La maduración es gradual y se completa en un periodo cuya duración varía en cada especie animal. El mecanismo por el cual los fetos o los neonatos adquieren la capacidad de generar diversidad inmunológica parecería ser controlado genéticamente y

no estar basado en alteraciones somáticas durante la ontogenia. Si esto es así, cada especie animal seguiría un preciso patrón genético que determina el momento del desarrollo en el cual adquiere la capacidad de responder a un determinado antígeno. Se ha demostrado que en la mayoría de las especies de mamíferos la respuesta inmunológica es deficiente durante los primeros días después del nacimiento, ya sea por que el animal es inmaduro para responder o porque hay mecanismos de supresión que no existen en el animal adulto (Galassi & Nota, 1987).

El momento en el cual los animales adquieren competencia inmunológica difiere para cada especie y está ligado en gran medida a las características físico-químicas del antígeno utilizado. A este respecto es interesante mencionar que los estudios realizados por Kim et al (1966), quienes trabajando en condiciones experimentales severas, con cerdos extraídos prematuramente del útero materno por tanto libres de gérmenes, comprobaron que eran capaces de montar una respuesta inmunológica cuando se les estimulaba con antígenos apropiados.

Por el contrario en el pollo y el conejo, si bien se observan diferencias ligadas al antígeno, la madurez inmunológica parece adquirirse en todos los casos varias semanas después del

nacimiento (Freund, 1930) (Sterzl & Trnka, 1957); Spear (1973), trabajando con ratones de distintas cepas, demostraron que, si bien las células T y B se desarrollan tempranamente en el bazo, la respuesta inmunológica es deficiente durante las primeras cuatro semanas después del nacimiento.

La presencia de gamma globulinas en la sangre en cantidades específicas para cada especie animal mamífera, se puede interpretar como indicación de que el sistema protector del organismo está suficientemente desarrollado para producir anticuerpos (Honigman, Gomes, Abrue Martins, & Lombardo, 1987).

De acuerdo a los análisis hechos por Wehmeyer en sueros de animales no vacunados, la capacidad de producción de gammaglobulinas aumenta a la par de la edad del animal. Este aumento es lentamente progresivo y en terneros de 8 meses de edad alcanza los niveles del límite normal más bajo del ganado adulto (2 años de edad) (Honigman, Gomes, Abrue Martins, & Lombardo, 1987).

En fetos de ovinos, entre los 120 a 150 días de gestación, linfocitos de la serie T y B pueden ser identificados en niveles

comparables a animales adultos (Raghunathan, Miller, Wuest, & Faust, 1984).

Se evidencia además que fetos de porcinos, a los 74 días post concepción ya son inmunocompetentes, la producción de anticuerpos endógenos es inhibida si éste recibe anticuerpos de la misma especificidad en las secreciones de la marrana, las inmunoglobulinas producidas por los neonatos porcinos no son detectables sino hasta los 10 días debido al consumo del calostro materno rico en inmunoglobulinas, así mismo en esta especie la principal inmunoglobulina producida a esta temprana edad es la de tipo M (Wilson, 1974) (Gonzales, Cisneros, Vega, & Morilla, 1993).

### **1.1.3. Placentación en camélidos sudamericanos**

La placentación en camélidos es de tipo difusa epiteliocorial (Vanleenep, 1964)(Ghazi, Oryan, & Pourmirzali, 1994), que previene la transferencia de inmunoglobulinas durante la vida fetal. Entonces los camélidos tienen que proveer el paso de inmunoglobulinas mediante el calostro, una falla en este pasaje ocasionaría una elevada mortalidad de neonatos (Mc Guire, Poppie, & Banks, 1975)(Rea, Tyler, & Hancock, 1996). La medición de la concentración de inmunoglobulinas es recomendada para

prever el riesgo de enfermedad en animales sanos (White, Pearson, & Davidson, 1983) y para evaluar animales enfermos (Blood, Henderson, & Radostis, 2002).

La morfología de la placenta en alpacas fue ampliamente estudiada por ser de importancia en el aspecto reproductivo, Steven et al. (1980) y Fowler y Olander (1990), demostraron la naturaleza epiteliocorial y difusa de la placenta de alpacas y llamas, respectivamente, enfatizando además la morfología similar en algunos aspectos con el cerdo, yegua y camélidos del viejo mundo (Olivera, Douglas, Leiser, Jones, & Bevilacqua, 2003).

En alpacas fue observado que la superficie uterina no presenta las típicas áreas carunculares similares a lo descrito en otros rumiantes como la vaca, oveja y cabra. La distancia entre las micro-vellosidades del feto y la superficie materna aparece mucho más corta que otras especies de ungulados, esto se supone debido a la adaptación a grandes alturas. Por este tipo de placenta, las retenciones de placenta en alpacas es muy rara y típicamente tiene capilares maternos y fetales que invaden el epitelio y el trofoblasto, esto ocurre a lo largo de la interfase materno fetal, este tipo de placenta es ligeramente similar en yeguas y cerdas, pero las

membranas fetales de los camélidos tienen características particulares, muy largas células que contienen un núcleo largo y numerosos nucléolos en el trofoblasto, esto también fue encontrado en bactrianos y dromedarios. Otra característica que comparte con las placentas epiteliocoriales es la presencia de aureolas en la superficie del corion, como se encuentra en la cerda, yegua, pecaríes y camélidos (Iturrizaga, Verechia, Santos, Bombonato, Teixeira, & Miglino, 2007).

#### **1.1.4. Inmunoglobulina G**

La inmunoglobulina G (IgG) es una proteína encontrada en adultos en concentraciones normales de 900 mg/dL a 2400 mg/dL. Este es aproximadamente el 20% de la proteína total encontrada en el plasma o suero sanguíneo. La IgG tiene una vida promedio de 23 días. Esta contribuye en la inmunidad contra bacterias, virus, parásitos, algunos hongos y como anticuerpos de actividad tisular. La IgG es capaz de activar el sistema del complemento. Una vez expuesto a un antígeno las células memoria se desarrollan y elaboran anticuerpos específicos contra el antígeno identificado. En el hombre la IgG es transferida hacia el feto a través de la placenta, en los equinos, vacunos, ovinos y camélidos la IgG no puede pasar

a través de la placenta debido a la conformación multicapa de la misma, pasando éste únicamente a través del calostro. Por esto es que las crías deben de tener acceso al calostro durante las 24 primeras horas de vida. Esta IgG trasferida de manera pasiva por la madre está presente hasta que el neonato tenga la capacidad de formar su propia IgG (Jorgensen D. , 1991).

#### **1.1.5. Tipos de IgG en camélidos**

En la leche de los mamíferos se encuentran los tres tipos principales de inmunoglobulinas (Igs) humorales: IgG, IgM e IgA. Esta última en la forma dimérica secretora. La concentración en que se encuentran cada uno de los tipos de Igs depende de varios factores, entre ellos el estadio de la lactación y el tipo de transferencia neonatal de anticuerpos de la madre a la cría (placentaria, calostrala o mixta). La estructura básica de las Igs consta de cuatro cadenas polipeptídicas, dos pesadas (H) y dos ligeras (L), unidas generalmente por puentes disulfuros. También se sabe que todas las inmunoglobulinas presentan un cierto grado de glicosilación. De acuerdo a los hallazgos efectuados hasta ahora existe en la sangre de algunos camélidos un tipo adicional de IgG, la IgG de cadenas pesadas (IgG<sub>H</sub>) (Hamers- Casterman et al.,

1993; Van der Linden, et al., 2000; Muyldermans, 2001). Esta última está constituida por dos cadenas H solamente, con un peso total aproximado de unos 90 KDa. A este tipo de IgG, carente de cadenas L, solamente se la ha encontrado en la sangre de camello, dromedario y llama (Hamers- Casterman et al., 1993; Nguyen et al, 2000) y actualmente fue determinada la presencia de las mismas en la leche de los camélidos sudamericanos, llama (*Lama glama*), alpaca (*Lama pacos*), vicuña (*Vicugna vicugna*) y guanaco (*Lama guanicoe*) (Medina, Fernandez, Saad, Rebuffi, & Yapur, 2004).

## **1.2. Almacenamiento y uso del calostro en exceso**

El calostro puede ser refrigerado (4°C) por una semana sin que pierda su calidad. Por su parte el calostro se puede congelar y almacenar hasta por un año sin que pierda actividad o disminuya el contenido de IgG (Davis & Drackley, 1998). El calostro almacenado, cuando se va a suministrar a los neonatos, se puede descongelar ya sea en agua tibia (45 – 50°C) o en horno de microondas, con el cuidado de no sobrecalentarlo, ya que eso podría degradar las inmunoglobulinas y otras proteínas dando como resultado un calostro de baja calidad (Elizondo, 2007). El congelamiento y descongelamiento del calostro no destruye los anticuerpos. El calostro congelado puede ser descongelado, calentado y

utilizado en la ternera recién nacida cuando hay una preocupación acerca de la efectividad en la transferencia de inmunidad del calostro de la madre (Wattiaux, 2001).

Este será el caso cuando el calostro:

- Es delgado y aguado;
- Contiene sangre;
- Proviene de un cuarto infectado con mastitis;
- Proviene de una vaca que ha sido comprada recientemente o novilla a primer parto;
- Proviene de una vaca que fue ordeñada antes del parto o tuvo un goteo severo antes del parto.

### **1.3. Utilización de calostro de vaca y cabra en camélidos sudamericanos**

El calostro de vaca para la suplementación de camélidos sudamericanos se elige por diversas razones. Este es muy accesible, se han encontrado muchos virus en común que infectan tanto camélidos como vacunos, y se puede evidenciar la presencia de IgG de vaca en neonatos alimentados con calostro de vaca, hasta los dos meses de edad. Es posible también la utilización de calostro de cabra para la alimentación de crías de camélidos (Al-Busadah, 2007), se ha monitoreado la absorción de IgG del calostro de vacunos y camélidos

mediante pruebas de inmunodifusión radial, llegándose a la conclusión que es factible la utilización de calostro de vaca (Jorgensen D. , 1998).

La administración de calostro bovino y caprino puede ser considerada en camélidos neonatos cuando no es posible conseguir calostro de camélido. Sin embargo es necesaria la evaluación de la utilización de las mismas para combatir infecciones (Al-Busadah, 2007).

Las concentraciones de IgG en el calostro de camellos, bovinos y caprinos son de 116 000, 9 800 y 9 600 mg/dL respectivamente. Neonatos alimentados con calostro de vaca y cabra se mostraron saludables después de la administración del mismo, siendo la eficiencia aparente de absorción de 35,1% para calostro de camello, 32,1% para calostro de bovino y 31,3% para calostro de cabra(Al-Busadah, 2007).

#### **1.4. Cuantificación de IgG en camélido**

La valoración del estatus de la inmunidad pasiva en camélidos neonatos es esencial para considerar la pronta administración de IgG. Existen muchos métodos utilizados para medir la transferencia pasiva, tales como turbidométrico con sulfato de zinc y precipitación en sulfato de sodio (disponibles comercialmente por New World camels: Llama-STM, VMRD Inc., Pullman, WA, USA), ninguno de estos dos métodos indica la

concentración de IgG. Para medir la concentración exacta de IgG se utiliza la Inmunodifusión radial simple (SRID), este es el único método para poder calcular las concentraciones exactas de IgG. Este método está disponible comercialmente para camélidos sudamericanos:

Kit para IgG de llama (Triple J. Farms, Redmond, WA, USA) y llama vet-RID (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA). Hutchison et al. (1995) comparó estos kits con plasma de 528 llamas y encontró que cada kit provee diferencias significativas en cuanto a niveles de IgG en plasma comparado con otros métodos.

Bourke (1996) estudio la aplicación de tres métodos para determinar el estatus de IgG en llamas neonatas: turbidométrico con sulfato de zinc, proteína total y globulina. Este estudio indicó que los tres métodos pueden ser utilizados para evaluar los niveles de IgG en camélidos neonatos.

Es posible también la utilización de prueba de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), fue utilizado recientemente para cuantificar la IgG en plasma de camélidos, representa una importante herramienta para preveer la falta de transferencia pasiva (Huelsebusch, 1999; Erhard et al., 1999).

