



**Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad en la Hacienda "El Prado"**

Ipiales Quinatoa, Jeniffer Alexandra

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando Mgtr.

05 de septiembre del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

**Certificación:**

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad en la Hacienda "El Prado"**, fue realizado por la señorita: **Iplales Quinatoa, Jeniffer Alexandra**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 05 de septiembre del 2023

EDWIN ORLANDO PINO PANCHI  
Firmado digitalmente por EDWIN ORLANDO PINO PANCHI  
Fecha: 2023.09.02 20:22:47 -05'00'

**Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando**

C. C. 0502295983


# Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos

## 1 Ipiales Quinatoa Jeniffer Alexandra...


### Scan details

Scan time: September 5th, 2023 at 14:15 UTC      Total Pages: 57      Total Words: 14225

### Plagiarism Detection



### AI Content Detection



### 🔍 Plagiarism Results: (154)

- IASA I-TT-0043.pdf** 0.8%  
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/35916/1/Ias...>  
Juan Sarmiento  
1 Relaciones entre variables agro edafológicas de cuatro mezclas forrajeras con índices de vegetación en tres etapas de corte Sarmiento...

---

- Formatos Documentos Trabajo de Integración Curricular...** 0.8%  
<https://biblioteca.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2022/01/...>  
Yamberla  
[Image: ] DEPARTAMENTO DE... CARRERA DE... CERTIFICACIÓN Certifica que el trabajo de integración curricular, "Título" fue realizado p...

---

- Formatos Trabajos de Titulación 2022-1.docx** 0.8%  
<https://biblioteca.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2022/04/...>  
Calderon Garcia Angel David  
[Image: ] Nota: Colocar únicamente la página que indica el porcentaje de similitud de la herramienta contratada por la Universidad. Fir...

EDWIN ORLANDO PINO PANCHI  
Firmado digitalmente por EDWIN ORLANDO PINO PANCHI  
Fecha: 2023.09.05 12:18:21 -05'00'

**Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando**

C. C. 0502295983



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

**Responsabilidad de Autoría:**

Yo, **Ipiales Quinatoa, Jeniffer Alexandra**, con cédula de ciudadanía No. 1725323206, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad en la Hacienda "El Prado"**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 05 de septiembre del 2023

  
**Ipiales Quinatoa, Jeniffer Alexandra**  
C.C.: 1725323206



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera Agropecuaria**

**Autorización de Publicación:**

Yo, **Ipiales Quinatoa, Jeniffer Alexandra**, con cédula de ciudadanía No. 1725323206 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad en la Hacienda "El Prado" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.**

Sangolquí, 05 de septiembre del 2023

  
**Ipiales Quinatoa, Jeniffer Alexandra**

C.C.:1725323206

## **Dedicatoria**

El presente trabajo le dedico en primer lugar a Dios, por ser mi guía, fortaleza y fuente espiritual en todo el transcurso de mi formación académica y profesional.

A mis padres, María y José, por ser los pilares fundamentales para que pueda llegar a ser una profesional, por cada uno de sus consejos y por todo el esfuerzo que han realizado para poder brindarme lo mejor.

A mi hija, Emma Noemí, por ser mi mayor fuente de inspiración para poder culminar mi Carrera, por ser mi compañera y fiel amiga, por ser mi cómplice en cada una de mis noches de desvelo, por cada palabra que me brindaba para continuar hasta donde he llegado, por ser esa personita que me brindaba un fuerte abrazo en mis momentos de tristezas.

A mis hermanos, Ramiro, Gladys, Óscar y Cynthia, que con cada consejo supieron animarme en mis momentos de angustia, por ser cómplices y amigos.

A mis sobrinos, Jadde, Estefy, Noé, Ian, Renatita, Emilia y Preston, que con sus locuras supieron sacarme una sonrisa en mis momentos de frustración.

A mi prima Jenny, que me ha brindado sus sabios consejos para continuar en mi carrera, por darme ánimos y por cada uno de los momentos que hemos compartido juntas.

Jeniffer Ipiales

## **Agradecimientos**

A Dios por cada día de mi vida.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas, principalmente a la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, por abrirme sus puertas y brindarme cada uno de sus conocimientos a lo largo de mi formación profesional.

A mis padres por sus consejos, amor, comprensión, noches de desvelo y paciencia dedica durante toda mi vida; a mis hermanos, y sobre todo a mi hija por ser mi fuente de inspiración.

A mis amigas incondicionales Pamela y Ángeles, que han sido mis mejores compañeras en la Universidad desde que empecé esta hermosa Carrera, que con cada uno de sus consejos supieron demostrarme su amistad incondicional; por su compañía y apoyo desinteresado; por estar en los buenos, pero más en los malos momentos en el transcurso de esta travesía en la formación de mi profesión, gracias por todos esos buenos momentos que permanecerán para siempre en mi corazón.

A mi tutor, Dr. Edwin Pino, por dame la apertura para la realización de este trabajo, por su consejos y palabras que conllevaron a cumplir mi investigación con éxito.

Al Dr. Jorge Ron e Ing. Michelle Yugcha, por brindarme todo el apoyo para que esta investigación haya sido posible, por brindarme su experiencia y enseñanzas para poder culminar con éxito este trabajo, por su paciencia y profesionalismo.

Al Ing. Diego Vela e Ing. Jeniffer Cuenca, por darme la apertura de usar las instalaciones del Taller de Ganadería, por su tiempo y paciencia.

Al señor Marco Pinto, encargado del Taller de Ganadería, que fue un gran apoyo en la fase de campo para poder tomar con éxito cada una de las muestras.

## Índice de contenidos

Carátula .....	1
Certificación .....	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de Autoría .....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos .....	7
Índice de contenidos .....	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	13
Resumen .....	15
Abstract.....	16
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>17</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>17</b>
Antecedentes .....	17
Justificación.....	18
Objetivos .....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos Específicos.....	19
Hipótesis .....	19
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>20</b>
<b>REVISIÓN DE LA LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
Nacimiento.....	20
Carga bacteriana.....	21
Coliformes.....	22

Coliformes totales.....	22
Coliformes fecales.....	22
Coprocultivo .....	23
Técnicas de coprocultivo e identificación de carga bacteriana .....	23
Agar MacConkey.....	23
Agar Endo .....	23
EMB (Eosina Azul de Metileno) .....	24
LB (Luria-Bertani) AGAR .....	24
Placas de Petrifilm <sup>TM</sup> 6466 para Coliformes Totales .....	24
Número Más Probable (NMP) .....	27
Calostro.....	27
Inmunoglobulinas .....	28
Tipos de inmunoglobulinas .....	29
Inmunoglobulina G .....	29
Inmunoglobulina D .....	29
Inmunoglobulina A.....	30
Inmunoglobulina M .....	30
Técnicas de identificación de inmunoglobulinas.....	31
Inmunodifusión Radial (IDR).....	31
Reacciones de aglutinación.....	31
ELISA (Enzime Linked Immunoasorbent Assay) .....	31
Purificación y cuantificación con Sulfato de Amonio .....	32
Inmunidad.....	32
Tipos de inmunidad .....	33
Inmunidad innata .....	33
Inmunidad adaptativa.....	33

Salud del recién nacido .....	33
Índice de hematocrito.....	34
Proteínas totales .....	35
Técnicas de identificación de proteínas .....	36
Refractometría.....	36
Transferencia Pasiva .....	37
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>38</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>38</b>
Ubicación del lugar de investigación.....	38
Ubicación geográfica .....	38
Ubicación Ecológica.....	39
Métodos .....	39
Fase de campo .....	39
Toma de muestras .....	39
Transporte de muestras .....	40
Fase de laboratorio .....	40
Coprocultivo .....	40
Inmunología .....	41
Hematocrito .....	42
Proteínas Totales.....	43
Valoración de Inmunoglobulinas .....	43
Precipitación de proteínas .....	43
Ensayo de proteínas por medio de ácido bicinconínico (BCA).....	46
Diseño experimental .....	47
Factores de estudio .....	47
Relaciones .....	47

Análisis estadístico .....	47
Características de las unidades experimentales.....	47
Análisis funcional.....	48
Variables evaluadas .....	48
Carga bacteriana .....	48
Porcentaje de hematocrito .....	48
Proteínas Totales.....	49
Cantidad de Inmunoglobulinas (Ig) .....	49
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>50</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>50</b>
Porcentaje de hematocrito.....	51
Proteínas totales .....	52
Carga bacteriana.....	55
Inmunoglobulinas .....	58
Discusión.....	62
<b>CAPITULO V .....</b>	<b>64</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>64</b>
Conclusiones.....	64
Recomendaciones.....	64
<b>Bibliografía .....</b>	<b>66</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Composición típica del calostro y leche de transición</i> .....	28
<b>Tabla 2</b> <i>Valores de algunos parámetros hematológicos en el plasma sanguíneo de terneros</i>	34
<b>Tabla 3</b> <i>Número de muestras nacidas según el sexo</i> .....	50
<b>Tabla 4</b> <i>Datos obtenidos de cada variable</i> .....	50
<b>Tabla 5</b> <i>Promedio y error experimental de índice de hematocrito en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad</i> .....	51
<b>Tabla 6</b> <i>Promedio y error experimental de 10 terneros durante 3 edades (0, 24, 72 horas después del nacimiento)</i> .....	52
<b>Tabla 7</b> <i>Promedio y error experimental del parámetro proteínas totales en 10 individuos neonatos</i> .....	53
<b>Tabla 8</b> <i>Promedio y error experimental en relación al tiempo de toma de la muestra de suero sanguíneo</i> .....	54
<b>Tabla 9</b> <i>Correlación entre la variable carga bacteriana y edad de la toma de la muestra</i> .....	55
<b>Tabla 10</b> <i>Promedio y error experimental de 10 individuos en relación a la cantidad de colonias bacterianas encontradas en 30 muestras</i> .....	55
<b>Tabla 11</b> <i>Promedio y error experimental de 30 muestras tomadas de 10 individuos, en 3 intervalos de edad</i> .....	56
<b>Tabla 12</b> <i>Promedio de crecimiento bacteriano (UFC/g) por sexo y edad</i> .....	57
<b>Tabla 13</b> <i>Promedio y error experimental de 10 unidades experimentales con 3 tiempos</i> .....	58
<b>Tabla 14</b> <i>Promedio y error experimental en 3 intervalos de edad, de 10 individuos con 3 días de edad</i> .....	59
<b>Tabla 15</b> <i>Contenido de inmunoglobulinas según la edad y sexo</i> .....	60
<b>Tabla 16</b> <i>Promedios del parámetro inmunoglobulinas, distribuido por sexos</i> .....	61

