

Antigenicidad de Piensos y Materias Primas Proteicas en Conejos

Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. LOS ANTÍGENOS DIETARIOS EN EL DESTETE	3
1.2. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA INMUNITARIO INTESTINAL DEL CONEJO	5
1.3. VÍAS DE ENTRADA DE LOS ANTÍGENOS DIETARIOS POR LA MUCOSA INTESTINAL	7
1.4. RESPUESTA INMUNITARIA FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS: ACTIVACIÓN Y TOLERANCIA.....	9
1.5. LAS IgG COMO MARCADORES DE LA REACCIÓN INMUNITARIA FRENTE A LA DIETA.....	12
1.6. LA HOMEOSTASIS INMUNOLÓGICA INTESTINAL.....	14
1.7. PROBLEMÁTICA Y AVANCES EN LA ALIMENTACIÓN DE GAZAPOS EN TORNO AL DESTETE	15
2. OBJETIVOS	19
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
3.1. EXPERIMENTO I.....	26
3.1.1. PIENSOS.....	26
3.1.2. ANIMALES, MANEJO Y TOMA DE MUESTRAS	27
3.1.3. EXTRACCIÓN DE ANTÍGENOS DIETARIOS.....	28
3.1.4. PROTOCOLO DE DOT IMMUNOBLOTTING PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN SUERO SANGUÍNEO.....	28
3.2. EXPERIMENTO II.....	30
3.2.1. PIENSOS, ANIMALES, MANEJO Y TOMA DE MUESTRAS	30
3.2.2. EXTRACCIÓN DE ANTÍGENOS DIETARIOS.....	30
3.2.3. MEDICIÓN DE LA PROTEÍNA DE LOS HIDROLIZADOS MEDIANTE EL MÉTODO BRADFORD	30
3.2.4. PROTOCOLO DE ELISA PARA VALORACIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE ANTÍGENOS DIETARIOS EN SUERO SANGUÍNEO.....	31
3.2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
3.3. EXPERIMENTO III.....	33
3.3.1. PIENSOS.....	33

3.3.2.	ANIMALES, MANEJO Y TOMA DE MUESTRAS	34
3.3.3.	EXTRACCIÓN DE ANTÍGENOS DIETARIOS, MEDICIÓN DE LA PROTEÍNA DE LOS HIDROLIZADOS MEDIANTE EL MÉTODO BRADFORD Y PROTOCOLO DE ELISA PARA VALORACIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN SUERO SANGUÍNEO	35
3.3.4.	ANÁLISIS HISTOMORFOLÓGICO DE LA MUCOSA YEYUNAL	36
3.3.4.1.	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	36
3.3.4.2.	MEDICIÓN DE LA ALTURA DE LAS VELLOSIDADES Y LA PROFUNDIDAD DE LAS CRIPTAS DE LIEBERKÜHN.....	37
3.3.5.	ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA MUCOSA YEYUNAL	38
3.3.5.1.	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	38
3.3.5.2.	RECUENTOS CELULARES	40
3.3.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	41
4.	RESULTADOS.....	43
4.1.	EXPERIMENTO I.....	45
4.2.	EXPERIMENTO II.....	48
4.2.1.	PUESTA A PUNTO DEL ELISA INDIRECTO PARA LA VALORACIÓN DE ANTICUERPOS IgG FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN SUERO SANGUÍNEO.....	48
4.2.1.1.	AJUSTE DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA DE LOS HIDROLIZADOS	48
4.2.1.2.	AJUSTE DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS SUEROS.....	48
4.2.1.3.	AJUSTE DE LA CONCENTRACIÓN DEL ANTICUERPO SECUNDARIO ..	50
4.2.1.4.	AJUSTE DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN CON TMB	51
4.2.1.5.	ABSORBANCIA A 620 nm VERSUS ABSORBANCIA A 450 nm.....	52
4.2.2.	ANTICUERPOS FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN SUERO SANGUÍNEO DE GAZAPOS ALIMENTADOS CON LOS PIENSOS EXPERIMENTALES Y SUS MADRES	53
4.2.2.1.	SUEROS DE LAS CONEJAS	53
4.2.2.2.	SUEROS DE LOS GAZAPOS	54
4.3.	EXPERIMENTO III.....	55
4.3.1.	CONCENTRACIÓN PROTEICA DE LOS HIDROLIZADOS PÉPSICOS DE LAS FUENTES DE PROTEÍNA DIETARIA.....	55
4.3.2.	AJUSTE DEL PROTOCOLO ELISA.....	56
4.3.3.	REPETIBILIDAD ENTRE PLACAS ELISA	57

4.3.4.	ANTICUERPOS FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN EL SUERO SANGUÍNEO DE GAZAPOS ALIMENTADOS CON LOS PIENSOS EXPERIMENTALES Y SUS MADRES	57
4.3.4.1.	SUEROS DE LAS CONEJAS	57
4.3.4.2.	SUEROS DE LOS GAZAPOS	58
4.3.5.	HISTOMORFOLOGÍA E INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA MUCOSA YEYUNAL	63
4.3.6.	RESULTADOS PRODUCTIVOS.....	65
5.	DISCUSIÓN.....	67
5.1.	ASPECTOS METODOLÓGICOS	69
5.2.	DETERMINACIÓN DE IgG FRENTE A LOS HIDROLIZADOS DE PIENSOS Y MATERIAS PRIMAS EN CONEJOS	71
5.2.1.	PRESENCIA DE IgG FRENTE ANTÍGENOS DIETARIOS EN EL SUERO DE CONEJAS ADULTAS.....	71
5.2.2.	PRESENCIA DE IgG FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN EL SUERO DEL GAZAPOS LACTANTES: TRANSFERENCIA MATERNA	73
5.2.3.	EVOLUCIÓN DE LAS IgG FRENTE A ANTÍGENOS DIETARIOS EN EL SUERO DE LOS GAZAPOS EN CEBO: ANTIGENICIDAD DE LAS DISTINTAS MATERIAS PRIMAS PROTEICAS.....	75
5.3.	EFEECTO DE LOS PIENSOS SOBRE LA MUCOSA INTESTINAL.....	76
5.4.	INFLUENCIA DE LOS PIENSOS SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS.....	80
6.	CONCLUSIONES.....	81
7.	IMPLICACIONES.....	85
8.	BIBLIOGRAFÍA	89