## CAPÍTULO II

### MATERIAL Y MÉTODOS

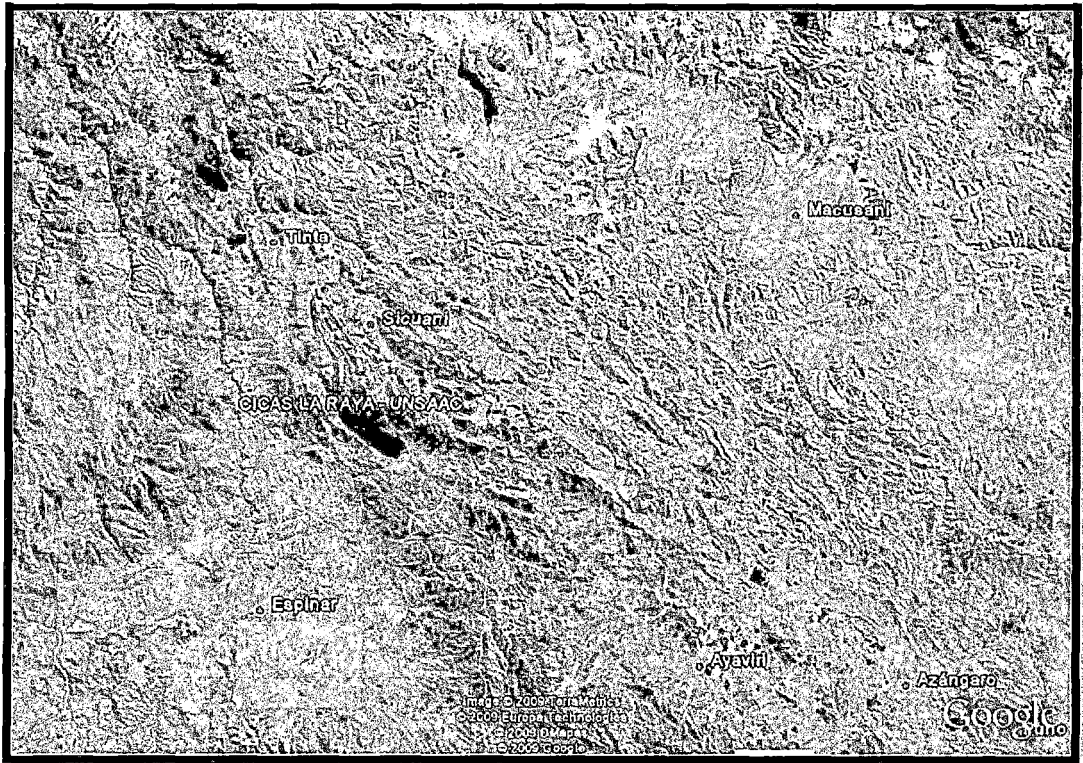
#### 2.1. Material

##### 2.1.1. Ubicación

El trabajo de investigación denominado "Determinación del tiempo de producción de IgG en crías de alpaca (*Vicugna pacos*)", se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos (CICAS) La Raya de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

CICAS La Raya está ubicado a 14° 28' 42,59" de latitud sur y 71° 01' 41,55" de longitud oeste, a una altura que varía de 4 000 a 5 000 msnm. La Raya, está clasificada como una zona de vida sub alpina muy húmeda con precipitaciones cíclicas con niveles máximos en enero y mínimos en los meses de junio a agosto.

Ilustración 1: Vista satelital de CICAS La Raya



Fuente: Google earth

### 2.1.2. Población y muestra

Se tuvo una población de 300 crías de alpaca raza huacaya machos, considerando que la población de madres al inicio de la parición fué de 600 animales, y la proporción de nacimientos machos/hembras (50/50), habiendo 300 crías machos y 300 crías hembras.

Así mismo para la investigación se utilizó una muestra de 20 animales (crías de alpaca de raza Huacaya), provenientes de la punta de parición (Yanamayo) que consta de 600 madres al inicio

de la parición, cabe señalar que se utilizaron solo machos y en el número indicado de crías debido a la poca disponibilidad de los mismos y al material de investigación escaso y, a que las hembras son protegidas por ser futuros vientres.

### **2.1.3. Equipo y material para el trabajo de campo**

- Botas de hule,
- Couler,
- Guantes descartables,
- Jeringas de 50 ml,
- Vacutainer de 10 ml,
- Agujas hipodérmicas (21 G x 1"),
- Algodón,
- Alcohol yodado,
- Bolsitas plásticas de 50 ml,
- Calostro de vaca,
- Bozales para crías,
- Aretes de plástico.

### **2.1.4 Equipo y material para el trabajo de laboratorio**

- Micropipeta de 5  $\mu$ l,
- Viales de 6 ml,

- Placas de inmunodifusión radial simple con anticuerpos para IgG,
- Regla milimetrada calibrada en 0,1 mm,
- Centrífuga Garver Manufacturing Inc. modelo #224,
- Congeladora marca LG.

## 2.2. Tipo de Investigación

Debido a que para el presente trabajo de investigación se realizó la descripción de la realidad tal como se presenta en una situación “espacio – tiempo” dado (descriptivo) y se buscó además la asociación o relación entre variables, sin establecer relaciones causales (analítico), el presente trabajo de investigación fue **Analítico- Descriptivo**.

## 2.3. Métodos

### 2.3.1. Método

Para la determinación de la concentración de IgG en el suero de las crías de alpaca se aplicó el principio de la inmunodifusión radial simple que fue desarrollado por trabajos de Fahey y McKelvey (1965), Mancini *et al* (1965). Que indican que hay especificidad de las proteínas en suero y otros fluidos, y dependen de la reacción de cada una de estas con su anticuerpo específico.

Cuando los pozos que contienen los anticuerpos contra IgG son llenados con el antígeno (suero de crías), hay una precipitación y se desarrollan anillos que indican la reacción después de las 10 a 20 horas a temperatura ambiente. El diámetro del anillo (mm) y el logaritmo (base 10) de la concentración proteica son relacionadas en una tendencia lineal. Utilizando referencias estándar, la concentración de muestras desconocidas puede ser medida.

### **2.3.2. Obtención de la muestra**

Para la obtención de la muestra se tuvo en cuenta, la aleatoriedad con que se realizaron los partos diarios, se obtuvieron las 20 crías machos según fueron naciendo, el orden en que se tomaron en cuenta para el tipo de calostro al que tuvieron acceso fue de acuerdo a una tabla aleatoria generada en el programa estadístico Minitab Inc. versión. 14 (Anexo 1). Esto con la finalidad de evitar sesgos en el estudio.

### **2.3.3. Asignación de tratamientos**

Una vez determinado el orden aleatorio de los animales, diez de las veinte crías (grupo 2) recibieron calostro de vaca las primeras 36 horas de vida, con restricción del calostro de su madre,

las seis primeras horas se les brindó 10 ml de calostro de vaca cada media hora, luego cada 2 horas hasta las 36 horas; las otras 10 crías (grupo 1) tuvieron acceso libre al calostro de su madre.

#### **2.3.4. Procedimientos para el primer objetivo**

##### **(a) Trabajo de campo**

Una vez obtenida la muestra según el método ya descrito, se registró los datos respectivos, como fecha y hora de nacimiento, número de arete y fecha de nacimiento de la madre; a cada cría se aplicó uno de los dos tratamientos establecidos según el protocolo descrito anteriormente; la extracción de sangre de las crías de alpaca fue obtenida por venipunción yugular a las 48 horas de nacimiento; 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 días. Para tal efecto se utilizó agujas para extracción de sangre de 21 G x 1" y tubos con separador de suero debidamente rotulados.

##### **(b) Trabajo de gabinete**

La obtención del suero de crías de alpaca se hizo por centrifugación de la sangre (3500 rpm por 6 minutos), luego de obtenido el suero se congeló a -18 °C hasta el análisis en la placa de inmunodifusión radial, previo descongelamiento de las muestras de suero con dos horas de anticipación.

Para la determinación de las concentraciones de los sueros muestra:

1. Se depositaron en cada pozo 5 uL de suero anotando la posición de cada uno con la identificación de la cría en estudio.
2. Se anotó la hora de finalizado el llenado y luego se tapó el disco y se llevó sobre una superficie plana y a temperatura ambiente.
3. Luego de 10 a 20 horas ya se noto la reacción de Ag-Ac debido a la presencia de anillos sobre los pozos del disco.

A las 24 horas se tomó lectura de los diámetros de los anillos con la regla calibrada en milímetros (mm).

### **2.3.5. Procedimientos para el segundo objetivo**

#### **(a) Trabajo de campo**

Se tomó los pesos al nacimiento conjuntamente con el pastor encargado, verificando así mismo con el registro de campo. Para tal efecto se pesó a las crías luego de la desinfección del ombligo posterior al nacimiento.

**(b) Trabajo de gabinete**

Una vez obtenido los pesos al nacimiento y las concentraciones de IgG de los 48 h, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 días; se analizaron los datos para determinar si existe alguna relación entre esta variable y la concentración de IgG en suero, sin considerar el factor edad.

**2.3.6. Método y técnica de recolección de datos**

Una vez procesados los sueros en las placas de inmunodifusión radial simple, según la técnica ya indicada, se utilizaron las **“Tablas de valores de referencia para la determinación cuantitativa de diámetros de placas de inmunodifusión radial” (Anexo 6 y 7)** para calcular las concentraciones de IgG en suero de cada cría, obteniéndose así las concentraciones de IgG en mg/dL para cada muestra, midiendo el diámetro de cada reacción en milímetros, los datos obtenidos para el cálculo de las concentraciones son los siguientes:

**Tabla 1: Diámetros de reacción en placa de inmunodifusión radial simple para sueros del grupo 1**

Número	Madre	Fec. Nac.	Cría	Fec. Nac.	HN	2 días	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días	105 días	120 días
1	H0500	feb-02	H3104	10-mar	09:29	8	6	6	5,1	5	4	5	6	6
2	H0001	dic-99	H3106	12-mar	09:36	10	5	5	5	5	3,5	5	6	7
3	H0034	dic-04	H3108	12-mar	10:30	8	7,5	7	7	7				
4	H0904	ene-06	H3111	16-mar	10:15	7	7,5	7	6	4	5	5	5,5	5,5
5	H0611	mar-98	H3123	21-mar	09:15	11	7,5	6,3	7	5,5	4	6	7	7,5
6	H0171	ene-05	H3124	21-mar	09:30	11	7	6,1	6	5	4	6	5,5	5,5
7	S0009	ene-04	H3127	23-mar	11:50	9	7	7	6	5	5	5	5	5
8	H0881	mar-96	H3129	26-mar	12:00	11	7,3	7	7	4,5	5,5	6	6	5,5
9	H0172	ene-04	H3136	26-mar	09:57	9	6	5,5	4,5	5,5	6	6	6,5	6
10	H0329	ene-98	H3138	26-mar	09:00	9,5	7,5	7	6	6	6	7,5	7,5	7,5

Elaboración propia.

\* Las medidas de los diámetros es en milímetros (mm).

**Tabla 2: Diámetros de reacción en placa de inmunodifusión radial simple para sueros del grupo 2 (IgG bovino)**

Número	Madre	FN	Cría	FN2	HN	2 días	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días	105 días	120 días
1	H0379	feb-02	H3109	12-mar	08:00	4	4	0	0	0	0	0	0	0
2	H0147	dic-02	H3110	12-mar	08:00	5,3	4,5	4	3,5					
3	H0491	mar-04	H3113	16-mar	08:30	5	4,5	4	3,5	4	3,5	0	0	0
4	H0084	ene-01	H3126	23-mar	08:50	5,1	4,5	4	4	0	0	0	0	0
5	H0522	mar-04	H3133	26-mar	10:14	6	5	4,8						
6	H0152	feb-01	H3134	26-mar	11:05	5	5	4,5						
7	H0348	feb-01	H3139	26-mar	08:00	6	4,5	4,2	4	3,5	0	0	0	0
8	H0283	ene-04	H3140	26-mar	08:20	5,5	4,5	4	4	4	0	0	0	0
9	H0037	dic-03	H3142	26-mar	09:00	6	4,5	4	5,5	3,5	0	0	0	0
10	H0177	ene-04	H3144	26-mar	07:00	6	4,5							

Elaboración propia.

\* Las medidas de los diámetros es en milímetros (mm).

**Tabla 3: Diámetros de reacción en placa de inmunodifusión radial simple para sueros del grupo 2 (IgG camélido)**

Número	Madre	FN	Cria	FN2	HN	2 días	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días	105 días	120 días
1	H0379	feb-02	H3109	12-mar	09:00	5,5	5	5,5	4,5	5	6	7	6,5	7
2	H0147	dic-02	H3110	12-mar	00:00	0	4	4	4					
3	H0491	mar-04	H3113	16-mar	00:00	5	4,5	4,5	3,5	4	5	5,5	5,5	6
4	H0084	ene-01	H3126	23-mar	00:00	0	4	4	4,5	4	5,5	6	6,5	7
5	H0522	mar-04	H3133	26-mar	HN	4	4	4						
6	H0152	feb-01	H3134	26-mar	08:00	5	5	5						
7	H0348	feb-01	H3139	26-mar	08:00	4	3,5	4	4,5	5,5	7	8	8,5	10
8	H0283	ene-04	H3140	26-mar	08:30	3,5	3,5	4	4,5	5	5,5	7	7,5	7
9	H0037	dic-03	H3142	26-mar	08:50	6,5	6	6	5,5	5	5	6,5	7	6
10	H0177	ene-04	H3144	26-mar	10:14	4	4							

Elaboración propia.