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> <i>Nacimiento del ternero en el IASA</i> .....	20
<b>Figura 2</b> <i>Proceso hormonal del nacimiento del ternero</i> .....	21
<b>Figura 3</b> <i>Recuento de Coliformes</i> .....	26
<b>Figura 4</b> <i>Crecimiento de burbujas en la placa de Petrifilm™</i> .....	26
<b>Figura 5</b> <i>Vista aérea del lugar de investigación</i> .....	38
<b>Figura 6</b> <i>Toma de muestra de sangre del bovino recién nacido</i> .....	39
<b>Figura 7</b> <i>Toma de muestras de heces</i> .....	40
<b>Figura 8</b> <i>Siembra de la muestra</i> .....	41
<b>Figura 9</b> <i>Muestras de suero bovino</i> .....	42
<b>Figura 10</b> <i>Materiales usados en el procedimiento de hematocrito</i> .....	43
<b>Figura 11</b> <i>Refractómetro usado en el estudio</i> .....	43
<b>Figura 12</b> <i>Medición del pH de sulfato de amonio</i> .....	44
<b>Figura 13</b> <i>Solución de suero con sulfato de amonio</i> .....	45
<b>Figura 14</b> <i>Sobrenadante de la solución sulfato de amonio</i> .....	46
<b>Figura 15</b> <i>Crecimiento de colonias bacterianas</i> .....	48
<b>Figura 16</b> <i>Lectura de hematocrito</i> .....	49
<b>Figura 17</b> <i>Comportamiento de medias del índice de hematocrito</i> .....	52
<b>Figura 18</b> <i>Gráfica de distribución de la concentración de proteínas totales (g/dL) en las muestras de suero de los animales en estudio</i> .....	53
<b>Figura 19</b> <i>Comportamiento de la distribución de proteínas según la edad de toma de la muestra</i> .....	54
<b>Figura 21</b> <i>Distribución de promedios según la edad de la toma de muestra y sexo del individuo</i> .....	57
<b>Figura 22</b> <i>Distribución de medias en gráfico de barras en relación a variables de individuos respecto a inmunoglobulinas</i> .....	59

**Figura 23** *Distribución de la estimación de inmunoglobulinas según la edad y sexo* ..... 60

**Figura 24** *Comportamiento del aumento de la concentración de inmunoglobulinas en 3 rangos de 10 individuos* ..... 61

## Resumen

El contenido de inmunoglobulinas séricas y carga bacteriana juegan un rol importante en la salud de ternero recién nacido, pues un contenido bajo de inmunoglobulinas puede ser un factor causante de una enfermedad en el neonato, pues lo expone a una carga bacteriana que crece exponencialmente conforme pasa el tiempo de exposición del animal a este estado de salud. El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Hacienda “El Prado” – IASA I, ubicada en el cantón Rumiñahui, parroquia Selva Alegre, mediante un experimento DCA con pruebas de Tukey con una probabilidad del 95% en 10 unidades experimentales con 3 repeticiones, tomando muestras a terneros en 0, 24 y 72 horas de nacimiento para evaluar parámetros en suero sanguíneo (índice de hematocrito, proteínas totales, inmunoglobulinas) y heces (carga bacteriana) mediante un análisis estadístico descriptivo.

Los resultados de la investigación demostraron que el contenido de inmunoglobulinas (g/L) tuvo un aumento del 32,5% entre 0 y 24 horas; y 44, 1% entre 24 y 72 horas, después del nacimiento, con una correlación con el contenido de proteínas totales con un aumento del 23,78 % entre 0 y 24 horas; y 5,6 % entre 24 y 72 horas. Con referencia al porcentaje de hematocrito las medias evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos (horas), en comparación con la carga bacteriana que si presentó diferencias significativas en las medias estadísticas con  $p > 0,05$ . Ningún parámetro evaluado estuvo fuera de los rangos normales para la edad de las muestras evaluadas.

**Palabras clave:** TERNEROS, INMUNOGLOBULINAS, CARGA BACTERIANA.

## **Abstract**

The content of serum immunoglobulins and bacterial load play an important role in the health of newborn calf, as a low content of immunoglobulins can be a factor causing disease in the newborn, exposing it to a bacterial load that grows exponentially as the animal's exposure to this state of health passes. The present study was carried out in the facilities of the Hacienda "El Prado" - IASA I, located in the canton Rumiñahui, parish Selva Alegre, by means of a DCA experiment with tests of Tukey with a probability of 95 % in 10 experimental units with 3 repetitions, taking samples to have them in 0, 24 and 72 hours of birth to evaluate parameters in blood serum (hematocrit index, total proteins, immunoglobulins) and feces (bacterial load) by means of a descriptive statistical analysis.

The results of the research showed that the immunoglobulin content (g/L) had an increase of 32.5 % between 0 and 24 hours; and 44.1 % between 24 and 72 hours, after birth, with a correlation with the total protein content with an increase of 23,78 % between 0 and 24 hours; and 5.6 % between 24 and 72 hours. With reference to the percentage of hematocrit, the means showed significant differences between treatments (hours), compared with the bacterial load, which presented significant differences in the statistical means with  $p > 0,05$ . No parameters evaluated were outside the normal ranges for the age of the evaluated samples.

**Keywords:** CALVES, IMMUNOGLOBULINS, BACTERIAL LOAD.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### Antecedentes

La crianza de ganado inicio en la Edad Media en pequeñas extensiones de tierra, esta práctica se extendió hacia España y Portugal en el año 10000 ac, donde la crianza se dio en extensiones de tierra más grande, llegando a expandirse hacia el Nuevo Mundo de las Américas con la llegada de los primeros exploradores a estas tierras, los cuales trajeron la experiencia de crianza y manejo de bovinos (Mobley, 2022).

En el nacimiento los terneros, son animales carentes de inmunidad innata en el intestino puesto que tiene un rumen no funcional, por lo que se ven enfrentados a 2 desafíos importantes como es la adquisición de la inmunidad y madurar sus compartimientos estomacales. Básicamente, el ternero es dependiente de su madre por 3 días aproximadamente por la inmunidad que esta le confiere por medio del calostro, hasta que pueda ser capaz de sintetizar sus propios anticuerpos, puesto que la leche le proporciona la mayor parte de los nutrientes que necesita hasta que este inicie con una dieta sólida que complemente sus necesidades nutricionales, para realizar un destete adecuado (Kertz *et al.*, 2017).

La mortandad bovina perinatal es un serio problema de las especies que presentan una placenta compleja de tipo sindesmocorial por lo que las inmunoglobulinas no atraviesan las membranas cotiledonarias y no son capaces de llegar al feto, causando pérdidas significativas principalmente en la industria láctea en todo el mundo. Por lo antes indicado es importante un correcto manejo previo al parto, con la finalidad de mejorar la viabilidad y salud del bovino, además es importante considerar que la madre gestante mantenga un consumo de nutrientes adecuado y calendario de vacunación al día (Lorenz *et al.*, 2011).

## Justificación

El buen manejo del calostro es un factor crucial en la salud del recién nacido, por lo que es importante que se realice un correcto encalostamiento para prevenir la morbilidad y mortalidad de los neonatos. Se conoce que las inmunoglobulinas son un componente importante del calostro para un adecuado desarrollo del animal, teniendo funciones inmunitarias, por lo que es fundamental proveer al animal de un calostro de calidad que tenga un contenido alto de inmunoglobulinas (Lorenz, 2021).

La salud del becerro es imprescindible durante el crecimiento y rendimiento de un hato ganadero, ya sea como objetivo final de carne o leche, por lo que es importante considerar que las enfermedades causan un impacto económico alto, si no se le da el cuidado adecuado al animal, por ende las operaciones ganaderas y viabilidad se verían afectadas directamente para lo cual es necesario conocer la carga bacteriana que posee el animal o si se encuentra expuesto a diversas afecciones que puedan afectar su viabilidad (Bohlen y Rollin, 2018).

Existen componentes como los leucocitos, hormonas, oligosacáridos y microARN que intervienen directamente en la maduración y desarrollo del intestino, permitiendo de esta manera que el animal sea capaz de digerir y absorber nutrientes brindados por el calostro, por lo que es importante un correcto desarrollo de la microbiota del intestino para evitar futuras infecciones intestinales que generen un incremento de la carga bacteriana etiológica (Lorenz, 2021).

La falla de transferencia pasiva (FPT) de las inmunoglobulinas por medio del calostro, es considerado un factor causal de la susceptibilidad de los terneros ante la presencia de patógenos, mientras que otras enfermedades como la diarrea y enfermedad respiratoria bovina (BRD) se las relaciona con un manejo inadecuado de calostro antes de ser proporcionado al ternero (Kertz *et al.*, 2017).

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

Estimar coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad en la Hacienda "El Prado".

### **Objetivos Específicos**

Cuantificar coliformes presentes en heces de bovinos recién nacidos hasta los 20 días de edad en placas Petrifilm.

Medir inmunoglobulinas presentes en suero bovino de recién nacidos hasta los 20 días de edad con sulfato de amonio.

### **Hipótesis**

**H<sub>0</sub>:** El contenido de carga bacteriana e inmunoglobulinas no difiere en terneros machos y hembras recién nacidas hasta los 20 días de edad.

**H<sub>1</sub>:** El contenido de carga bacteriana e inmunoglobulinas difiere en terneros machos y hembras recién nacidas hasta los 20 días de edad.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LA LITERATURA

#### **Nacimiento**

Durante el último mes de la etapa gestacional de los bovinos la madre evidencia un balance energético negativo generado por una alta demanda de nutrientes por parte del ternero sumado a esto el traslado de nutrientes hacia la glándula mamaria para la síntesis del calostro que es consumido por el ternero (Ybalmea, 2015).

Los síntomas evidentes que el parto está próximo son principalmente el flanco derecho del vientre de la vaca aumenta de tamaño, la ubre se observa llena con los pezones rígidos de un color rojizo, la vulva se observa inflamada y enrojecida con presencia de líquido mucoso de color opaco, viscoso y sanguinolento (Guerra, 2023).

#### **Figura 1**

*Nacimiento del ternero en el IASA*



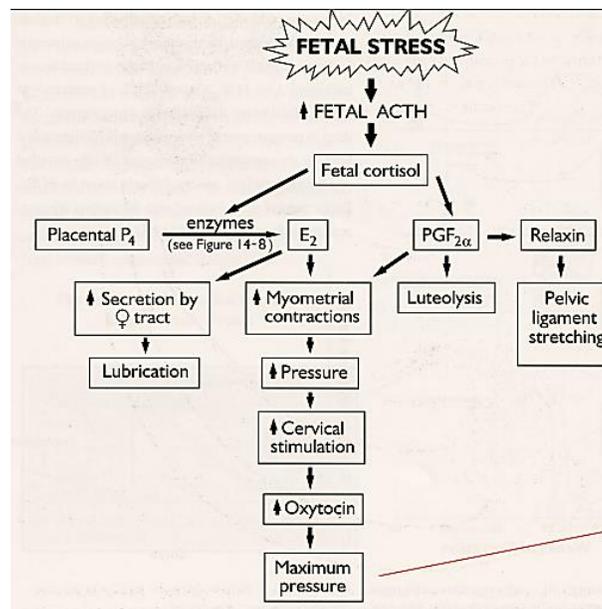
*Nota. Autoría propia.*

El nacimiento se genera por una serie de eventos que desencadenan la expulsión del feto, por medio de la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales el cual genera un grado de estrés activando la corteza adrenal con descarga de cortisol (corticoides) el cual estimula

la placenta para convertir la P<sub>4</sub> (progesterona) en E<sub>2</sub> (prostaglandina) y está a su vez estimula la descarga de PgF<sub>2</sub> (luteolisis) y relaxina la cual dilata en canal con la aparición de receptores de oxitocina, seguido del efecto de Ferguson ocasionado por la presión que realiza el ternero al cérvix, mediante señales dirigidas hacia el hipotálamo-hipófisis para el desencadenamiento de las contracciones del miometro para posterior expulsión del feto (Vela, 2022).