\* Las medidas de los diámetros es en milímetros (mm).

En el grupo 1, el análisis de los sueros se realizó solo en placas de inmunodifusión radial con antígenos para IgG de camélido, con el fin de obtener una curva de tendencia de concentraciones de IgG en suero en condiciones normales, sin importar el origen de esta IgG, ya sea de la madre (absorbido por el calostro) o los producidos por la propia cría.

Para el grupo 2 (crías alimentadas con calostro de bovino), el análisis de los sueros se realizó en placas de inmunodifusión radial con antígenos para IgG de camélidos y en placas de inmunodifusión radial con antígenos para IgG de bovino. En este caso los valores obtenidos en las placas con antígeno de IgG de camélidos indicaran los niveles de IgG de camélido producidos por

la propia cría, ya que estos fueron restringidos de calostro de camélido. Mientras que los valores obtenidos en las placas con antígeno de IgG de bovino, indicaran la absorción de IgG bovino por las crías de alpaca mediante el calostro de bovino.

### **2.3.7. Instrumentos**

Los datos obtenidos se almacenaron en hojas de campo y gabinete, denominadas y diseñadas para tal fin como sigue:

1. Registro de asignación de tipo de calostro (Anexo 2).
2. Registro de tabulación de datos de laboratorio (Anexo 3 y 4).
3. Registro de nacimientos.
4. Registro de pesos (Anexo 5).

### **2.3.8. Método y técnica de análisis de datos**

El análisis de los datos obtenidos (concentraciones de IgG en crías de alpaca y peso al nacimiento) se realizó con el uso del paquete estadístico Minitab Inc. versión 14, previa verificación de los datos obtenidos de campo y gabinete.

- **Para el primer objetivo**, el análisis de los datos se hizo a base de estadística descriptiva, calculando las principales medidas de tendencia central, y elaborando una curva de tendencia con los niveles de IgG alcanzados; además se realizó el análisis de regresión polinomial entre las variables edad de la cría y

concentración de IgG en suero de las mismas, utilizándose para tal fin el siguiente modelo polinomial:

$$Y = b_0 + b_1X \dots b_nX + \varepsilon$$

Donde:

Y: Variable respuesta (Concentración de IgG en suero).

$b_0$ : Intercepto.

$b_1$ : Coeficiente de regresión.

X: Variables independiente (edad de la cría).

$\varepsilon$ : Error residual (0,01).

- **Para el segundo objetivo**, se realizó el análisis de correlación entre las variables peso al nacimiento y edad de la cría, buscando algún tipo de interacción entre las mismas con respecto a la concentración de IgG en suero de las crías utilizándose también el modelo polinomial antes descrito, realizándose así mismo el análisis de varianza para determinar su significación.

#### 2.4. Limitaciones del estudio

Pese al apoyo brindado por la administración del CICAS La Raya con respecto a la disponibilidad de animales y material de laboratorio la única limitación encontrada fue el número de animales, que se ajustan al material de laboratorio por ser este de escaso y elevado valor económico.

## **CAPÍTULO III**

### **RESULTADOS**

#### **3.1 Determinación de la edad al inicio de producción de niveles adecuados de IgG de las crías de alpaca.**

Para obtener los resultados del objetivo específico 1, se tuvo que realizar tres análisis previos:

1. Determinar las concentraciones normales de IgG de camélido en crías que tuvieron acceso al calostro de sus madres.
2. Determinar las concentraciones de IgG de camélido en crías alimentadas con calostro de vacuno.
3. Determinar las concentraciones de IgG de bovino en crías que fueron alimentadas con calostro de vacuno.

### 3.1.1. Concentraciones de IgG de camélido para el grupo 1

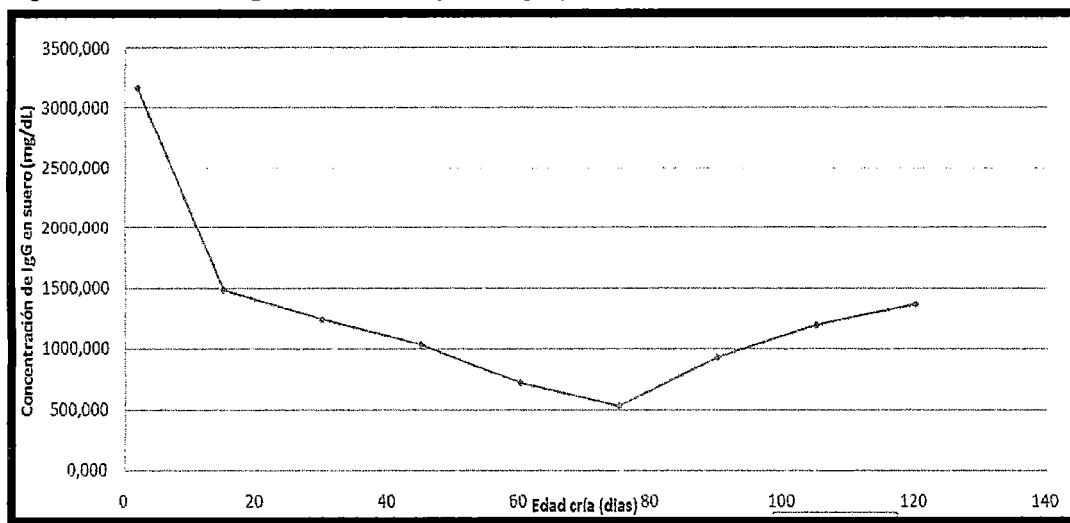
Tabla 4: Medidas de tendencia central para el grupo 1

Medida de tendencia central	2 días	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días	105 días	120 días
Media (mg/dL)	3 165,237	1 483,118	1 240,814	1 035,778	717,639	527,523	932,568	1 195,951	1 368,578
Media ajustada (mg/dL)	3 143,777	1 549,192	1 148,010	1 006,602	749,052	562,657	750,504	1 284,045	1 355,676
Error típico	335,326	141,795	114,876	132,635	121,726	121,777	144,877	171,478	198,822
Desviación estándar	1 060,395	448,396	363,269	419,428	384,933	365,332	434,632	514,433	596,467
Varianza de la muestra	1 124 438,404	201 059,354	131 964,641	175 920,011	148 173,374	133 467,795	188 905,406	264 641,617	355 772,569
Mínimo(mg/dL)	1 534,615	583,481	583,481	392,103	220,870	69,782	583,481	584,098	678,300
Máximo(mg/dL)	4 451,330	1 842,546	1 550,443	1 550,443	1 612,816	1 026,672	1 923,575	2 240,800	2 240,800

Elaboración propia.

En la tabla 4 se observa las principales medidas de tendencia central y de dispersión desde los 2 hasta los 120 días de edad con respecto a los niveles de IgG (mg/dL) de camélido, para el grupo 1. Donde se obtuvo 3165,237 mg/dL y 1368,578 mg/dL de IgG respectivamente como valores promedio, observándose además que a los 75 días este valor es mínimo con una concentración de 527,523 mg/dL de IgG de camélido.

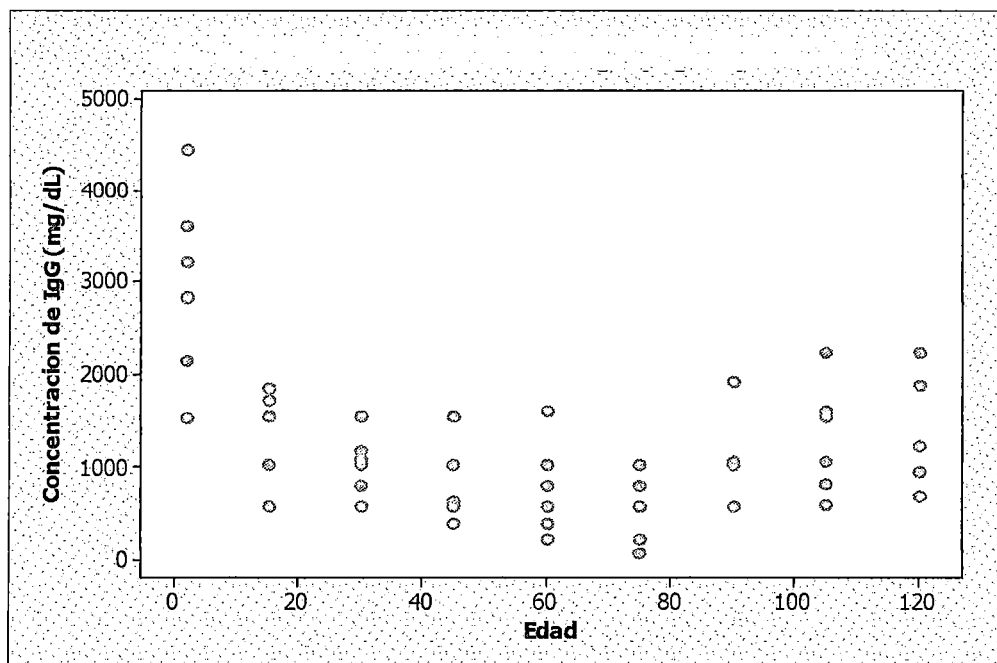
**Figura 1: Valores de IgG de camélido para el grupo 1**



Elaboración propia.

En la figura 1 se observa la tendencia normal de las concentraciones de IgG de camélido para crías de alpaca que tuvieron acceso normal al calostro de su madre, nótese que a las 48 horas de vida se tiene un valor promedio de  $3165,237 \pm 1060,395$  mg/dL, concentración elevada debido a la buena absorción de IgG del calostro de la madre; así mismo estas concentraciones inician una caída para llegar hacia el día 75 con un valor de  $527,523 \pm 365,332$  mg/dL, lo que nos indica que la inmunidad conferida por la madre mediante el calostro ya está quedando sin efecto. A partir de esta edad la concentración inicia su aumento, llegándose a tener valores de  $1368,578 \pm 198,822$  mg/dL hasta el final del estudio (120 días), estabilizándose así con los valores de concentración de IgG en suero en animales adultos.

Figura 2: Nube de puntos para concentración de IgG de grupo 1



Elaboración propia.

En la figura 2 se observa la nube de puntos con los valores de concentración de IgG en suero, observados de los 2 a 120 días, con la finalidad de trazar la línea de tendencia que se ajuste mejor a los valores obtenidos para el grupo 1; ajustándose estos datos a una línea de tendencia polinomial de grado 5, según el modelo lineal:

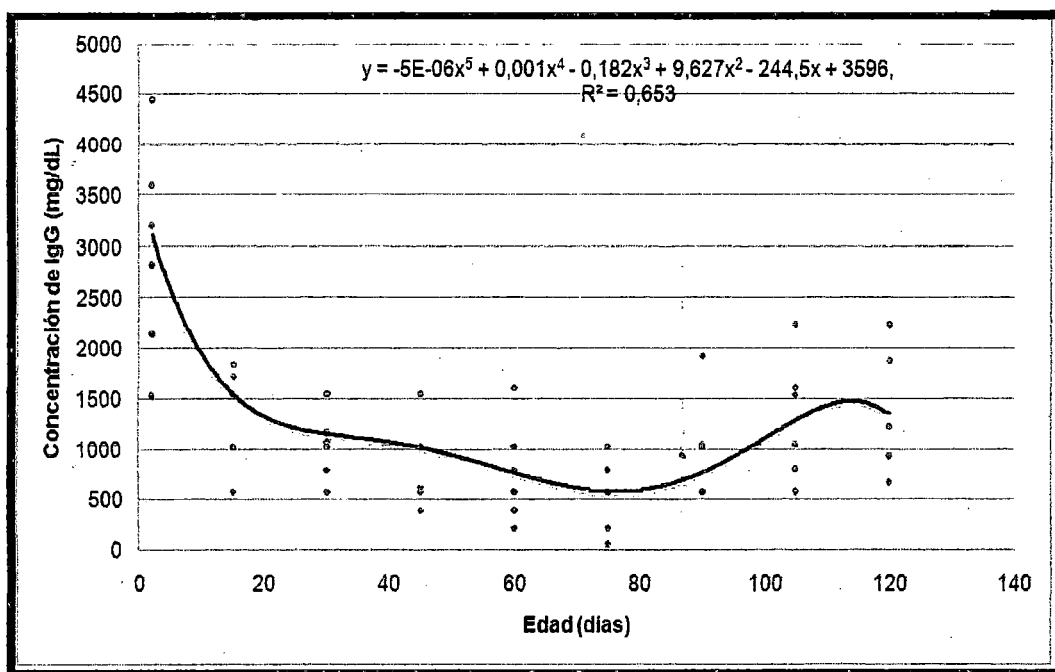
$$y = -5E-06x^5 + 0,001x^4 - 0,182x^3 + 9,627x^2 - 244,5x + 3596$$

Donde:

y : Concentración de IgG (mg/dL).

x : Edad (días).

Figura 3: Curva de regresión para edad vs concentración de IgG en el grupo 1



Elaboración propia.

En la figura 3 se observa la línea de regresión para los resultados del grupo 1, realizándose para dicha regresión el análisis de varianza (tabla 5), la cual resultó altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ), indicando eso que la línea de tendencia propuesta se ajusta correctamente a los valores encontrados:

Tabla 5: Análisis de varianza para regresión edad vs concentración de IgG en el grupo 1

F de V	g. l.	SC	CM	F	P	Sig.
Regresión	5	45 459 268	9 091 854	30,20	0,000	**
Error residual	80	24 085 118	301 064			
Total	85	69 544 386				

\*\* ( $p \leq 0,01$ )

Elaboración propia.

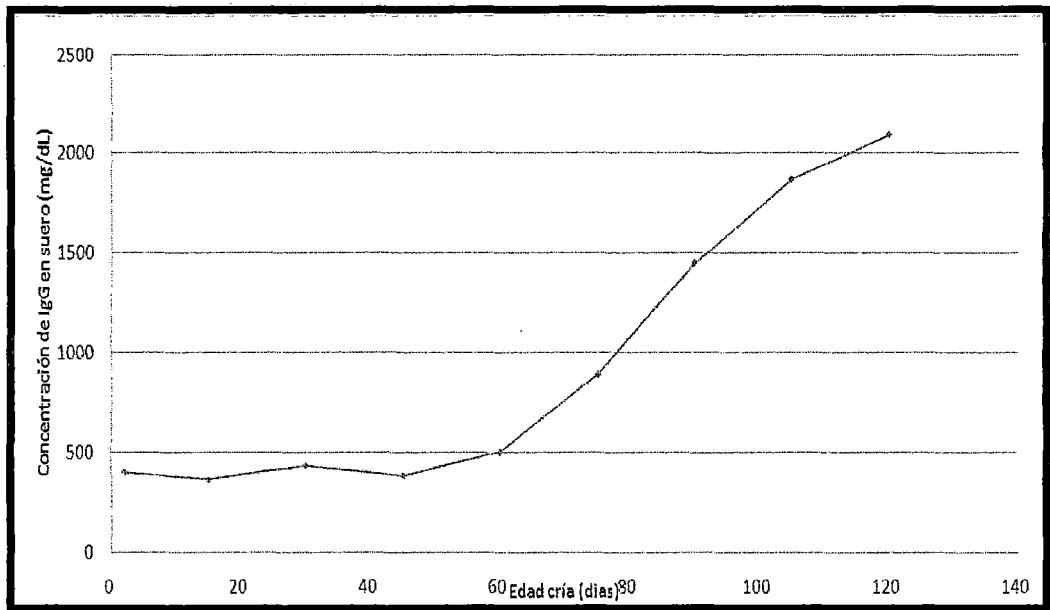
### 3.1.2. Concentraciones de IgG de camélido para el grupo 2

**Tabla 6: Medidas de tendencia central para concentraciones de IgG de camélido para el grupo 2**

Medida de tendencia central	2 d	15 d	30 d	45 d	60 d	75 d	90 d	105 d	120 d
Media(mg/dL)	397,284	360,878	431,008	379,153	497,865	889,014	1 444,935	1 663,717	2 086,633
Media ajustada (mg/dL)	400,538	347,000	363,879	465,338	651,076	921,194	1 275,691	1 714,568	2 237,824
Error típico	129,971	93,763	101,574	83,718	93,761	148,415	206,914	293,726	486,041
Desviación estándar	411,005	296,506	304,722	221,497	229,667	363,542	506,833	719,480	1 190,553
Varianza de la muestra	168 925,236	87 915,875	92 855,209	49 061,079	52 746,820	132 162,962	256 879,511	517 651,042	1 417 416,667
Mínimo(mg/dL)	0,000	69,782	198,328	69,782	220,870	583,481	809,130	940,800	1228,300
Máximo(mg/dL)	1 278,485	1 026,672	1 026,672	795,004	795,004	1 550,443	2 255,765	3 040,800	4 428,300

Elaboración propia.

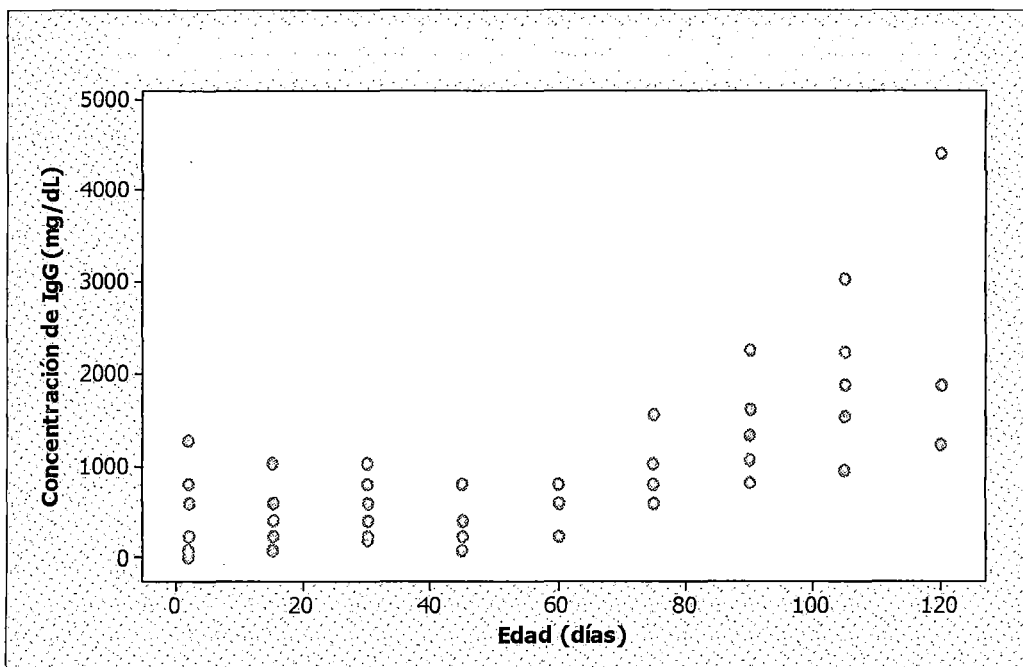
En la tabla 6 se observa las principales medidas de tendencia central y de dispersión de las concentraciones de IgG de camélido en suero de crías de alpaca, observados en el grupo 2, notándose un incremento gradual de 397,284  $\pm$  411,005 mg/dL a las 48 horas hasta 2086,633  $\pm$  1190,553 mg/dL a los 120 días, con valores de 0 mg/dL y 1278,485 mg/dL como mínimo y máximo para las 48 horas mientras que 1228,300 mg/dL y 4428,300 mg/dL como mínimo y máximo respectivamente para los 120 días de edad.

**Figura 4: Valores de IgG de camélido para el grupo 2**

Elaboración propia.

En la figura 4 se observa la línea de tendencia de los valores de concentración de IgG de camélido en suero de crías de alpaca, donde se evidencia un claro incremento desde las 48 horas hasta el final del estudio (120 días). Observándose además que entre los 75 y 90 días las crías de alpaca ya alcanzan concentraciones de IgG en suero sobre los 1000 mg/dL.

Figura 5: Nube de puntos para concentración de IgG de camélido para el grupo 2



Elaboración propia.

En la figura 5 se observa la nube de puntos con los valores de IgG obtenidos, con la finalidad de trazar la línea de tendencia que se ajuste mejor a los valores obtenidos para el grupo 2; ajustándose estos datos a una línea de tendencia polinomial cuadrática, según el modelo lineal:

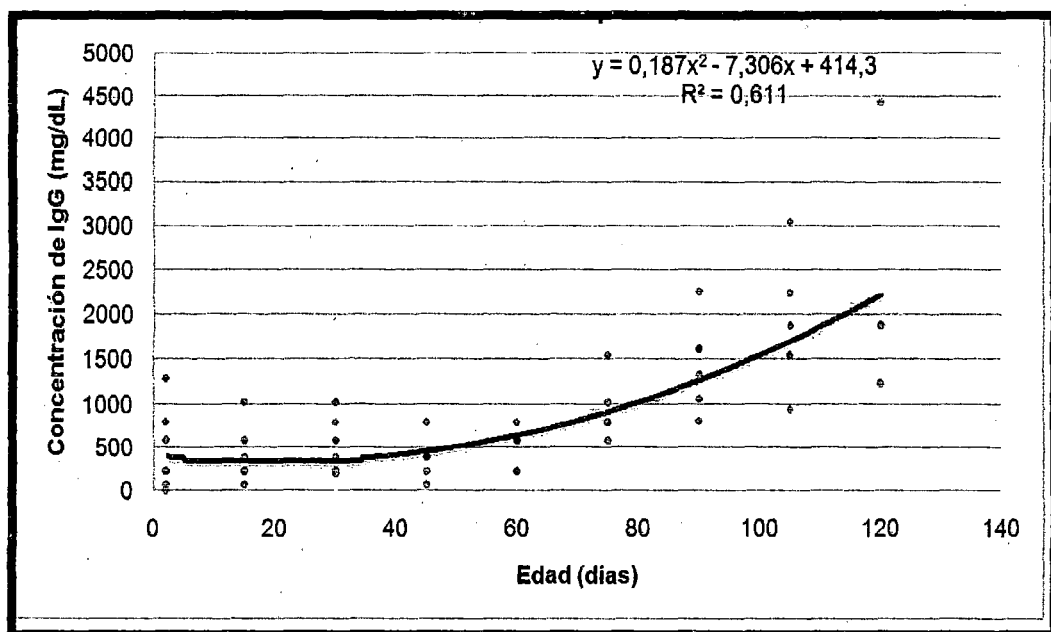
$$y = 0,187x^2 - 7,306x + 414,3$$

Donde:

y : Concentración de IgG (mg/dL).

x : Edad (días).

Figura 6: Curva de regresión de edad vs concentraciones de IgG de camélido en el grupo 2



Elaboración propia.

En la figura 6 se observa la línea de regresión para la concentración de IgG de camélido del grupo 2, realizándose para dicha regresión el análisis de varianza (tabla 7), la cual resultó altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ), lo cual nos indica que los valores de concentraciones de IgG en suero de crías de alpaca para el grupo 2 se ajustan correctamente a la línea de regresión establecida. Calculándose entonces que a partir de los 79 días de edad se alcanzan concentraciones de IgG de camélido superiores a 1000 mg/dL.

**Tabla 7: Análisis de varianza para regresión edad vs IgG de camélido en el grupo 2**

F de V	g. l.	SC	CM	F	P	Sig.
<b>Regresión</b>	2	25 082 595	12 541 297	49,64	0,000	**
<b>Error residual</b>	63	15 917 066	252 652			
<b>Total</b>	65	40 999 661				

\*\* ( $p \leq 0,01$ )

Elaboración propia

### 3.1.3. Concentraciones de IgG de bovino para el grupo2

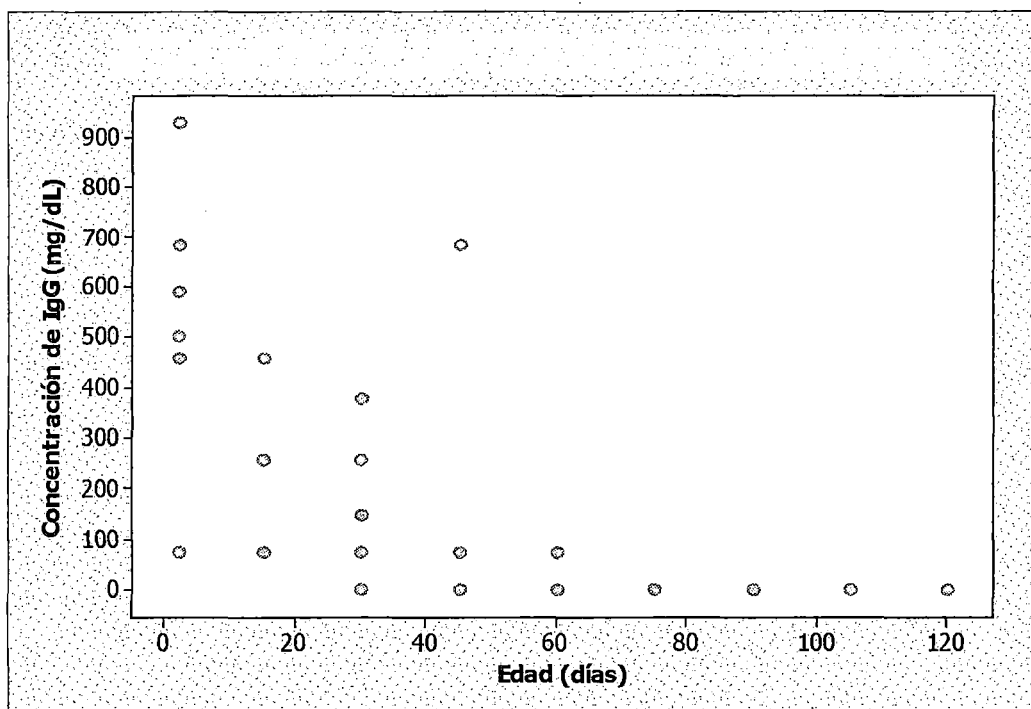
**Tabla 8: Medidas de tendencia central para valores de IgG de bovino en suero de crías de alpaca para el grupo 2**

Medida de tendencia central	2 d	15 d	30 d	45 d	60 d	75 d	90 d	105 d	120 d
Media(mg/dL)	646,738	277,441	126,880	128,992	24,606	0,000	0,000	0,000	0,000
Media ajustada (mg/dL)	608,364	342,455	147,203	45,305	9,358	11,965	25,723	23,233	0,000
Error típico	90,622	34,944	38,725	93,134	15,562	0,000	0,000	0,000	0,000
Desviación estándar	286,572	110,501	116,175	246,410	38,119	0,000	0,000	0,000	0,000
Varianza de la muestra	82 123,336	12 210,498	13 496,659	60 717,769	1 453,039	0,000	0,000	0,000	0,000
Mínimo(mg/dL)	73,817	73,817	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Máximo(mg/dL)	926,695	457,612	374,030	681,493	73,817	0,000	0,000	0,000	0,000

Elaboración propia.