## Figura 2

*Proceso hormonal del nacimiento del ternero*



*Nota.* El proceso del parto es iniciado por el ternero causado por el estrés fetal, seguidamente de una liberación de hormonas. Recuperado de (Estill, 2023).

## Carga bacteriana

Se puede definir la carga bacteriana como una cantidad medible dentro de un objeto o cuerpo de un animal. El estiércol bovino posee gran cantidad de microorganismos considerados altamente patógenos como bacterias, virus y parásitos (Heras *et al.*, 2016). La cantidad de carga bacteriana que contiene un animal depende de varios factores como el

tiempo de transporte rápido a través del duodeno y yeyuno, presencia o ausencia de secreciones como la bilis y fluidos pancreáticos, que contiene el intestino delgado, y la cantidad de IgA secretada (Bertram *et al.*, 2013).

### **Coliformes**

Se las puede definir como bacilos anaerobios facultativos, gramnegativos, no forman esporas y son fermentadoras de la lactosa convirtiéndola de esa manera en ácido y gas a una temperatura entre  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  en un periodo aproximado de 24 a 48 horas (Heras *et al.*, 2016). Comúnmente son denominados como organismos indicadores pues nos permiten conocer la potencialidad de las bacterias causantes de enfermedades en el agua (Swistock y Sharpe, 2022). Está compuesto por diversas bacterias, entre las que se mencionan: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia coli* y *Citrobacter* (Vivanco, 2022).

### **Coliformes totales**

Bacterias gram negativas fermentativas de lactosa produciendo ácido y  $\text{CO}_2$ , sean estas aerobias o anaerobias facultativas que poseen oxidasa negativa, con una actividad enzimática de B-galactosidasa; además constituyen el 10% de microorganismos intestinales de todos los animales, como *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Castaño y Bernal, 2015).

Son bacterias presentes en el tracto digestivo y heces de todos los animales, incluyen bacterias existentes en el suelo, agua y desechos humanos o animales; además se encuentran directamente influenciadas por el agua superficial que tiene su recorrido en haciendas ganaderas, pues este se convierte en un agente de transmisión de esta bacteria (Swistock, 2020).

### **Coliformes fecales**

Se encuentran específicamente en el intestino de los animales y en las heces de los animales de sangre caliente incluyendo a los humanos, son consideradas como microorganismos más específicos de contaminación dentro de un área o predio específico (Novello, 2023).

Según son microorganismos indicadores de la inocuidad alimentaria, principalmente por *Escherichia coli*, y con menos frecuencia *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae*. Son capaces de vivir en temperaturas extremas sobre los 45°C (Castaño y Bernal, 2015).

### **Coprocultivo**

Un coprocultivo es un examen de laboratorio, el cual consiste en la siembra de una muestra de materia fecal para después de un tiempo poder encontrar algún organismo causante de alguna enfermedad o síntoma de carácter gastrointestinal. Esta técnica se realiza mediante la toma de 1 g de muestra de heces diluida en una solución para proceder a sembrarla en algún medio de crecimiento bacteriano (Phillips, 2022).

Según Fecteau *et al.*, (2002) el recuento bacteriano de coliformes de muestras fecales de ternero se encontraron en un rango de 0 y  $3 \times 10^6$  bacterias/ml, con un promedio de  $2,3 \times 10^4$  (15135 a 34674) bacterias/ml.

### **Técnicas de coprocultivo e identificación de carga bacteriana**

#### ***Agar MacConkey***

Medio selectivo para aislamiento y diferenciación de bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, coliformes y *Enterobacteriaceae* a partir de muestras de heces fecales, orina, aguas negras y diversos alimentos. Su medio peptonado le brinda nutrientes esenciales para su desarrollo, la lactosa actúa como hidrato fermentado de carbono, y la mezcla de sales biliares con el cristal violeta actúan como agentes selectivos inhibiendo crecimiento de bacterias Gram positivas, el agar es agente solidificante, su incubación debe ser de 33-37°C por 18-48 horas, y puede observarse la formación de colonias rosadas-rojizas (Rossi, 2021).

#### ***Agar Endo***

Medio ligeramente selectivo, para aislamiento y diferenciación de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y Gram negativos a partir de muestras fecales o líquidas. Su

selectividad se basa en la combinación de sulfito de sodio con fucsina básica formando la supresión parcial de los microorganismos Gram positivos, en este sentido las coliformes se encargan de la fermentación de la lactosa generando colonias rosas oscuro a rojizo con brillo metálico verdoso generado por la creación de ácidos aldehídos. La incubación se debe realizar de 18-24 horas a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  (Dickinson, 2013).

### **EMB (Eosina Azul de Metileno)**

Se usa para el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos con un desarrollo rápido y con pocos nutrientes, para crecimiento de microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae*, la peptona ayuda al desarrollo microbiano, la eosina y azul de metileno le permiten tener una diferenciación entre organismos capaces de usar lactosa o sacarosa, diferenciando de esta manera unos de otros puesto que estos componentes ejercen un efecto inhibitorio entre Gram positivas. Las colonias presentan característica de un brillo metálico con centro azulado o rosado. La incubación se debe realizar en anaerobiosis a  $33-37^{\circ}\text{C}$  por 18-24 horas (Rossi, 2023).

### **LB (Luria-Bertani) AGAR**

Empleado para crecimiento y mantenimiento de cepas recombinantes de *Escherichia coli* y otras bacterias, en medio sólido, rico en nutrientes, constituido por NaCl (cloruro de sodio), triptona y extracto de levadura (Garboza *et al.*, 2011). El NaCl ayuda a mantener el equilibrio osmótico, la triptona le brinda nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales; y la levadura actúa como fuentes de vitaminas B óptimas para el desarrollo bacteriano, se debe incubar a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 18-24 horas (Atlas y Parks, 2022).

### **Placas de Petrifilm™ 6466 para Coliformes Totales**

Son placas que contienen un medio liofilizado listo para usar, brindando resultados fiables y veraces; pues permiten la automatización de interpretación de resultados con una mejor precisión, uniformidad y velocidad de recuento de crecimiento de colonias bacterianas. Son consideradas amigables con el medio ambiente pues generan un impacto menor por su

bajo gasto de energía y agua, baja emisión de gases de efecto invernadero y menor residualidad (Roca, 2020).

En un estudio realizado por 3M™ relacionado al impacto medioambiental, comparando placas Petrifilm™ frente a placas tradicionales de agar, concluyeron que son una solución sostenible, pues presentan las siguientes características:

- 76% menos uso de energía.
- 79% menos gasto de agua.
- 75% menos emisiones de gases de efecto invernadero.
- 66% menos residuos. (Roca, 2020)

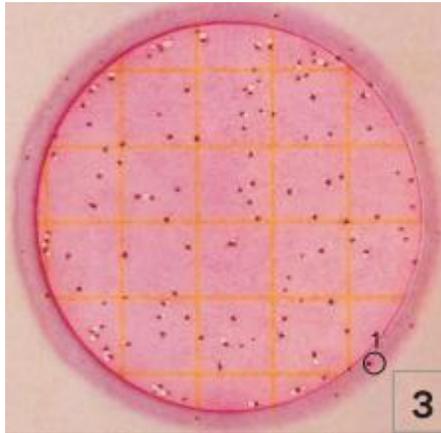
Las placas de Petrifilm™ para recuento de Coliformes poseen un indicador cromogénico el cual tiñe las colonias de un color rojo, y su cubierta superior tiene la capacidad de atrapar el gas generado por la respiración de las colonias, ayuda que en 24 horas de incubación tengamos resultados confiables (Brochure, 2015).

Contiene nutrientes de violeta roja biliar (VRB), un agente gelificante que es soluble en agua fría y adicional un tetrazolio que actúa como indicador y facilitador para el conteo de crecimiento de colonias (3M, 2022).

Para la siembra de la muestra en estas placas se pueden usar como medio de crecimiento buffer de agua peptonada, solución salina 0,85-0,90%, triptona, agua destilada. Para el recuento de Coliformes válidas se deben considerar varios factores como: crecimiento de burbujas, visualización de la colonia, barrera de espuma y número de colonias válidas (3M, 2017).

### Figura 3

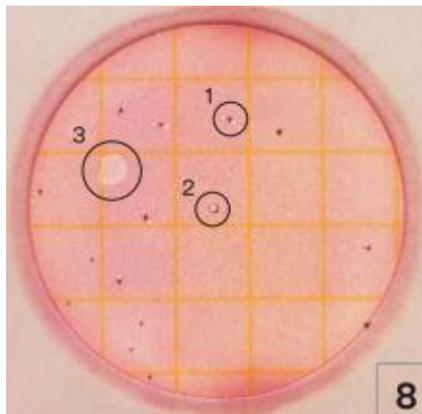
#### Recuento de Coliformes



Nota. Rango de recuento para la población total en placas Petrifilm de crecimiento de colonias. Recuperado de (3M, 2017).

### Figura 4

#### Crecimiento de burbujas en la placa de Petrifilm™



Nota. Patrones de burbuja que pueden evidenciarse en la placa, burbujas 1 y 2 colonias cuantificables, burbuja 3 no se cuenta porque no tiene crecimiento de colonias. Tomado de (3M, 2017).

Varios expertos recomiendan que un recuento de aerobios en una placa debe ser inferior a 100000 UFC/ml, mientras que para el recuento de coliformes debe ser inferior a 10000UFC/ml, pues se considera que valores superiores son causantes de un alto índice de morbilidad y mortalidad neonatal causada por bacterias fecales. Además, es recomendable usar umbrales de 24000 UFC/ml para recuento en placa y 4000 UFC/ml para coliformes, con diluciones  $10^{-3}$  un recuento <24000 colonias en aerobios y < 4000 colonias de coliformes en terneros se considera normal (Morin *et al.*, 2021).

### **Número Más Probable (NMP)**

Se fundamenta en la fermentación de la lactosa con ayuda de coliformes incubadas durante 24-48 horas a 35°C, obteniendo como resultado una fermentación de ácido y gas, por medio de dos fases: fase presuntiva, usa el caldo lauril sulfato de sodio permitiendo la reparación de microorganismos dañados para que puedan usar la lactosa como fuente de carbono; en la fases confirmativa se usa como medio de cultivo el caldo lactosado bilis verde brillante, que es un medio selectivo (Castaño y Bernal, 2015).

### **Calostro**

Se considera como la primera secreción láctea generada después del período de secado e involución mamaria, siendo la misma una parte esencial para la sobrevivencia del becerro recién nacido, pues le proporciona nutrientes esenciales que ayudan en el metabolismo y estimulación del sistema digestivo, siendo una fuente de protección inmunológica pasiva; adicionalmente se considera que un buen calostro debería contener el doble de materia seca y minerales y cinco veces más proteína a comparación a la leche entera, con un bajo contenido de lactosa lo que reduce la incidencia de diarrea en el becerro (Coleen y Judío, 2022).

**Tabla 1***Composición típica del calostro y leche de transición*

	Número de ordeño	Número de ordeño	Número de ordeño	Número de ordeño
Variable	1	2	3	4
Sólidos (%)	23,9	17,9	14,1	12,9
Proteína (%)	14,0	8,4	5,1	3,1
IgG (mg/ml)	32,0	25,0	15,0	0,6
Grasa (%)	6,7	5,4	3,9	4,0
Lactosa (%)	2,7	3,9	4,4	5,0
Minerales (%)	1,1	1,0	0,8	0,7
Vitamina A (µg/dL)	295,0	190,0	113,0	34,0

*Nota.* Recuperado de (Coleen y Judío, 2022)

Numerosos estudios han demostrado que la baja o nula transferencia pasiva de Ig por medio del consumo del calostro (IgG sérica < 10g/L) aumenta en gran medida la mortalidad y morbilidad en bovinos de carne y leche recién nacidos (Lorenz *et al.*, 2011).

### **Inmunoglobulinas**

Las inmunoglobulinas, también conocidas como glicoproteínas, se encuentran formadas por cadenas polipéptidas agrupadas según el tipo de péptido que esta posea, las cuales están unidas entre sí por cadenas polipeptídicas de disulfuro y otras uniones covalentes; éstas se encargan de proteger al organismo contra infecciones por medio de la identificación y destrucción de patógenos, siendo así parte importante del sistema inmune de los seres vivos (Páez, 2015).

Estas se encuentran presentes en el plasma sanguíneo y otros fluidos biológicos como la saliva, lágrimas o líquido sinovial. Su presencia en el plasma sanguíneo es un indicativo de la respuesta inmunológica conocida como respuesta humoral específica, siendo la principal defensa frente a agentes patógenos (Creek, 2022).

## **Tipos de inmunoglobulinas**

De forma general se conocen 5 tipos de Inmunoglobulinas, representadas por diferentes letras, y con funciones distintas dentro del organismo, dentro de las cuales se encuentran la A, D, E, G y M.

### ***Inmunoglobulina G***

El contenido de Inmunoglobulinas G (IgG) lo constituye el 80 al 85% del total de inmunoglobulinas (Ig) del calostro bovino, cuya función principal radica en la identificación y destrucción de patógenos causantes de infecciones; y éstas a su vez se dividen en la IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub>, las cuales son la fuente principal de transmisión de inmunidad pasiva proporcionada al ternero a través del consumo de calostro (Páez, 2015); además participan en la opsonización celular y en la citólisis de las bacterias (Araúz *et al.*, 2011).

Según Flores y Romero, (2013) es la única capaz de poder atravesar la placenta lo que permite que se realice el paso de inmunidad pasiva proporcionada por parte de la madre al ternero durante la etapa gestacional, adicional esta inmunidad es proporcionada por medio del consumo del calostro durante 3 días consecutivos, hasta que el ternero sea capaz de sintetizar por si sólo anticuerpos que le permitan hacer frente a diferentes enfermedades que se puedan presentar durante su vida.

### ***Inmunoglobulina D***

Tiene una concentración baja del 1%, esta principalmente asociada a los linfocitos B, teniendo como principal función de detectar antígenos para las células B, pudiéndose detectar a la misma en el plasma sanguíneo. Participa en la transición de estado de susceptibilidad al inducir tolerancia en las células B (Padullés *et al.*, 2013).

La concentración de esta en el suero es muy baja, pues se considera que constituye el 0.2% del total de Ig, con una vida media de 3 días, aunque su función no es aún clara se la asocia como un receptor antigénico en la activación y supresión de linfocitos B (Castell, 2023).

### ***Inmunoglobulina A***

Tiene la capacidad de neutralizar las toxinas de origen bacteriano (Castrillón, 2020). Isotipo abundante en las personas, participa en defensa contra infecciones, desarrolla tolerancia inmune en las mucosas (Franco *et al.*, 2020); como saliva, lágrimas y secreciones. Representa el 13% del total de las inmunoglobulinas, con presencia de dos subclases, IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>, diferenciándose por la ausencia de una secuencia de 13 aminoácidos en la región en bisagra de la IgA<sub>2</sub> (Padullés *et al.*, 2013).

Posee un molécula denominada "pieza secretoria", por lo que esta primero es absorbida hacia el torrente sanguíneo para posteriormente pasar a las membranas mucosas del organismo, por lo que no posee una protección significativa dentro de la mucosa del intestino, pues se encuentra presente en el primero ordeño con una duración de 5 días, pues su producción en el becerro inicia a partir del día 56 de vida, por lo que es importante mantener una adecuada sanidad para evitar causar enfermedades al animal (Loo, 2022).

Son inicialmente liberados en el plasma y posteriormente son integrados en la membrana celular de otras células como los mastocitos los cuales participan activamente en las reacciones de hipersensibilidad. Además, participan en procesos alérgicos y frente a respuesta inmediata a parásitos (Padullés *et al.*, 2013).

### ***Inmunoglobulina M***

Representa el 6% del total, es capaz de neutralizar virus por la anexión a las mucosas corporales; además, esta se caracteriza por tener la capacidad de precipitar, aglutinar, fijar y activar la respuesta inmune, con la diferencia que no tiene la capacidad de atravesar de forma activa las membranas biológicas del útero (Páez, 2015).

Esta protege al animal frente a las septicemias, con una duración de 7 días en el torrente sanguíneo del organismo (Loo, 2022).

## **Técnicas de identificación de inmunoglobulinas**

### ***Inmunodifusión Radial (IDR)***

Esta técnica permite cuantificar de forma sencilla inmunoglobulinas G, M y A presentes en muestras biológicas. Esta técnica se basa en la difusión del antígeno a medir dentro de una matriz semisólida de agar dentro del cual se encuentra el anticuerpo específico, mediante la difusión se genera la relación Ag-Ac permitiendo la formación de precipitados, para posteriormente realizar la medición del radio el cual es proporcional a la concentración de antígeno, y finalmente se realiza una curva de calibración con ayuda de muestras conocidas (Ruiz, 2019).

### ***Reacciones de aglutinación***

Se basa principalmente en la reacción antígeno-anticuerpo, entendiendo como antígeno aquella sustancia que puede ser parcialmente metabolizada por los “macrófagos” generando una respuesta inmune frente a un organismo extraño; por otro lado, el anticuerpo es una glicoproteína generada por los linfocitos B activos en respuesta a un antígeno. Dentro de las ventajas de esta técnica se puede mencionar que tienen un alto grado de sensibilidad y posee variedad de sustancias identificables por medio de partículas cubiertas por antígenos o anticuerpos (Aguilar, 2004).

### ***ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay)***

Se usa para determinar la presencia de sustancias como proteínas (anticuerpos y antígenos), hormonas proteicas o marcadores tumorales; pues está aprovechando la especificidad de la unión de los Ac como una amplificación producida por las enzimas catalizadoras frente a una reacción la cual se adsorbe a una superficie líquida (Rubio, 2018).

El kit Elisa *in vitro* de IgM está diseñado para medir de forma cuantitativa la IgM en plasma, suero, orina, saliva, leche líquida, líquido cefalorraquídeo y sobrenadantes de cultivos celulares, para determinación de Igs se colocan las muestras en los pocillos y se agrega el anticuerpo específico de IgM, se realiza el lavado con el tampón y posteriormente se añade el

conjugado de estreptavidina-peroxidasa, para visualizar con ayuda del TMB el cual actúa como catalizador generando de una coloración azul a amarilla pudiendo determinar la cantidad de IgM según la intensidad de coloración del amarillo (Abcam, 2023).

### ***Purificación y cuantificación con Sulfato de Amonio***

Es un método que consiste en la separación de los anticuerpos del suero, basándose en la formación de puentes de hidrógeno por parte de las proteínas solubles hacia las moléculas de agua por medio de los grupos polares que estas poseen, con ayuda de altas concentraciones de amonio y sulfato se forma una competencia con las moléculas proteicas por el agua, de esta manera las proteínas disminuyen su solubilidad generando de esta manera su precipitación. La concentración de sulfato de amonio que se necesita para precipitar las inmunoglobulinas va a variar según la especie animal, considerándose como una solución óptima al 50% (Zuñiga, 2014).

Esta técnica permite la concentración y precipitación de la proteína deseada, este principio se basa en “salar” las proteínas que contiene la solución evitando que formen enlaces de hidrógeno con el agua, pues la sal interacciona para formar agregados que precipitaran fuera de la solución (Grodzki y Berenstein, 2010).

Para la cuantificación de las proteínas se realiza mediante dos reacciones; la primera consiste en la reducción de iones cúpricos  $\text{Cu}^{2+}$  a iones cuprosos  $\text{Cu}^{1+}$  por medio de los enlaces peptídicos, y la segunda reacción consiste en la detección colorimétrica altamente selectiva y sensible de los cationes cuprosos BCA- $\text{Cu}^{1+}$  de coloración púrpura, siendo un producto soluble en agua con una absorbancia de una longitud de 562 nm, midiendo de esta manera la concentración proteica por medio de la longitud de absorbancia coloreada comparándola con una curva estándar (Torres, 2023).

### **Inmunidad**

Se refiere a la capacidad que tiene un hospedador para resistir ante la presencia de un hospedero; es decir, otro microorganismo que de una u otra manera llegarán a afectar su

sistema inmunitario; además, se considera al sistema inmune de los mamíferos como un complejo que lleva a cabo procesos bioquímicos que le permiten una detección temprana de un patógeno en su organismo (Moredo *et al.*, 2018).

### ***Tipos de inmunidad***

La inmunidad se puede clasificar en dos tipos, según las funciones de defensa del hospedador, sea esta inmunidad natural o resistencia innata e inmunidad adaptativa.

#### **Inmunidad innata**

Moredo *et al.*, (2018) lo mencionan como gran conjunto de mecanismos que posee el organismo como primera línea de defensa de acción inmediata ante una afección bacteriana, la cual se genera dentro de las 4-96 horas posterior al contacto, considerada como co-evolucionada con carácter inespecífico por medio de mecanismos bioquímicos, físicos, celulares, químicos y humorales.

#### **Inmunidad adaptativa**

Es de carácter específico, pues es capaz de distinguir diferencias significativas entre elementos, además tiene la capacidad de generar un “chip” de memoria para recordar un contacto anterior y responder de forma rápida y eficiente en una futura afección, tarda de 3 a 4 días en crear líneas de defensa ante esos microorganismos. Presenta diversos mecanismos de defensa físicos, como barreras naturales del epitelio de piel y mucosas, pelos, cilias y secreciones; y químicos, como pH estomacal, sales y lípidos de la piel (Moredo *et al.*, 2018).

#### **Salud del recién nacido**

La contaminación de un recién nacido es inevitable, pues al momento de su nacimiento se encuentra expuesto al medio ambiente, ya que éste viene de un ambiente sano y aséptico a un ambiente contaminado de virus, bacterias, hongos y protozoos que pueden afectar la salud del animal, para lo cual es importante considerar algunos aspectos como el porcentaje de hematocrito y el contenido de proteínas de un animal (Arancibia, 2023).