En la tabla 8 se observa las principales medidas de tendencia central y de dispersión de las concentraciones de IgG de bovino en suero de crías de alpaca desde los 2 hasta los 120 días de edad para el grupo 2, donde se aprecia que los valores decrecen de 646,738  $\pm$  286,572 mg/dL a 0 mg/dL a los 75 días de edad, para permanecer con este valor hasta finalizado el estudio (120 días), lo cual nos indicaría que las IgG de bovino tienen un tiempo aproximado de vida entre 45 a 60 días en suero de crías de alpaca.

Figura 7: Nube de puntos para concentraciones de IgG de bovino en el grupo 2



Elaboración propia.

En la figura 7 se observa la nube de puntos elaborada con las concentraciones de IgG de bovino en suero, con la finalidad de trazar la línea de tendencia que se ajuste mejor a los valores obtenidos de concentración de IgG de bovino (mg/dL) para el grupo 2; ajustándose estos datos a una línea de tendencia polinomial cúbica, según el modelo lineal:

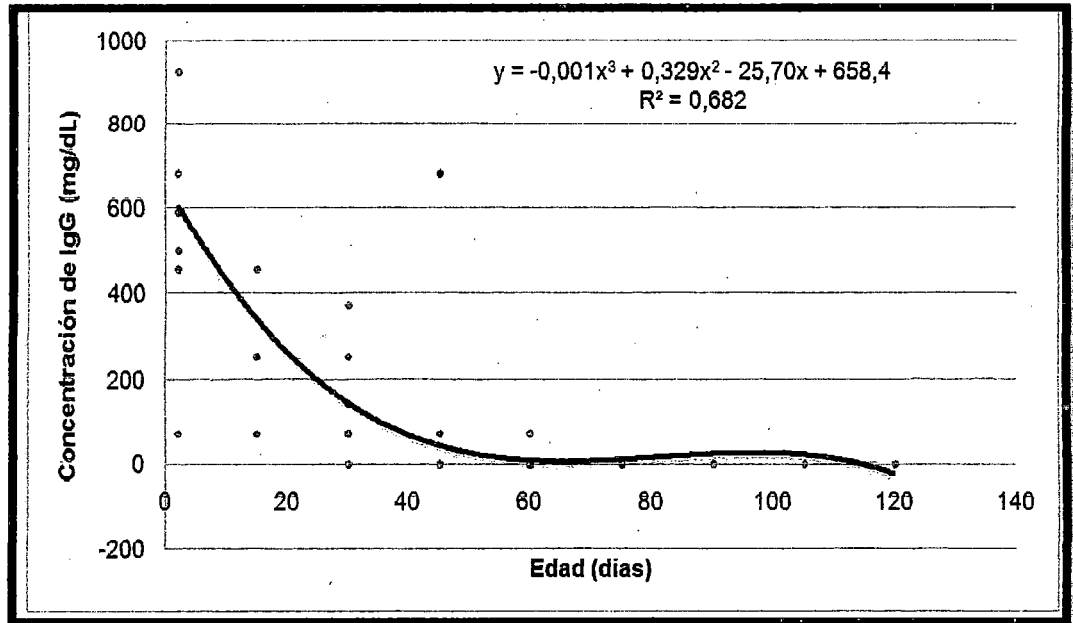
$$y = -0,001x^3 + 0,329x^2 - 25,70x + 658,4$$

Donde:

y : Concentración de IgG (mg/dL).

x : Edad (días).

Figura 8: Curva de regresión para edad vs concentración de IgG de bovino en el grupo 2



Elaboración propia.

En la figura 8 se observa la línea de regresión para la edad y concentración de IgG de bovino en suero, observándose una tendencia a disminuir alcanzándose valores de 646,738 mg/dL a los 2 días y 24,606 mg/dL a los 60 días, a partir de ahí se observa valores de 0 mg/dL de los 75 a los 120 días de edad, realizándose para dicha regresión el análisis de varianza (tabla 9), la cual resulto altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ), lo cual nos indica que la línea de tendencia se ajusta correctamente a los valores encontrados:

**Tabla 9: Análisis de varianza para la regresión edad vs concentración de IgG de bovino en tratamiento experimental**

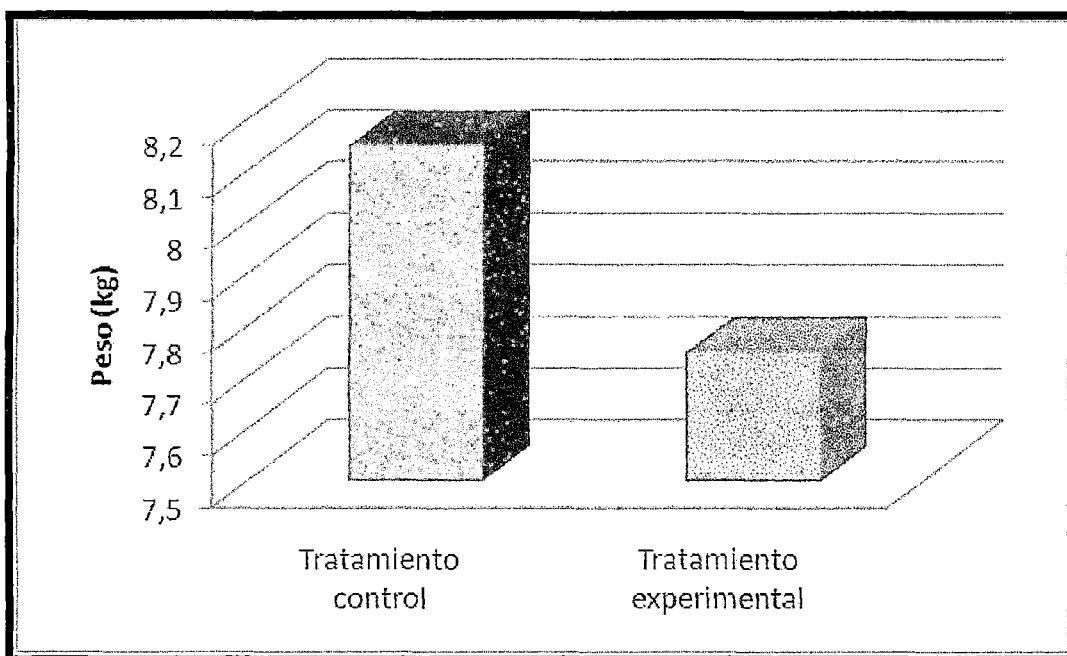
F de V	g. l.	SC	CM	F	P	Sig.
Regresión	3	3 114 127	1 038 042	44,36	0,000	**
Error residual	62	1 450 895	23 402			
Total	65	4 565 022				

\*\* ( $p \leq 0,01$ )

Elaboración propia.

### 3.2. Relación entre el peso al nacimiento y el inicio de la producción de niveles adecuados de IgG.

Figura 9: Peso al nacimiento para crías de alpaca (*Vicugna pacos*)



Elaboración propia.

En la figura 9 se observa la comparación de pesos al nacimiento para las crías de alpaca, no encontrándose diferencia significativa a la prueba t ( $p \leq 0,01$ ), observándose un promedio de  $8,15 \pm 1,132$  kg en el grupo 1 y de  $7,75 \pm 1,034$  kg para el grupo 2.

Tabla 10: Medidas de tendencia central para peso al nacimiento

<b>Medida de tendencia</b>	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>
<b>Media (kg)</b>	8,15	7,75
<b>Error típico</b>	0,358	0,327
<b>Desviación estándar</b>	1,132	1,034
<b>Varianza de la muestra</b>	1,281	1,069
<b>Mínimo (kg)</b>	6	6,5
<b>Máximo (kg)</b>	10	9,5
<b>CV</b>	14%	13%
<b>Prueba F (0,01)</b>	0,792	NS
<b>Prueba t (0,01)</b>	0,318	NS

Elaboración propia.

En la tabla 10 se observa las principales medidas de tendencia central para el peso al nacimiento de ambos grupos, con valores mínimos de 6 kg y 6,5 kg y máximos de 10 kg y 9,5 kg para los grupos 1 y 2 respectivamente.

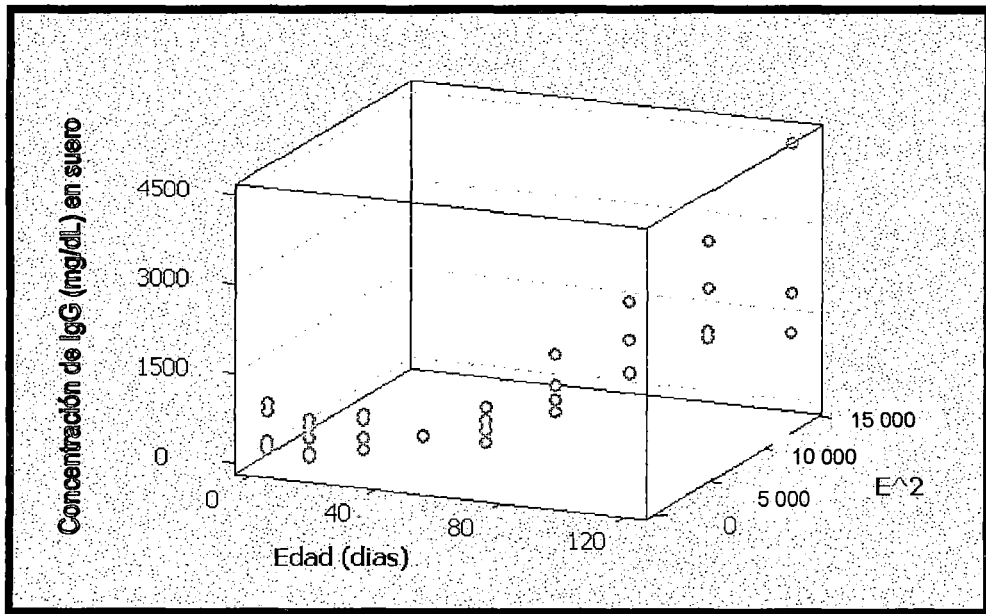
**Tabla 11: Análisis de varianza para regresión de Interacción peso nacimiento y edad de producción de IgG de camélido en crías de alpaca**

F de V	g. l.	SC	CM	F	P	Sig.
<b>Regresión</b>	3	27 518 175	9 172 725	42,18	0,000	**
<b>Error residual</b>	62	13 481 486	217 443			
<b>Total</b>	65	40 999 661				

\*\* ( $p \leq 0,01$ )  
Elaboración propia.

En la tabla 11 se observa el análisis de varianza para la interacción entre peso al nacimiento y edad de la cría sobre la producción de niveles adecuados IgG de camélido en suero de crías alpaca, resultando altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ), ésta interacción se buscó teniendo en cuenta que el peso al nacimiento independientemente no tiene ningún tipo de influencia ( $p \leq 0,05$ ) sobre la producción de niveles adecuados de IgG en suero.

Figura 10: Interacción peso nacimiento y edad de producción de IgG de camélido en crías de alpaca



Elaboración propia.

En la figura 10 se observa la interacción entre los variables peso al nacimiento y edad de la cría sobre la producción de concentraciones adecuadas de IgG (mg/dL), el valor  $R^2$  encontrado fue de 0,671, el cual nos indica que la variación de la producción de IgG en niveles adecuados depende del 67,1 % de la variación de la interacción de estas dos variables sobre las concentraciones finales de IgG de camélido en suero de alpacas cría, ajustándose al modelo de correlación cuadrático siguiente:

Donde:

y : Concentración de IgG (mg/dL).