Pues la salud de un animal es la principal base para un adecuado crecimiento y desarrollo durante toda la vida del animal, puesto que los primeros días de vida son determinantes para una buena calidad de vida y de producción, además establece una línea de base sanitaria a favor del ganadero y sus animales (Sánchez, 2020).

La vitalidad de un bovino recién nacido se evalúa con ayuda de varios factores como pueden ser los estímulos exógenos, tono muscular, reflejo de succión, tiempo que se demora en levantar la cabeza y ponerse de pie, considerando que un ternero sano debe tener la capacidad de intentar ponerse de pie de forma espontánea alcanzando el decúbito esternal, en un tiempo entre 3, 5, 20 y 90 minutos después del nacimiento (Lorenz *et al.*, 2011).

### **Índice de hematocrito**

Mide el porcentaje de eritrocitos que contiene un volumen total de sangre, la concentración se relaciona directamente con la edad del animal y sexo del mismo, pues un valor por debajo de lo normal nos da a conocer anemia y un valor elevado es indicador de policitemia (Páez, 2010). También se define como el volumen ocupado por los hematíes contenidos en 100 ml de sangre expresado en % (Sigua, 2019).

Los datos que se obtienen están influenciados por la edad del animal, la forma en que se alimenta, los diferentes sistemas de alojamiento, la zona geográfica, la temperatura ambiente, la estación, la raza, y son factores importantes en la interpretación de los resultados; y principalmente el estado de lactancia y presencia de enfermedades (Hrković *et al.*, 2013).

### **Tabla 2**

*Valores de algunos parámetros hematológicos en el plasma sanguíneo de terneros*

<b>Parámetros</b>	<b>Terneros Machos</b>	<b>Terneros Hembras</b>
Recuento de eritrocitos ( $10^{12}/L$ )	3,71	7,48

<b>Parámetros</b>	<b>Terneros Machos</b>	<b>Terneros Hembras</b>
Recuento de leucocitos ( $10^9/L$ )	8,53	7,38
Hematocrito (%)	22,78	23,30
Hemoglobina (g/L)	33,00	38,00
Índices hematológicos (pg)	9,28	5,46
Hemoglobina celular media (g/L)	148,11	172,70
Volumen celular medio (fl)	64,54	33,00

*Nota.* Datos obtenidos de 20 terneros (10 machos y 10 hembras) de 1 mes de edad.

Adaptado de (Hrković *et al.*, 2013).

Este valor aumenta durante el desarrollo fetal del bovino, llegando a alcanzar valores cercanos a los de un bovino adulto, posterior al nacimiento se da una disminución durante las primeras semanas seguido de un incremento gradual hasta los 4 meses, usando como valores referenciales de 28-38 %, adicional en su estudio determinó que terneros de 1 mes de edad obtuvieron valores de  $35,1345 \pm 7,2$  y  $39,50 \pm 4,28$  (Moreno *et al.*, 2008).

### **Proteínas totales**

El perfil proteico animal está constituido por proteínas totales, y juntamente con las globulinas, albumina, hemoglobina, urea y enzimas forman las concentraciones sanguíneas de un individuo (Herrera *et al.*, 2018). Los cambios en valores de contenidos proteicos séricos son indicadores de diferentes procesos patológicos por lo que este atravesando el animal, además de invadir varios órganos y partes del sistema gastrointestinal pudiendo llegar a causar alteraciones en la vida del animal (Miceli *et al.*, 2019).

La cuantificación de proteína séricas nos permite determinar variaciones en la salud de un organismo, pues su aumento o disminución pueden asociarse a que el animal este

atravesando por diversos procesos patológicos que afecten el desarrollo adecuado (Bottini *et al.*, 2021).

Se considera como dato confiable relacionado con la IgG obtenido del suero bovino, pudiéndose determinar por medio del refractómetro relacionándolo con la calidad del calostro que consume el animal, cuya funcionalidad se da por medio de la medición de la forma del paso de luz relacionando que una puntuación de 22g/dl se correlaciona con un calostro que contiene mínimo 50 g/L de IgG. La medición de las proteínas totales se debe realizar principalmente durante la primera semana de vida puesto que es ingerida a través del calostro pudiéndose determinar que el nivel proteico va de la mano con la calidad y cantidad de calostro consumido por el ternero, las proteínas juegan un papel importante dentro de los procesos fisiológicos del organismo animal (Yepes y Prieto, 2011).

Según Cullens, (2017) ha demostrado que la proteína total de 5,2 a 5,5 g/dL indica que los terneros logran una transferencia pasiva exitosa de inmunidad, con una concentración sérica de  $IgG \geq 10$  g/L, datos menores a 5,2 g/dl se consideran fallas de transferencia de inmunidad correlacionando con IgG sérica menos de 10g/L.

## **Técnicas de identificación de proteínas**

### ***Refractometría***

La refracción de luz consiste en el desvío de la misma al pasar por sustancias transparentes, con un cambio de dirección y velocidad que atraviesa la onda al pasar de un medio a otro con distinto índice de refracción, la cual se genera si la onda incide oblicuamente sobre la superficie de separación de los dos medios. Para esto se debe colocar una gota de suero o de muestra (50 $\mu$ L) sobre el prisma para posteriormente dirigir el refractómetro hacia una fuente de luz para proceder a realizar la lectura, observado a través del ocular del mismo dos secciones, una oscura y una clara, y la intersección entre estas es el punto de lectura del refractómetro (Rodríguez *et al.*, 2018).

## **Transferencia Pasiva**

El bovino recién nacido está desprovisto de inmunoglobulinas lo que lo hace vulnerable y susceptible a enfermedades virales, bacterianas y parasitarias, por lo que el consumo de calostro es un elemento esencial en los rumiantes para la transferencia de inmunidad y protección; además, también permite que factores anti proteolíticos contra la tripsina y quimiotripsina protejan el tracto intestinal del animal (Casas y Canto, 2015).

Según Páez, (2010) los becerros nacen desprovistos de inmunoglobulinas, es decir son individuos agamaglobulinémicos (carecen de globulinas), pues el tipo de placenta cotiledonaria no permite el paso de las mismas hacia el interior del útero.

Las inmunoglobulinas son absorbidas por micropinocitosis de las células del epitelio, por medio de las vacuolas, las cuales llegan al tejido linfático para posteriormente pasar al conducto torácico y sangre, lo cual ayuda a una mejor distribución. La detección de este tipo de inmunidad es detectable entre 80-120 minutos después del consumo del calostro, posterior a las 24 horas de consumo las células epiteliales fetales son reemplazadas completamente por otras que son incapaces de absorber inmunoglobulinas (Páez, 2015).

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### **Ubicación del lugar de investigación**

La presente investigación fue realizada en la provincia de Pichincha, parroquia Sangolquí, barrio San Fernando en las instalaciones del Taller de Ganadería en el área de maternidad juntamente con el laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, y laboratorio de Biotecnología Animal, de la Carrera de Biotecnología, del Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

#### **Ubicación geográfica**

El área de estudio se encontró en las coordenadas de las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, son latitud  $0^{\circ}23'04.56''S$ , longitud  $78^{\circ}24'57.20''O$ , altitud 2719 m.s.n.m.

#### **Figura 5**

*Vista aérea del lugar de investigación*



*Nota.* Tomado de (Google Eart, 2023)

## **Ubicación Ecológica**

La estación meteorológica de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria, proporcionó los siguientes datos, los cuales pertenecen a la Hacienda “El Prado” IASA I, misma que se ubica en un piso altitudinal: montano bajo, con un clima templado, temperatura promedio de 14,2 °C, precipitación promedio de 1575 mm anuales, humedad relativa de 68,4% y doce horas de luminosidad.

## **Métodos**

### **Fase de campo**

#### ***Toma de muestras***

Las muestras fueron tomadas en 3 edades del ternero; 0, 24 y 72 horas de nacido el bovino, una vez que haya nacido el animal se realizó la sujeción del mismo para limpiar la zona de punción y extracción de sangre (vena yugular) con alcohol al 70% y papel; se tomó aproximadamente 10 mL de sangre con ayuda de la vacutainer en tubos de vidrio al vacío de tapa roja y 5 mL de en tubos de tapa lila con EDTA.

### **Figura 6**

*Toma de muestra de sangre del bovino recién nacido*



*Nota. Autoría propia.*

Posteriormente se estimuló el esfínter anal del animal con el dedo índice realizando movimientos circulares para generar la acción de expulsión de las heces para obtener una muestra de aproximadamente 50 g de heces en frascos estériles, previamente etiquetados.

### **Figura 7**

*Toma de muestras de heces*



*Nota. Autoría propia.*

### **Transporte de muestras**

Las muestras de sangre y heces obtenidas fueron colocadas en una gradilla dentro de una caja de espuma flex que contenía un refrigerante, para mantener en condiciones adecuadas las muestras, para ser trasladadas al laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal para su procesamiento.

### **Fase de laboratorio**

#### **Coprocultivo**

Para el crecimiento de coliformes totales se preparó medio peptona al 0.1%, la cual consistió en pesar 1 g de peptona para diluir en 1 litro de agua destilada, misma que fue autoclavada y dispensada en tubos de ensayo con 10 mL y 9 mL de medio, cada uno.

Las muestras de heces fueron previamente preparadas en área de coproparasitología para ser trasladadas al área de microbiología del Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal; para lo cual se tomó una muestra en un tubo eppendorf mismo que fue

trasladado al área de microbiología y se pesó 1 g de la muestra, la cual fue colocada en un tubo de ensayo con 10 mL de peptona al 0.1% (Solución madre).

Una vez que se tuvo la muestra en el tubo de ensayo se colocó en el vórtex por 15 segundos para homogenizar la muestra, y se trasladó la muestra diluida a la cámara de flujo laminar dentro de la cual se realizó una dilución de  $10^{-2}$ ; dilución que se homogeniza en el vórtex por 15 segundos, posteriormente se sembró 1 mL de cada una de las diluciones en placas Petrifilm para coliformes totales, de igual manera de la solución madre. Y se dejó incubar por 24 horas para poder realizar la cuantificación.

### **Figura 8**

*Siembra de la muestra*



*Nota. Autoría propia.*

### ***Inmunología***

Las muestras de sangre que fueron recolectadas se procesaron de la siguiente manera, en primer lugar, se obtuvo el suero sanguíneo de cada una de las muestras por medio de la centrifuga a 4000 revoluciones por minuto (rpm) durante 7 minutos, procurando que cada tubo que vaya en dirección al otro este con el mismo nivel de líquido, caso contrario

se generara un daño en la centrifuga. Una vez que se obtuvo el suero se procedió a colocar en tubos eppendorf previamente etiquetados, con la ayuda de una micropipeta, para posteriormente usarlos en la medición de inmuglobulinas.

### **Figura 9**

*Muestras de suero bovino*



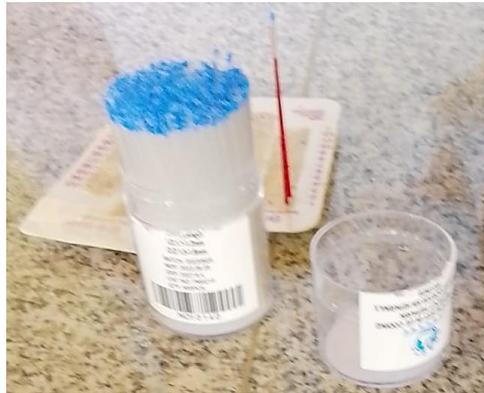
*Nota. Autoría propia.*

### **Hematocrito**

Las muestras de sangre de la tapa lila se usaron para realizar la prueba de hematocrito (HCT) en sangre, mediante el uso de capilares no heparinizados, la cual se realizó en la micro centrifuga a 10000 rpm por 5 minutos. Se tomó una muestra de sangre en los capilares con una inclinación de 45° hasta completar por gravedad 8/10 del capilar, para lo cual se cubrió la parte superior de capilar con el dedo índice para evitar que la sangre salga del capilar por gravedad y se procedió a tapar la parte inferior con plastilina y se colocó en la micro centrifuga. Una vez que se obtuvo el resultado se midió en la tabla de porcentaje de hematocrito de manera que el principio de la sangre coincida con la línea cero (0) y la línea final del plasma coincida con la línea del 100 de la tabla.

## Figura 10

*Materiales usados en el procedimiento de hematocrito*



*Nota. Autoría propia.*

## **Proteínas Totales**

Las proteínas totales fueron valoradas con ayuda del refractómetro, mismo que debía estar calibrado con agua destilada en cero (0), para lo cual se necesitó 30  $\mu$ L de suero el cual fue colocado en la placa y se procedió a observar por el ocular y cuantificar.

## Figura 11

*Refractómetro usado en el estudio*



*Nota. Autoría propia.*

## **Valoración de Inmunoglobulinas**

### **Precipitación de proteínas**

Se utilizó solución saturada de sulfato de amonio, el cual tenía una concentración del 60%, con un contenido de 60 g/100 mL de agua destilada, para lo cual se pesó 360 g de

sulfato para un volumen de 600 ml de agua, se colocó la solución granulada poco a poco en un vaso de precipitación para que se vaya agitando y disolviendo para obtener una solución concentrada de sulfato de amonio, una vez que se tuvo la solución disuelta se midió el pH para ajustar a 7,8.

### **Figura 12**

*Medición del pH de sulfato de amonio*



*Nota. Autoría propia.*

En un tubo falcon de 15 mL se colocó 2 mL de suero, adicionalmente se colocó 3 mL de sulfato de amonio, previamente saturado, con ayuda de una pipeta graduada, dejando caer reactivo gota a gota directamente en la solución.

Posteriormente se lo puso a incubar con hielo los tubos con la solución durante un tiempo de 10 minutos, seguidamente se llevaron cada una de muestras a vórtex por un tiempo de 5 segundos.

### Figura 13

*Solución de suero con sulfato de amonio*



*Nota. Autoría propia.*

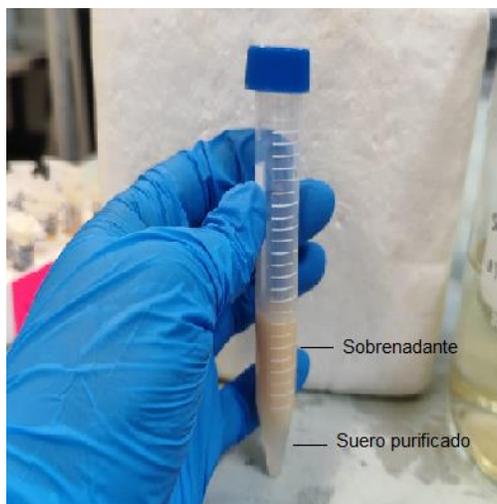
Con ayuda de la centrifuga refrigerada, la cual debía estar a 4490 rpm, se colocaron las muestras durante 15 minutos a una temperatura de 4°C, una vez que se terminaron de centrifugar las muestras se procedió a retirar el sobrenadante y se resuspendió el mismo volumen del precipitado PBS 1X.

Posteriormente colocarlo en el tubo y agitarlo en el vórtex durante 5 segundos. Se añadió  $\frac{3}{4}$  partes de la solución saturada; es decir, si contiene un volumen de 4 mL se añadió 3 mL de sulfato de amonio, con ayuda de la pipeta graduada, el contenido es colocado gota a gota.

El hielo en las muestras se mantuvo por un tiempo de 10 minutos y se colocó las muestras en la centrifuga, retirando de igual manera el sobrenadante y se colocó el resultado del precipitado en 1 ml de medio PBS 1X. Finalmente se almacenaron las muestras en tubos eppendorf con su respectiva etiqueta para la cuantificación a una temperatura de 4°C.

## Figura 14

*Sobrenadante de la solución sulfato de amonio*



*Nota. Autoría propia.*

### **Ensayo de proteínas por medio de ácido bicinonónico (BCA)**

Las diluciones del estándar BSA (albumina de suero bovino) fueron preparadas de acuerdo a las instrucciones del fabricante para posteriormente ser colocadas en la microplaca. Se preparó la solución de trabajo que se usó en el estudio en base al número de estándares y muestras a cuantificar usando la siguiente fórmula:

*Volumen WR requerido*

$$= (\#estándares + \#incógnitas) * (\#réplicas) * (volumen de WR por muestra)$$

En este caso se usaron 30 muestras, cabe mencionar que los estándares y las muestras se calcularon por duplicado.

La solución WR se preparó con el reactivo A y con el reactivo B del Kit, con una relación 50:1. Posteriormente en una microplaca se agregaron 10  $\mu$ L de cada uno de los estándares junto con la muestra a cuantificar por duplicado. Se agregaron 200  $\mu$ L de la solución WS, se mezcló la placa con ayuda de un agitador de placas a 250 rpm por 30 segundos, se tapa la placa y se dejó incubar a 37°C por 30 minutos. Una vez que se cumplió el tiempo de incubación

se dejó enfriar. La medida de la absorbancia fue de 562 nm, y posteriormente la curva de calibración de los estándares de BSA con el cálculo de la concentración de muestras.

## **Diseño experimental**

### ***Factores de estudio***

Los factores de estudio fueron: concentración inmunoglobulinas (proteínas totales) y carga bacteriana (coliformes totales).

### ***Relaciones***

Se obtienen relaciones entre carga bacteriana, proteínas totales y transferencia de inmunoglobulinas, durante tres edades del ternero 0, 24 y 72 horas después de nacido el ternero; es decir, 10 unidades experimentales con 3 tomas, con un total de 30 muestras.

### ***Análisis estadístico***

El experimento se dispuso bajo un diseño completamente al azar (DCA) con 3 repeticiones, adoptando el siguiente modelo matemático.

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$ = Variables a evaluar: proteínas totales, carga bacteriana e inmunoglobulinas.

$\mu$ = media general

$A_i$ = Variación de la  $i$ ésima edad sobre los valores no paramétricos.

$\varepsilon_{ij}$  = Error experimental.

### ***Características de las unidades experimentales***

Se contó con 10 unidades experimentales, cada una con 3 repeticiones (0, 24 y 72 horas) de sangre y heces, para evaluación de parámetros de salud (proteínas totales e inmunoglobulinas) y carga bacteriana (coliformes totales), respectivamente.

### **Análisis funcional**

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confiabilidad del 95% ( $p \leq 0,05$ ) entre las variables en el software estadístico INFOSTAT, mediante un análisis estadístico descriptivo.

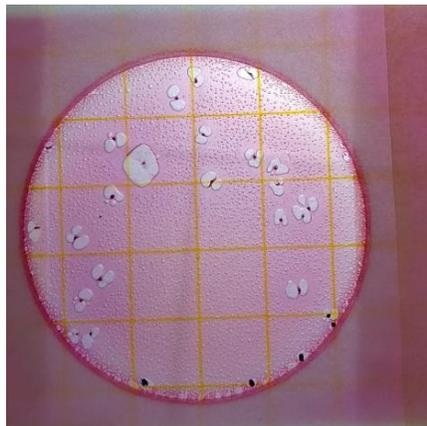
### **Variables evaluadas**

#### **Carga bacteriana**

El crecimiento bacteriano fue visualizado en placas de Petrifilm™ posterior a 24 horas después de la siembra de las muestras, con ayuda de aglutinometro, las mismas que fueron contadas en una dilución  $10^{-2}$ , pues en esta dilución se podía realizar un conteo más factible con un crecimiento visible. El inserto del producto de Petrifilm™ daba como indicación que un conteo es válido a partir de 15 UFC hasta 150 UFC dentro de la placa, valores inferiores o superiores no son aceptables como datos válidos.

#### **Figura 15**

*Crecimiento de colonias bacterianas*



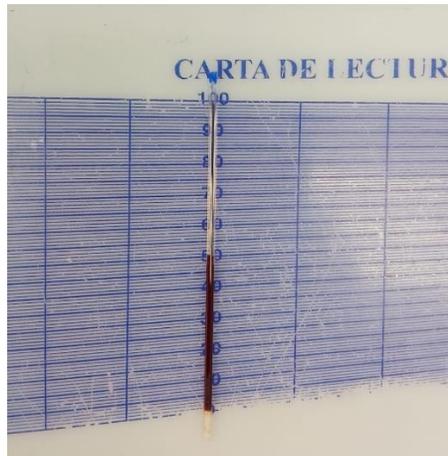
*Nota.* Autoría propia.

#### **Porcentaje de hematocrito**

Se obtuvo mediante la lectura del capilar (una vez que fu procesado en la microcentrífuga) sobre la tabla de porcentaje de hematocrito observando que las líneas superior e inferior del capilar coincidan con las líneas de la tabla.

## Figura 16

*Lectura de hematocrito*



*Nota. Autoría propia.*

## Proteínas Totales

La concentración de proteínas totales fue obtenida con ayuda del refractómetro, observando por medio del ocular la línea que se forma en el tablero del instrumento, siendo está una línea blanquecina u opaca que se puede diferenciar de forma fácil y rápida.

## Cantidad de Inmunoglobulinas (Ig)

Las concentraciones de inmunoglobulinas se obtuvieron con ayuda del espectrofotómetro, con la purificación de proteínas usando como medio de soluto el sulfato de amonio que contiene iones de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) generando la precipitación de proteínas, en su mayoría inmunoglobulinas.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras analizadas fueron las crías de 10 vacas gestantes; es decir, 10 bovinos recién nacidos. Mediante el análisis estadístico descriptivo se determinó si cada una de las muestras tienen algún grado de asociación en cada uno de los parámetros evaluados de hematocrito, proteínas totales, carga bacteriana e inmunoglobulinas.

**Tabla 3**

*Número de muestras nacidas según el sexo*

Sexo	número	porcentaje
Hembras	6	60%
Machos	4	40%
Total	10	100%

*Nota.* Autoría propia.

Los datos obtenidos fueron evaluados en 3 tiempos; 0, 24 y 72 horas después de su nacimiento. Los parámetros evaluados fueron, proteínas totales (g/dL), inmunoglobulinas (g/L) y carga bacteriana (UFC/g).