$x_1$  : Edad (días).

$x_2$  : Peso nacimiento (kg).

## **CAPÍTULO IV**

### **DISCUSIÓN**

#### **4.1 Determinación de la edad de la cría al inicio de producción de niveles adecuados de IgG**

Los valores promedio de IgG en suero obtenidos de crías de alpaca del grupo 1 fueron de  $3165,237 \pm 1060,395$  mg/dL a las 48 horas, siendo mayores a los obtenidos por Garnica y Bravo (2001) ,Weaver y otros (2000a y 2000b) , que obtuvieron valores de  $2652,87 \pm 759$  mg/dL,  $1655 \pm 1197$  mg/dL y  $1762 \pm 1153$  mg/dL respectivamente; estas diferencias posiblemente tengan origen a que Garnica y Bravo (2001) realizaron su investigación en otra zona y el número de animales utilizados fue mayor, mientras que Weaver y otros (2000a y 2000b) utilizaron la técnica de turbidométrico de sulfato de sodio, siendo esta prueba poco sensible a comparación de la cuantificación que se logra con la inmunodifusión radial en placa.

Así mismo los valores mínimos de  $1534,615$  mg/dL fueron superiores a los encontrados por Garmendia y Otros (1987) de 500 mg/dL, pero valores máximos  $4451,330$  mg/dL fueron relativamente más bajos que los hallados por los mismos investigadores, siendo este de 5300 mg/dL, para los dos casos también fueron a las 48 horas, esta

diferencia posiblemente se deba a que para la realización de este trabajo elaboraron sus propias placas de inmunodifusión, muy aparte del número de animales utilizados que fue mayor.

Para las concentraciones de IgG en suero de crías de alpaca para el grupo 2, se obtuvo una concentración promedio a las 48 horas de  $397,284 \pm 411,005$  mg/dL, siendo estos superiores a los reportados por Garmendia y McGuire (1987), Bravo (2003), Weaver (2000a), Garnica y Bravo (2001) de 300 mg/dL, 0 mg/dL, <144 mg/dL y 0 mg/dL respectivamente. Esta diferencia en casi todos los casos, se debería que en la mayoría de trabajos no se consideraban como significativos valores de IgG en suero, menores a 144 mg/dL, quedando abierta la posibilidad de que la cría al momento del nacimiento ya tenga concentraciones bajas de IgG, por haber sido expuestas a antígenos dentro del útero de la madre, como son reportados en otras especies como bovinos y cerdos, Devery (1979) y Wilson (1974) respectivamente.

Concentraciones superiores a  $1444,935 \pm 506,833$  mg/dL a partir del día 90 son comparables con concentraciones en suero de animales adultos de 900 mg/dL a 2400 mg/dL reportados por Jorgensen (1991).

La concentraciones de IgG de bovino en suero de las crías de alpaca alimentadas solo con calostro de vacuno, de los días 2, 15 y 30

fueron de  $646,738 \pm 286,572$  mg/dL,  $277,441 \pm 110,501$  mg/dL y  $126,880 \pm 116,175$  mg/dL respectivamente, siendo estos inferiores a los reportados en crías de camello por Al-Busadah (2007) con valores promedio de  $2400 \pm 220$  mg/dL,  $1100 \pm 70$  mg/dL y  $800 \pm 60$  mg/dL para los mismos días, se debería a la especie utilizada.

Finalmente la edad aproximada de producción de niveles adecuados de IgG de camélido en crías de alpaca fue de 79 días; y teniendo en cuenta que el sistema inmunológico de los mamíferos no es totalmente funcional durante la vida fetal ni aun en el momento del nacimiento y que la maduración es gradual y se completa en un periodo cuya duración varía en cada especie animal, este resultado es inferior al reportado por Honingman y otros (1987) en bovinos donde recién se alcanza a los 8 meses de edad la concentración mínima de IgG en suero de un animal adulto; similar al reportado por Gonzales (1993) para cerdos donde hasta las 10 semanas aun el sistema inmune está en proceso de maduración; y superior a los reportado por Galassi y Nota (1987) en ratas donde la madurez inmunológica se alcanza entre las 4 a 5 semanas de edad.

#### **4.2 Relación entre el peso al nacimiento y el inicio de la producción de niveles adecuados de IgG**

El peso al nacimiento de 8,15 kg y 7,75 kg para los grupos 1 y 2 respectivamente fue similar al encontrado por Bustinza (1988) de 8,36 kg.

El efecto del peso al nacimiento sobre la edad de inicio de producción de niveles adecuado de IgG de camélido resultó no significativo, similar resultado fue reportado por Garmendia y otros (1987).

La igualdad de resultados con respecto a la no influencia del peso al nacimiento sobre las concentraciones de IgG de camélido en las crías de alpaca, se debería a que la maduración del sistema inmune no dependería del peso de nacimiento de la cría, sino más bien de la exposición temprana de la misma, a agentes o antígenos que incentiven la reacción inmunológica, así mismo esta reacción se verá retrasada por el efecto que ejerce la inmunidad pasiva transferida por la madre mediante el calostro.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES**

1. Se evidencia que las crías de alpaca ya tienen concentraciones de IgG al momento del nacimiento, aunque estas no resulten significativas (397,284 mg/dL) para una adecuada protección contra agentes externos, calculándose además que la edad a la que se alcanza concentraciones adecuadas de IgG (<1000 m/dL) en suero es aproximadamente a partir de los 79 días.
2. No se ha encontrado evidencia ( $p \leq 0,05$ ) que determine la influencia del peso al nacimiento sobre la producción de IgG propias en crías de alpaca a niveles adecuados (>1000 mg/dL), pero si hay evidencia altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ) para el efecto de la interacción entre el peso al nacimiento y la edad sobre la producción de IgG propias en las crías de alpaca.

## **CAPÍTULO VI**

### **RECOMENDACIONES**

1. Realizar trabajos de investigación para esclarecer si es posible la transferencia en útero de IgG de la madre a la cría de alpaca, o determinar si el sistema inmune de los fetos ya inician la producción de Ac en el último tercio de la gestación, cosa que justificaría la presencia de IgG antes del consumo de calostro.
2. Realizar trabajos de investigación para determinar el periodo de maduración de la inmunidad celular en crías de alpaca, aportando de esta manera al conocimiento sobre inmunidad en alpacas.
3. Establecer programas de vacunación teniendo en cuenta que la inmunidad materna tiene una duración aproximada de 45 a 60 días como mínimo y que las crías de alpaca se encuentran inmunológicamente maduras a los 79 días aproximadamente, esto con el fin de evitar la interferencia materna.

## BIBLIOGRAFÍA

- Al-Busadah, K. A. (2007). Efficacy of Feeding Bovine and Caprine Colostrum to Neonatal Camel. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6 (1), 5-7.
- Ameghino, E., & De Martini, J. (1991). Mortalidad en crias de alpacas. Boletín de Divulgación del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. 71-80.
- Blood, D. C., Henderson, J. A., & Radostis. (2002). *Medicina Veterinaria*. Novena Edición. Editorial McGraw Hill. España.pp. 2175.
- Bourke, D. A. (1996). Determination of passive immune status in llama neonates. *Proceedings of the 3rd British Veterinary Camelid Society*. Burford. (págs. 39-45).
- Bravo, W. (2003). Fisiología del neonato llama y alpaca. *III Congreso Mundial sobre Camélidos* (págs. 55-57). Potosí: CIF - FCAyP - UMSS.
- Bustinza, A. V., Burfening, P. J., & Blackwell, R. L. (1988). Factors Affecting Survival in Young Alpacas (Lama Pacos). *J. Anim. Sci.* (66), 1139-1143.

- Davis, C. L., & Drackley, J. K. (1998). The development, nutrition and management of the young calf. 1<sup>st</sup> edition. Iowa State Press. EEUU. pp. 338.
- Devery, J. E., Davis, C. L., & Larson, B. L. (1979). Endogenous Production of Immunoglobulin IgG1 in Newborn Calves. *J. Dairy Sci.* (62), 1814-1818.
- Elizondo, J. (2007). Importancia y manejo del calostro en el ganado de leche. Curso RAPCO. Costa Rica. pp. 11.
- Erhard, M. H., Kouider, M. N., Dabbag, M. N., Schickel, F., & Stangassinger, M. (1999). Determination of serum IgG levels in camels by a bovine specific sandwich ELISA. *J. Camel Prac. Res.* , 6, 15-18.
- Fowler, M. E., & Olander, H. J. (1990). Fetal membranes and ancillary structures of llamas (*Lama glama*). *Am. J. Vet. Res.* (51), 1495-1500.
- Freund, J. (1930). Influence of age upon antibody formation. *J. immunol* (18), 315-324.

- Galassi, N. V., & Nota, N. R. (1987). Ontogenia de la respuesta de anticuerpos contra antígenos no patógenos en la rata. *Inmunología*, 6 (3), 112-117.
- Garmendia, A. E., & McGuire, T. C. (1987). Mechanism and isotypes involved in passive immunoglobulin transfer to the newborn alpaca (*Lama pacos*). *Am. J. Vet. Res.* (48), 1465-1471.
- Garmendia, A. E., Palmer, G. H., DeMartini, J. C., & McGuire, T. C. (1987). Failure of passive immunoglobulin transfer: A major determinant of mortality in newborn alpacas. *Am J Vet Res*, 48 (10), 1471-1475.
- Garnica, J., & Bravo, W. (2001). Absorción de inmunoglobulinas G calostrales en alpacas crías durante la vida perinatal. *Revista ALLPAK A. UNA. Puno.* 9 (1), 95-102.
- Ghazi, S. R., Oryan, & Pourmirzali. (1994). Some aspects of microscopic studies of the placentation in the camel. *Anat. Histol. Embrol.* (23), 337-342.
- Gonzales, D., Cisneros, I., Vega, M. A., & Morilla, A. (1993). Perfil inmunológico de los cerdos durante las primeras diez semanas de vida. *Vet. Mex.*, 3 (24), 217-221.

- Hamers-Casterman, C., Atarhouch, T., Muyldermans, S., Robinson, G., Hamers, C., Bajyana Songa, E., y otros. (1993). Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* (363), 446-448.
- Herrera, A. (2008). Las Inmunoglobulinas G de los camélidos y sus aplicaciones. Revista electrónica SIRIVS. UNMSM. Lima. pp. 8.
- Honigman, M. N., Gomes, I., Abrue Martins, I., & Lombardo, R. A. (1987). Persistencia en terneros de la inmunidad posvacunal contra el virus aftoso. Revista del Centro Panamericano de Zoonosis, 12-20
- Huelsebusch, C. (1999). Immunoglobulin G status of camels during 6 months post natum. *Hohenheim Tropical Agricultural Series*. Magraf - Verlag. 53 (2).pp. 60.
- Hutchison, J. M., Salman, M. D., Garry, F. B., Johnson, L. W., Collins, J. K., & Keefe, T. J. (1995). Comparison of two commercially available single radial immunodiffusion kits for quantitation of llama immunoglobulin G. *J. Vet. Diagn. Invest.* (7), 515-519.

- Iturrizaga, D., Verechia, F., Santos, T., Bombonato, P., Teixeira, D., & Miglino, M. (2007). The materno fetal interface in llama (Lama guanicoe glama). *Pesq. Vet. Bras.*, 6 (27), 221-228.
- Jorgensen, D. (1998). Cow colostrum, an alternative suplement for the newborn llama. *Llama life*.  
[www.kentlabs.com/articles\\_cowcolos.html](http://www.kentlabs.com/articles_cowcolos.html).
- Jorgensen, D. (1991). Llama immunoglobulin G (IgG), and it's role as an indicator of health status. *Llama Life*.  
[www.kentlabs.com/articles\\_igghealth.htm](http://www.kentlabs.com/articles_igghealth.htm).
- Kim, Y. B., Bradley, S. G., & Watson, D. W. (1966). Ontogeny of the immune response: Development of immunoglobulins in germfree and conventional colostrum deprived piglets. *J. immunol* (97), 52-63.
- Mc Guire, T. C., Poppie, M. J., & Banks, K. L. (1975). Hypogamma globulinemia predisposing to infection in foals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* (166), 71-75.

- Medina, M. A., Fernandez, F., Saad, S., Rebuffi, G., & Yapur, J. (2004). Inmunoglobulinas G de cadenas pesadas en la leche de los camelidos sudamericanos. *Mastozoología Neotropical / J. Neotrop. Mammal.* , 11 (1), 19-26.
- Muyldermans, S. (2001). Advantages of single-domain antigen-binding fragments derived from functional camel heavy-chain antibodies. *Novel Frontiers in the Production of compounds for Biomedical* , 209-226.
- Nguyen, V. K., Hamers, R., Wyns, L., & Muyldermans, S. (2000). Camel heavy-chain antibodies: diverse germline VHH and specific mechanisms enlarge the antigen binding repertoire. *EMBO J.* (19), 921-930.
- Olivera, L., Douglas, Z., Leiser, R., Jones, C., & Bevilacqua, E. (2003). Placentation in the alpaca *Lama pacos*. *Anat Embryol* (207), 45-62.
- Pachari M, G. S. (2008). Tiempo de asociación de IgG en alpacas. *Tesis para obtencion de título* . Tacna, pp. 61.
- Raghunathan, R., Miller, M. E., Wuest, C., & Faust, J. (1984). Ontogeny of the Immune System: Fetal Lamb as a Model. *Pediatric Research* , 18 (5), 451-456.

- Ramirez, A. (1989). Enfermedades infecciosas en camelidos sudamericanos. XII Reunion Cientifica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal. pp. 85-105.
- Rea, D. E., Tyler, J. W., & Hancock, D. D. (1996). Prediction of calf mortality by use of test for passive transfer of colostrum immunoglobulin. *J. Am. Vet. Med. Assoc* (208), 2049-2051.
- Redman, D. R. (1979). Prenatal Influence on Immunocompetence of the Neonate. *J. Anim. Sci.* , 49 (1), 258-267.
- Roitt, I. (1994). Essential immunology. Eleven Edition. Blackwell publishing. EEUU. pp.467.
- Spear, P. G., Wang, A., Rituschauser, U., & Edelman, G. (1973). Characterization of splenic lymphoid cells in fetal and newborn mice. *J. Exp. Med.* (138), 557-573.
- Sterzl, J., & Trnka, Z. (1957). Effect of very large doses of bacterial antigen on antibody production in newborn rabbits. *Nature* (179), 918-919.

- Steven, D. H., Burton, G. J., Sumar, J., & Nathanielsz, P. W. (1980). Ultrastructural observations on the placenta of the alpaca (*Lama pacos*). *Placenta*, 1, 121-132.
- Tizar, I. R. (2001). *Inmunología Veterinaria*. Sexta edición, Vol. I. Editorial McGraw Hil. Texas. pp.574 .
- Van der Linden, R., de Geus, B., Stok, W., Bos, W., Van Wassenaar, D., Verrips, T., y otros. (2000). Induction of immune responses and molecular cloning of the heavy chain antibody repertoire of *Lama glama*. *J. Immunol. Meth.* (240), 185-195.
- Vanleenep, E. W. (1964). The placenta of the one humped camel during the second half of gestation. *Acta Morph. Neesl. Scand.* (5), 373-379.
- Wattiaux, M. (2001). Esenciales Lecheras: Importancia de alimentar con calostro. *Revista electronica del Instituto Babcock. Wisconsin.* 109-112.
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., Marion, R. S., Wallace, L. M., Nagy, J. K., & Holle, J. M. (2000). Evaluation of assay for determination of passive transfer status in neonatal llamas and alpacas. *JAVMA*, 216 (4), 559-563.

- Weaver, D. M., Tyler, J. W., Scott, M. A., Wallace, L. M., Marion, R. S., & Holle, J. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulin G in neonatal llamas and alpacas. *AJVR*, 61 (7), 738-741.
- Wernery, U. (2001). Camelid Immunoglobulins and Their Importance for the New-Born - A Review. *J. Vet. Med.* (48), 561-568.
- White, M. E., Pearson, E. G., & Davidson, J. N. (1983). An algorithm for minimizing financial losses due to immune deficiency in calves. *Cornell Vet.* (73), 76.
- Wilson, M. R. (1974). Immunologic Development of the Neonatal Pig. *J. Anim. Sci.*, 38 (5), 1018-1021.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1

Tabla aleatoria para asignación de tipo de calostro

### Randomized table

Número de corrida	Tipo de calostro
1	Alpaca
2	Alpaca
3	Alpaca
4	Vaca
5	Vaca
6	Alpaca
7	Vaca
8	Alpaca
9	Alpaca
10	Alpaca
11	Vaca
12	Alpaca
13	Vaca
14	Vaca
15	Alpaca
16	Alpaca
17	Vaca
18	Vaca
19	Vaca
20	Vaca

Fuente: Minitab Inc. Versión. 14.

## ANEXO 2

Registro de asignación de tipo de calostro							
Nro.	Código madre	Fec. Nac.	Código cría	Fec. Nac.	Hora	Tipo calostro	Observaciones
1	H0500	feb-02	H3104	10-mar	09:29	Alpaca	Ninguna
2	H0001	dic-99	H3106	12-mar	09:36	Alpaca	Ninguna
3	H0034	dic-04	H3108	12-mar	10:30	Alpaca	<b>Neumonía (02-05-09)</b>
4	H0904	ene-06	H3111	16-mar	08:00	Vaca	Ninguna
5	H0611	mar-98	H3123	21-mar	08:00	Vaca	Ninguna
6	H0171	ene-05	H3124	21-mar	10:15	Alpaca	Ninguna
7	S0009	ene-04	H3127	23-mar	08:30	Vaca	Ninguna
8	H0881	mar-96	H3129	26-mar	09:15	Alpaca	Ninguna
9	H0172	ene-04	H3136	26-mar	09:30	Alpaca	Ninguna
10	H0329	ene-98	H3138	26-mar	11:50	Alpaca	Ninguna
11	H0379	feb-02	H3109	12-mar	08:30	Vaca	Ninguna
12	H0147	dic-02	H3110	12-mar	12:00	Alpaca	<b>Enterotoxemia (20-04-09)</b>
13	H0491	mar-04	H3113	16-mar	10:14	Vaca	Ninguna
14	H0084	ene-01	H3126	23-mar	11:05	Vaca	Ninguna
15	H0522	mar-04	H3133	26-mar	09:57	Alpaca	<b>Coccidiosis (18-04-09)</b>
16	H0152	feb-01	H3134	26-mar	09:00	Alpaca	<b>Neumonía (21-04-09)</b>
17	H0348	feb-01	H3139	26-mar	08:00	Vaca	Ninguna
18	H0283	ene-04	H3140	26-mar	08:20	Vaca	Ninguna
19	H0037	dic-03	H3142	26-mar	09:00	Vaca	Ninguna
20	H0177	ene-04	H3144	26-mar	07:00	Vaca	<b>Enterotoxemia (10-04-09)</b>

\* Elaboración propia.

### ANEXO 3

<b>Registro de tabulación de datos de laboratorio (calostro de alpaca)</b>													
Nro.	Nro. Madre	Nro. Cría	Fec. Nac.	Hor. Nac.	Lectura sangre (48 h)	Lectura sangre (15 d)	Lectura sangre (30 d)	Lectura sangre (45 d)	Lectura sangre (60 d)	Lectura sangre (75 d)	Lectura sangre (90 d)	Lectura sangre (105 d)	Lectura sangre (120 d)
					Ig G Camélido	Ig G Camélido	Ig G Camélido	Ig G Camélido	Ig G Camélido	Ig G Camélido	Ig G Camélido	Ig G Camélido	
1	H0500	H3104	10-mar	09:29	2141,903	1026,672	1026,672	624,174	583,481	220,870	583,481	1055,594	1228,300
2	H0001	H3106	12-mar	09:36	3599,393	583,481	583,481	583,481	583,481	69,782	583,481	1055,594	1878,300
3	H0034	H3108	12-mar	10:30	2141,903	1842,546	1550,443	1550,443	1612,816	0,000	0,000	0,000	0,000
4	H0904	H3111	16-mar	10:15	1534,615	1842,546	1550,443	1026,672	220,870	583,481	583,481	809,130	940,800
5	H0611	H3123	21-mar	09:15	4451,330	1842,546	1175,342	1550,443	795,004	220,870	1026,672	1612,816	2240,800
6	H0171	H3124	21-mar	09:30	4449,595	1550,443	1075,423	1026,672	583,481	220,870	1026,672	809,130	940,800
7	S0009	H3127	23-mar	11:50	2830,162	1550,443	1550,443	1026,672	583,481	583,481	583,481	584,098	678,300
8	H0881	H3129	26-mar	12:00	4451,330	1723,288	1550,443	1550,443	392,103	795,004	1026,672	1055,594	940,800
9	H0172	H3136	26-mar	09:57	2839,726	1026,672	795,004	392,103	795,004	1026,672	1055,594	1540,800	1228,300
10	H0329	H3138	26-mar	09:00	3212,409	1842,546	1550,443	1026,672	1026,672	1026,672	1923,575	2240,800	2240,800

Obs. La concentración de IgG es mg/dL.

\* Elaboración propia.

## ANEXO 4

<b>Registro de tabulación de datos de laboratorio (calostro de vaca)</b>											
Nro.	Nro. Madre	Nro. Cría	Fec. Nac.	Hor. Nac.	Lectura sangre (48 h) Ig G Camélido	Lectura sangre (48 h) Ig G Vaca	Lectura sangre (15 d) Ig G Camélido	Lectura sangre (15 d) Ig G Vaca	Lectura sangre (30 d) Ig G Camélido	Lectura sangre (30 d) Ig G Vaca	Lectura sangre (45 d) Ig G Camélido
1	H0379	H3109	12-mar	08:00	795,004	73,817	583,481	73,817	795,004	0,000	392,103
2	H0147	H3110	12-mar	08:00	0,000	589,382	220,870	255,053	220,870	73,817	220,870
3	H0491	H3113	16-mar	08:30	583,481	457,612	392,103	255,053	392,103	73,817	69,782
4	H0084	H3126	23-mar	08:50	0,000	500,682	220,870	255,053	220,870	73,817	392,103
5	H0522	H3133	26-mar	10:14	220,870	926,695	220,870	457,612	198,328	374,030	0,000
6	H0152	H3134	26-mar	11:05	583,481	457,612	583,481	457,612	583,481	255,053	0,000
7	H0348	H3139	26-mar	08:00	220,870	926,695	69,782	255,053	220,870	143,753	392,103
8	H0283	H3140	26-mar	08:20	69,782	681,493	69,782	255,053	220,870	73,817	392,103
9	H0037	H3142	26-mar	09:00	1278,485	926,695	1026,672	255,053	1026,672	73,817	795,004
10	H0177	H3144	26-mar	07:00	220,870	926,695	220,870	255,053	0,000	0,000	0,000

Obs. La concentración de IgG es mg/dL.

Continúa en página siguiente...

\* Elaboración propia.

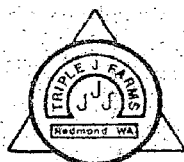
## ANEXO 5

Registro de pesos de crías de alpaca										
Nro.	Código cría	Peso nacimiento	Peso vivo (kg)							
			15 d	30 d	45 d	60 d	75 d	90 d	105 d	120 d
1	H3104	9	11	12,5	17,5	20,5	21,5	25	26	28
2	H3106	10	12	12,5	13,5	15	17	20	21,5	24
3	H3108	8	10	11,5	10,5	<b>Murió</b>				
4	H3111	9	11	12,5	14	15,5	17,5	20	22	23
5	H3123	8	10	11,25	13	15	16,5	18	19,5	20,5
6	H3124	6	8,5	10,75	12	15	17	18	21	21,5
7	H3127	7	9	11,5	13	15	16	17,5	18,5	18,5
8	H3129	7,5	8,5	9,25	10	12	13	14	16	17
9	H3136	8,5	12	11,5	12	13,5	15	16	17,5	19
10	H3138	8,5	10	11	14	15	16	18	20	22
11	H3109	7,5	11,5	12	13	15	16,5	18	19	22
12	H3110	9,5	10,5	8	<b>Murió</b>					
13	H3113	8	9	11	13	15	16	17	18,5	19
14	H3126	6,5	7	7,5	8	9	11	12	13	14
15	H3133	7	9,5	<b>Murió</b>						
16	H3134	6,5	7,5	<b>Murió</b>						
17	H3139	9	10	10	13	9	12	13,5	14	15
18	H3140	7	10	11	12	13	14	16	18,5	19
19	H3142	8	9	11	13	14,5	16	16,5	17	18,5
20	H3144	8,5	10	<b>Murió</b>						

\* Elaboración propia.