**Tabla 4**

*Datos obtenidos de cada variable*

# arete	Sexo	HCT (%)			Proteínas (g/dL)			Ig (g/L)			Carga bacteriana (UFC/g)		
		Edad	0	24	72	0	24	72	0	24	72	0	24
2317	Hembra	50	39	43	5	8	8,7	4,56	14,36	9,74	1900	3100	3900
2318	Hembra	50	42	22	4,5	7,5	8,5	2,552	14,9	11,26	1200	1700	2300
2319	Hembra	33	43	39	7,8	8,5	8,6	6,48	5,32	10,3	1600	2700	4700
2320	Hembra	46	43	41	7,6	8,8	9	2,764	4,9	10,66	1700	1900	2200
M617	Macho	40,5	37	37	6,7	9,1	8,6	7,92	7,98	13,6	1400	1600	2600
M618	Macho	43	38	38	5,7	7,6	7,3	7,12	10,04	11,22	1700	2300	3500
2321	Hembra	52	52	45	6	7,4	7,7	10,88	5,9	11,76	1700	2100	2400
M619	Macho	38	34,5	32	7,8	7,1	8	10,1	2,95	15,32	1900	2800	3100
M620	Macho	44	38,5	36	4,1	5,2	6,6	8,16	11,6	13,06	2100	2600	4500
2322	Hembra	49	46	45	6,2	6,8	7,3	9,904	8,058	11,35	1700	2400	4300

*Nota.* Autoría propia.

## Porcentaje de hematocrito

Para el análisis de la variable índice de hematocrito, se evaluó mediante el test de Tukey ( $p \geq 0,05$ ) en el cual se puede observar que la ternera 2321 obtuvo un índice de hematocrito mayor que el resto de los individuos con una media de 46,67%, mientras que el ternero M619 presentó una media inferior al resto de individuos evaluados correspondiente a 34,83%, datos detallados en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Promedio y error experimental de índice de hematocrito en terneros machos y hembras recién nacidos hasta los 20 días de edad*

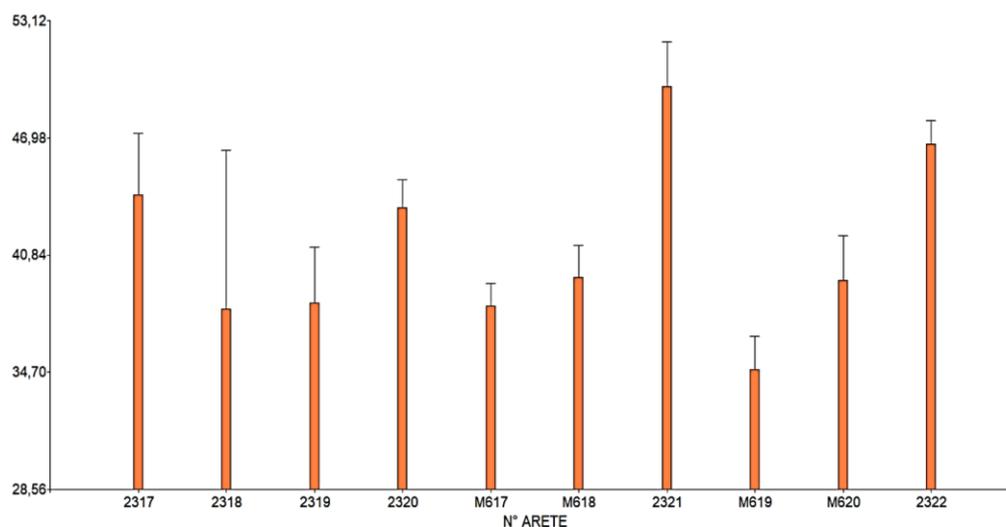
N° arete	Promedio (%)	Error experimental
2321	49,67 a	3,21
2322	46,67ab	8,33
2317	44,00 ab	2,91
2320	43,33 ab	1,45
M618	39,67 ab	2,33
M620	39,50 ab	1,20
2319	38,33 ab	1,17
M617	38,17 ab	1,67
2318	38,00 ab	1,74
M619	34,83 b	2,36

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) con  $n=3$ . Autoría propia.

En la figura 17 se observan diferencias significativas entre los individuos 2321 y M619, con un error experimental de 3,21 y 2,36 respectivamente, donde el individuo M619 obtuvo una media de índice de hematocrito menor a las otras unidades experimentales; sin embargo, entre los individuos 2322, 2317, 2320, M618, M620, 2319, M617 y 2318 no se encontraron diferencias significativas.

## Figura 17

### Comportamiento de medias del índice de hematocrito



Nota. Autoría propia.

En la Tabla 6 se puede observar que el porcentaje de hematocrito de 10 bovinos recién nacidos fue disminuyendo conforme transcurría el tiempo después del nacimiento, con una disminución de 7,29% entre 0 y 24 horas, y del 8,47% entre 24 y 72 horas después del nacimiento.

### Tabla 6

Promedio y error experimental de 10 terneros durante 3 edades (0, 24, 72 horas después del nacimiento).

Edad (horas)	n	Promedio (%)	Error experimental
0	10	44,55 a	1,92
24	10	41,30 ab	1,60
72	10	37,80 b	2,18

Nota. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) con  $n=3$ . Autoría propia.

### Proteínas totales

Con respecto al análisis del contenido de proteínas totales, se realizó la evaluación por medio del test de Tukey al 5% ( $p > 0,05$ ), en el cual se puede observar que los individuos 2320, 2319, M617, M619 y M620 mostraron diferencias significativas en relación a los otros terneros. La información detallada se encuentra en la Tabla 7.

**Tabla 7**

*Promedio y error experimental del parámetro proteínas totales en 10 individuos neonatos.*

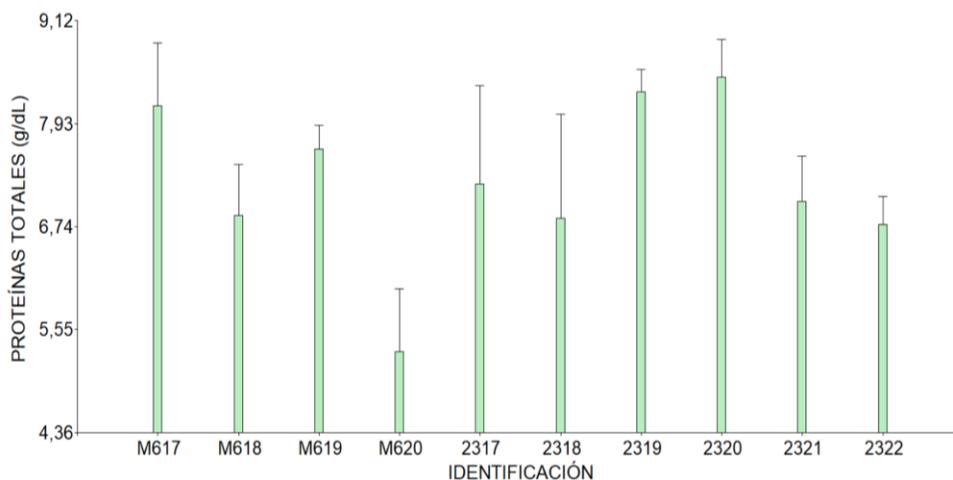
<b>N° Arete</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>
2320	8,47 a	1,13
2319	8,30 a	1,20
M617	8,13 a	0,25
M619	7,63 a	0,44
2317	7,23 ab	0,52
2321	7,03 ab	0,32
M618	6,87 ab	0,73
2318	6,83 ab	0,59
2322	6,77 ab	0,27
M620	5,30 b	0,72

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p>0,05$ ) con  $n=3$ .  
Autoría propia.

En la Figura 18 se visualiza la dispersión de la concentración de proteínas totales (g/dL) en 30 muestras de suero de 10 animales en estudio, evidenciándose que la calidad de calostro consumido por el animal es diferente entre las madres que se encuentran en las mismas condiciones ambientales y sanitarios, bajo los mismos protocolos.

**Figura 18**

*Gráfica de distribución de la concentración de proteínas totales (g/dL) en las muestras de suero de los animales en estudio*



*Nota.* Autoría propia.

En la Tabla 8 se observa las medias de 10 muestras tomadas según el rango por edad de los individuos, el cual demuestra un aumento del 23,78% entre las 0 y 24 horas, y del 5,65% entre 24 y 72 horas posterior al nacimiento, demostrando una diferencia significativa entre este último intervalo.

**Tabla 8**

*Promedio y error experimental en relación al tiempo de toma de la muestra de suero sanguíneo*

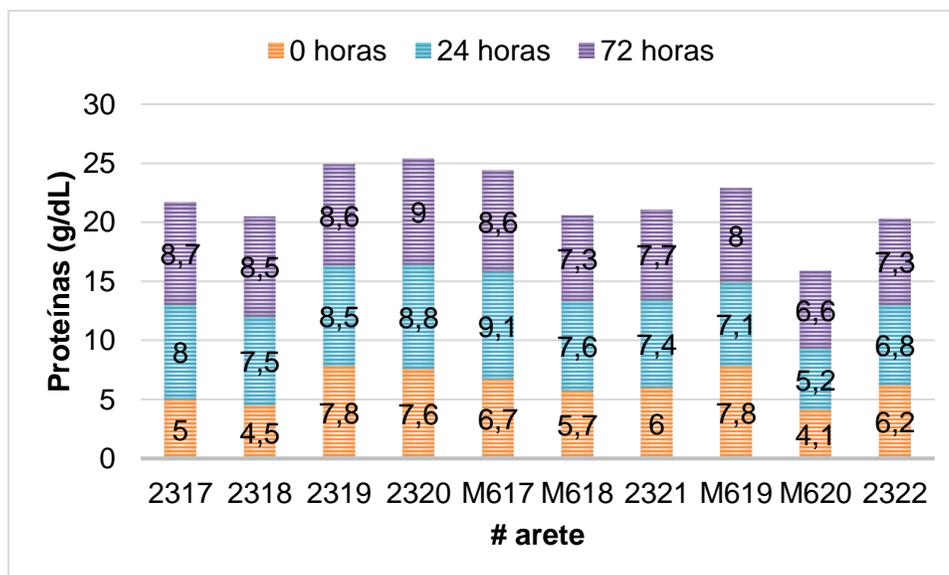
Edad (horas)	n	Promedio (g/dL)	Error experimental
72	10	8,03 a	0,43
24	10	7,60 a	0,36
0	10	6,14 b	0,25

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) con  $n=10$ . Autoría propia.

En la Figura 19 se observa el aumento de la concentración de proteínas en relación al tiempo de toma de las muestras, evidenciándose que durante las 3 edades se da un aumento del contenido.

**Figura 19**

*Comportamiento de la distribución de proteínas según la edad de toma de la muestra*



*Nota.* Autoría propia.

## Carga bacteriana

La carga bacteriana en los terneros, se evaluó mediante el análisis de Tukey al 5%, pudiendo determinarse que la carga bacteriana es independiente de la edad del animal.

En la tabla 9 se puede observar que existe una correlación entre la edad del ternero y el conteo de carga bacteriana (UFC/g), contadas en placas de Petrifilm™ en una dilución  $10^{-2}$  en un medio peptona al 0,1%.