## ANEXO 6

Tabla de valores de referencia para la determinación cuantitativa de diámetros de placas de inmunodifusión radial de IgG de bovino



### Table of Reference Values for the Quantitative Determination of End Point Plates

Plate Lot: #7284A58

Globalbeta1: 5.74min

Standard Lot #7286D

Y Intercept: b = 14.569

Slope of the Line: m = 0.023

Bovine IgG		ENDPOINT CONCENTRATIONS		IN		MG DL	
dia <sub>i</sub>	conc <sub>i</sub>	dia <sub>k</sub>	conc <sub>k</sub>	dia <sub>j</sub>	conc <sub>j</sub>	dia <sub>n</sub>	conc <sub>n</sub>
4,3	169,506	5,6	725,829	6,9	1428,256	8,2	2276,789
4,4	207,113	5,7	774,674	7	1488,341	8,3	2348,112
4,5	245,584	5,8	823,385	7,1	1549,29	8,4	2420,3
4,6	284,92	5,9	874,959	7,2	1611,104	8,5	2493,353
4,7	325,121	6	926,399	7,3	1673,782	8,6	2567,27
4,8	366,186	6,1	978,703	7,4	1737,323	8,7	2642,051
4,9	408,115	6,2	1031,871	7,5	1801,752	8,8	2717,697
5	450,909	6,3	1085,904	7,6	1867,003	8,9	2794,208
5,1	494,568	6,4	1140,801	7,7	1933,14	9	2871,583
5,2	539,091	6,5	1196,563	7,8	2000,141	9,1	2949,823
5,3	584,479	6,6	1253,19	7,9	2068,006	9,2	3028,927
5,4	630,731	6,7	1310,681	8	2136,736	9,3	3108,896
5,5	677,847	6,8	1369,036	8,1	2206,33	9,4	3189,729

This table of batch specific reference values is a computer print out upon data from several parallel testings of fresh plates. It may only be used for the determination of above mentioned protein using plates with Lot number specified above. Samples with diameters "<REF.3" should be tested with the LL (Low Level) Plates especially developed for this concentration range. Precipitation diameters of ">RID.1" require a dilution of the sample using NaCl solution. The accuracy of the values is dependent upon laboratory-specific conditions. Therefore it should be regularly controlled by plotting reference curves using the standard reference standards. The values depend partially on the quantity of the sample (5 ul); the temperature (21-25 degrees C); the diffusion time (24 ours) and the age of the plates. During each series of determinations also test at least one Control Serum. The control result must fall within the given assay range of this serum or results for unknowns cannot be considered valid. This table should be used only after its validity has been verified by the user under his test conditions.

Fuente: Laboratorio Triple JJJ Farm

## ANEXO 7

Tabla de valores de referencia para la determinación cuantitativa de diámetros de placas de inmunodifusión radial de IgG de camélido



### Table of Reference Values for the Quantitative Determination of End Point Plates

Plate Lot #6284B38

5 microliters

Standard Lot #6286G

Y Intercept  $b = 11.095$

Slope of the Line  $m = 0.025$

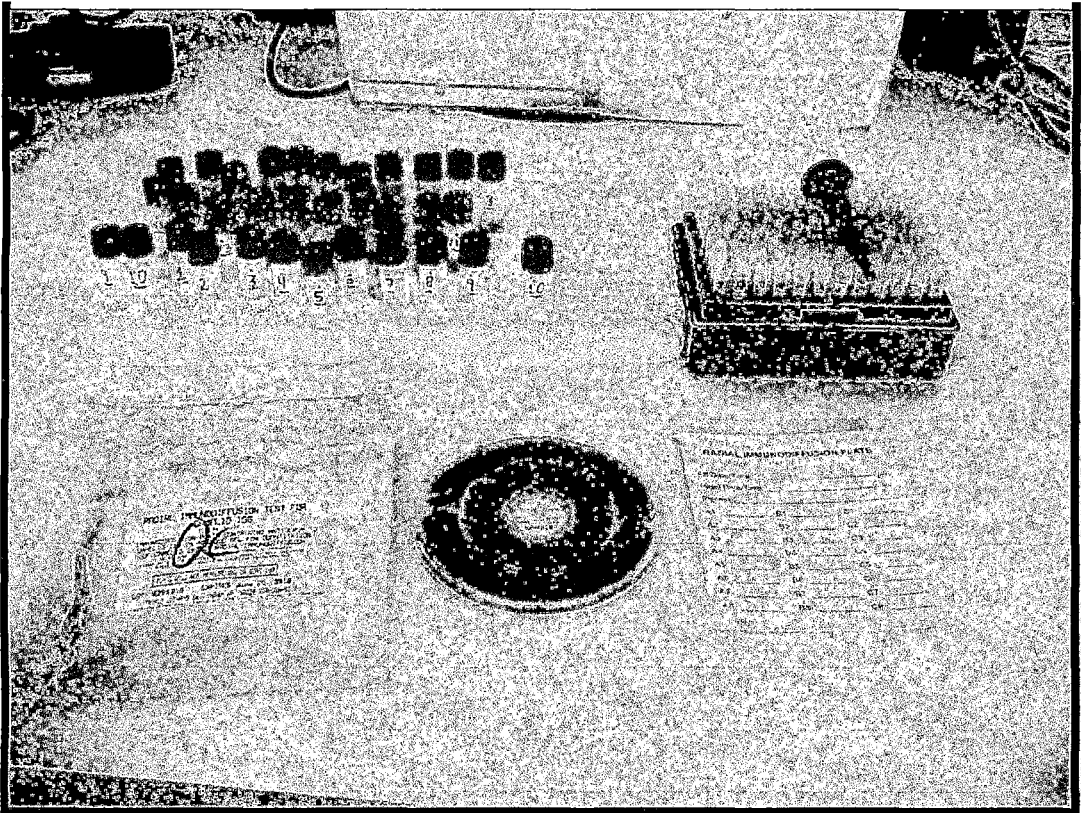
Camelid		IgG		ENDPOINT		CONCENTRATIONS IN		MG
								DL
dia <sub>i</sub>	conc <sub>i</sub>	dia <sub>i</sub>	conc <sub>i</sub>	dia <sub>i</sub>	conc <sub>i</sub>	dia <sub>i</sub>	conc <sub>i</sub>	
4	198,578	5,3	688,013	6,6	1314,28	7,9	2077,378	
4,1	231,569	5,4	731,35	6,7	1368,122	8	2141,746	
4,2	264,969	5,5	775,436	6,8	1422,774	8,1	2206,923	
4,3	299,38	5,6	820,392	6,9	1478,235	8,2	2272,91	
4,4	334,6	5,7	866,137	7	1534,506	8,3	2339,766	
4,5	370,629	5,8	912,692	7,1	1591,586	8,4	2407,312	
4,6	407,406	5,9	960,357	7,2	1649,477	8,5	2475,728	
4,7	445,117	6	1008,231	7,3	1708,176	8,6	2544,953	
4,8	483,576	6,1	1057,215	7,4	1767,686	8,7	2614,988	
4,9	523,844	6,2	1107,069	7,5	1828,005	8,8	2685,833	
5	562,922	6,3	1157,612	7,6	1889,134	8,9	2757,487	
5,1	603,809	6,4	1209,025	7,7	1951,072	9	2829,951	
5,2	645,506	6,5	1261,248	7,8	2013,821	9,1	2903,223	

This table of batch specific reference values is a computer print out upon data from several parallel testings of fresh plates. It may only be used for the determination of above mentioned protein using plates with Lot number specified above. Samples with diameters "<REF 3" should be tested with the LL (Low Level) Plates especially developed for this concentration range. Precipitation diameters of ">RED 1" require a dilution of the sample using NaCl solution. The accuracy of the values is dependent upon laboratory-specific conditions. Therefore it should be regularly controlled by plotting reference curves using the suitable reference standards. The values depend partially on the quantity of the sample (5 ul), the temperature (21-25 degrees C), the diffusion time (24 ours) and the age of the plates. During each series of determinations also test at least one Control Serum. The control result must fall within the given assay range of this serum or results for unknowns cannot be considered valid. This table should be used only after its validity has been verified by the user under his test conditions.

Fuente: Laboratorio Triple JJJ Farm

## ANEXO 8

### Ilustración de material de laboratorio



Material utilizado en laboratorio para determinar la concentración de IgG en suero:

- (1) Viales con suero de crías de alpaca,
- (2) Puntas para micropipeta,
- (3) Micropipeta de 5 $\mu$ L,
- (4) Disco de inmunodifusión radial simple con anticuerpos anti IgG.
- (5) Ficha de anotación de radios de reacción.

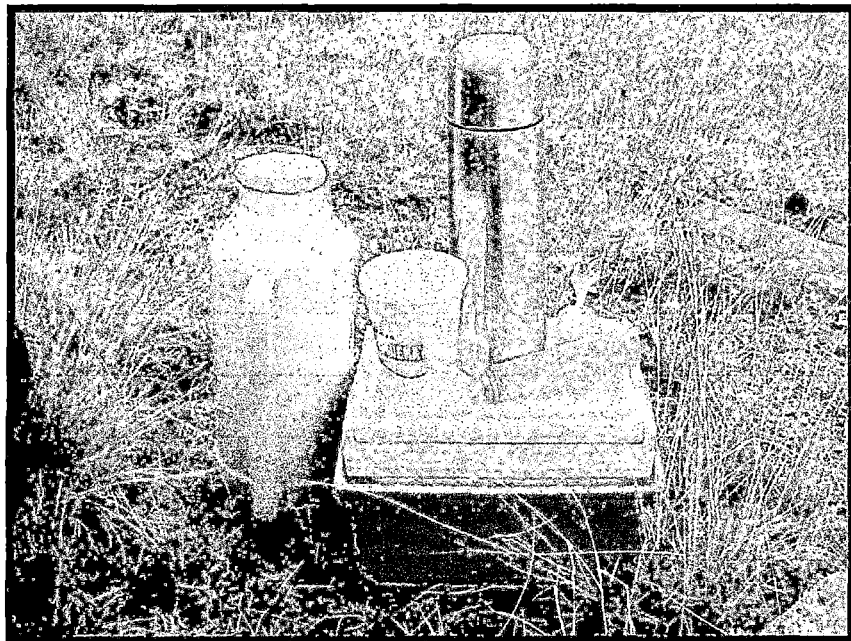
## ANEXO 9

Ilustración de trabajo de laboratorio



## ANEXO 10

Ilustración de material de campo



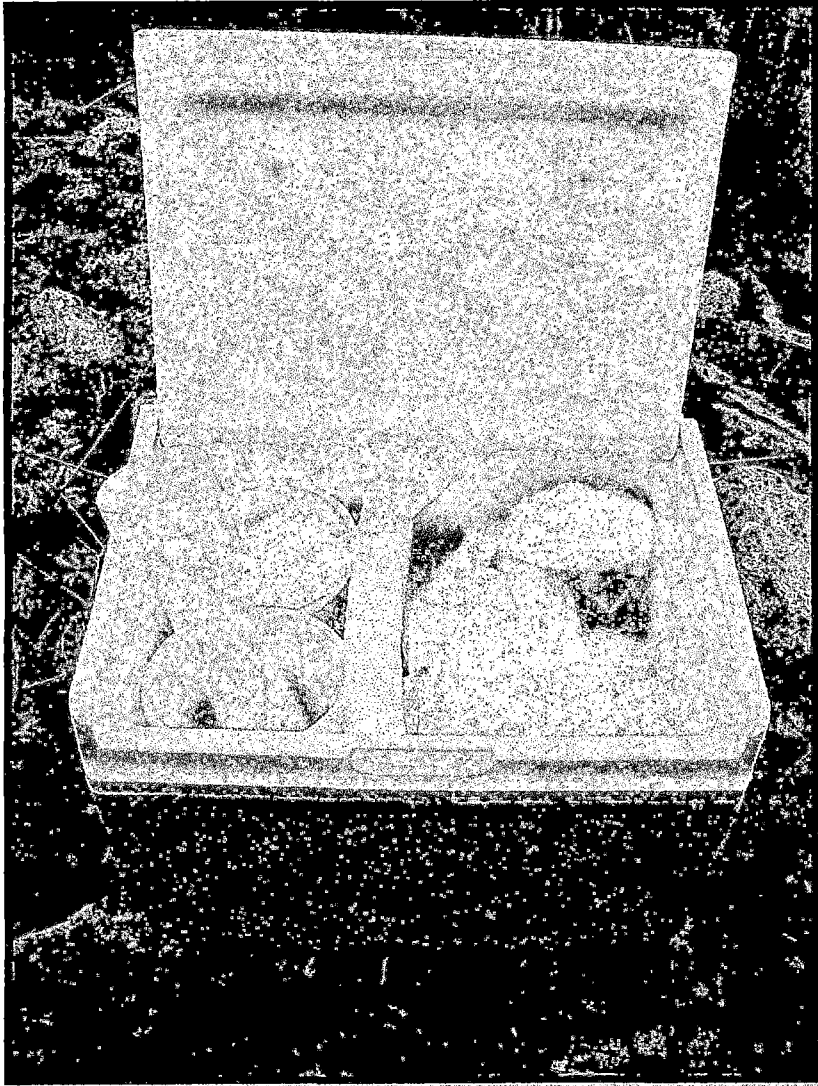
## ANEXO 11

Ilustración de punta de parición (Yanamayo)



## ANEXO 12

Ilustración de calostro de vaca



## ANEXO 13

Ilustración de administración de calostro de vaca



## ANEXO 14

Ilustración de venipunción yugular