**Tabla 9**

*Correlación entre la variable carga bacteriana y edad de la toma de la muestra.*

	<b>Carga bacteriana <math>10^{-2}</math></b>	<b>Crecimiento (UFC/g); 37°C/24h</b>	<b>Edad (horas)</b>
Carga bacteriana $10^{-2}$	1,00	0,00	0,00
Crecimiento (UFC/g); 37°C/24h	1,00	1,00	0,00
Edad (horas)	0,75	0,75	1,00

*Nota.* Autoría propia.

En la Tabla 10 se puede observar que la variable número de las frecuencias de carga bacteriana no muestran diferencias significativas entre individuos.

**Tabla 10**

*Promedio y error experimental de 10 individuos en relación a la cantidad de colonias bacterianas encontradas en 30 muestras.*

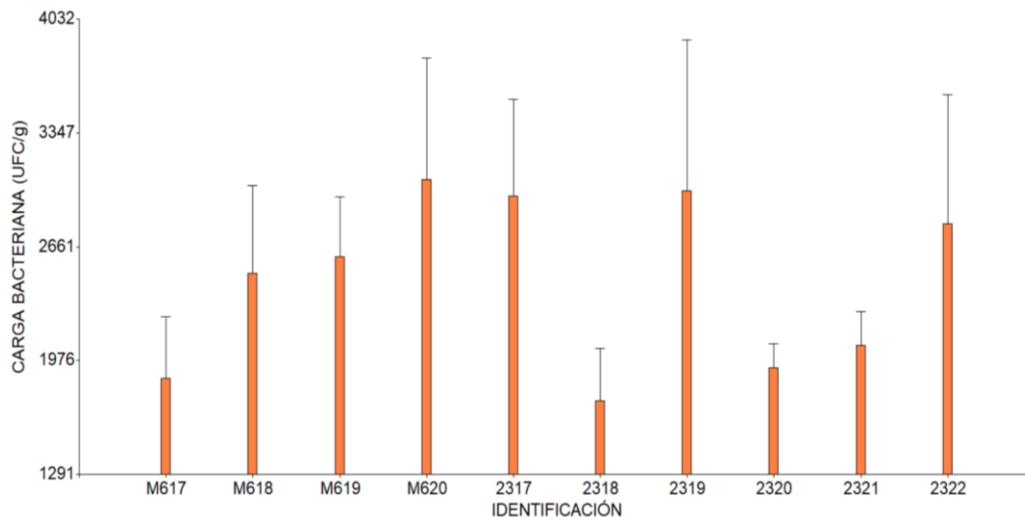
<b>N° arete</b>	<b>Promedio</b>	<b>Error experimental</b>
M620	3066,67	581,19
2319	3000,00	317,98
2317	2966,67	907,38
2322	2800,00	145,30
M619	2600,00	202,76
M618	2500,00	776,75
2321	2066,67	371,18
2320	1933,33	529,15
M617	1866,67	360,56
2318	1733,33	731,06

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) con  $n=3$ . Autoría propia.

En la figura 20 se visualiza la distribución de medias en relación a las variables carga bacteriana (UFC/g) en muestras de heces de 10 individuos, observando que es independiente del número de partos de las madres, puesto que los individuos 2317 y M620; 2320, M618, 2321, M619, 2322; 2318 y M617; y 2319, provienen de madres de 1, 2, 3 y 4 partos.

**Figura 20**

*Disposición de carga bacteriana en cada individuo, con media de 3 repeticiones por individuo*



*Nota.* Autoría propia

En la Tabla 11 se puede observar la cuantificación de carga bacteriana de los individuos son estadísticamente diferentes, con un aumento del 37,28% entre las 0 y 24 horas, y del 44,39% entre 24 y 72 horas, posteriores al nacimiento, determinándose aumento exponencial de las colonias bacterianas conforme aumentan los días de vida.

**Tabla 11**

*Promedio y error experimental de 30 muestras tomadas de 10 individuos, en 3 intervalos de edad*

EDAD	n	Promedio	Error experimental
72	10	3350,00	80,90
24	10	2320,00	156,20
0	10	1690,00	304,14

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) con  $n=10$ . Autoría propia.

En la Tabla 12 se puede observar el crecimiento de colonias bacterianas de coliformes totales, dividido en sexo y edad de la toma de muestras, determinándose comparaciones entre sexos y edad del individuo, evidenciándose que, a la edad de 0, 24 y 72 fue mayor en machos con un contenido de crecimiento bacteriano promedio de 1775, 2325 y 3425 UFC/g, respectivamente.

**Tabla 12**

*Promedio de crecimiento bacteriano (UFC/g) por sexo y edad.*

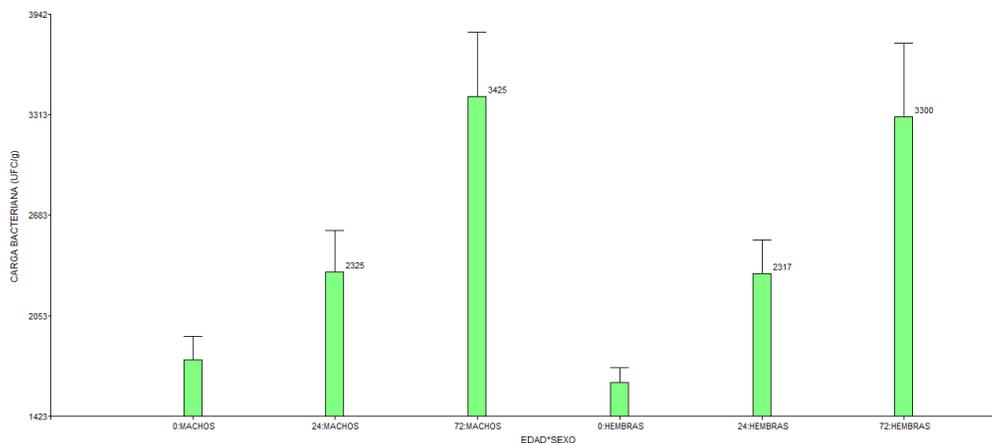
Edad	Sexo	n	Promedio	Error experimental
0	Hembra	6	1633,33	95,45
0	Macho	4	1775	149,3
24	Hembra	6	2316,67	213,57
24	Macho	4	2325	262,6
72	Hembra	6	3300	459,71
72	Macho	4	3425	402,85

Nota. Relación de crecimiento bacteriano (UFC/g) en 3 edades de terneros, dividido según el sexo. Autoría propia.

En la figura 21 se observa la distribución de medias de carga bacteriana relacionando la edad y sexo con la carga bacteriana, con un crecimiento mayor en machos en todas las edades de los individuos en estudio.

**Figura 21**

*Distribución de promedios según la edad de la toma de muestra y sexo del individuo*



Nota. Autoría propia

## Inmunoglobulinas

Para la variable cuantificación de inmunoglobulinas, se realizó la evaluación mediante el test de Tukey con un nivel de confiabilidad del 95%, pudiéndose determinar que durante los tiempos evaluados el contenido de inmunoglobulinas no presento diferencias estadísticas significativas entre muestras de la población. En base a la tabla 13 se puede determinar que el contenido medio máximo de inmunoglobulinas de las 10 unidades en estudio es de 12,26 g/L y un mínimo de 4,19 g/L.

**Tabla 13**

*Promedio y error experimental de 10 unidades experimentales con 3 tiempos*

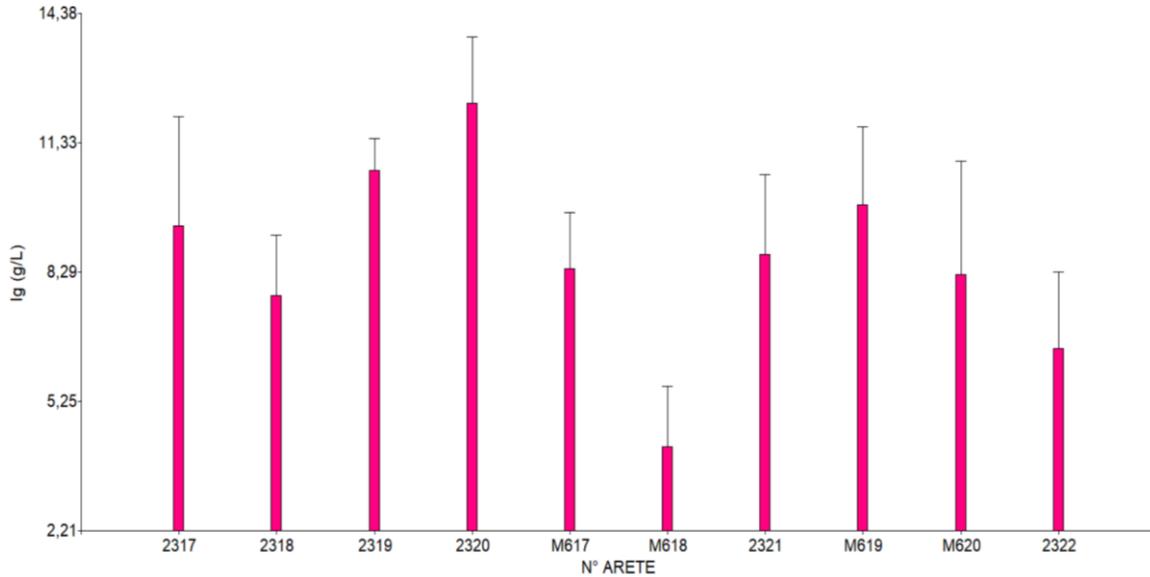
<b>N° arete</b>	<b>Promedio (g/L)</b>	<b>Error experimental</b>
2320	12,26 a	2,56
2319	10,69 ab	1,42
M619	9,88 ab	0,75
2317	9,38 ab	1,56
2321	8,70 ab	1,87
M617	8,37 abc	1,79
M620	8,24 abc	1,34
2318	7,74 bc	1,42
2322	6,51 bc	1,84
M618	4,19 c	2,65

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p>0,05$ ) con  $n=3$ . Autoría propia.

En la figura 22 se puede visualizar la distribución de medias de 10 individuos en 3 tiempos diferentes, bajo las mismas condiciones, sin distinción de sexo, y la misma edad fisiológica. Sin relación de adquisición de Ig según el número de partos de la madre.

## Figura 22

Distribución de medias en gráfico de barras en relación a variables de individuos respecto a inmunoglobulinas



Nota. Autoría propia.

En la tabla 14 se muestran medias y error experimental de 10 muestras, tomadas en 3 días rangos de edad (0, 24 y 72 horas después del nacimiento), con un máximo de 11,63 g/L y un mínimo de 6,09 g/L.

### Tabla 14

Promedio y error experimental en 3 intervalos de edad, de 10 individuos con 3 días de edad

Edad (horas)	Medias (g/L)	Error experimental
72	11,63 a	0,77
24	8,07 b	0,87
0	6,09 c	0,74

Nota. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) con  $n=3$ . Autoría propia.

En la Tabla 15 se observa el promedio de inmunoglobulinas dividido según el sexo y la edad de toma de las muestras, evaluado en 3 tiempos. En el caso de las hembras se obtuvieron 6 unidades experimentales y en el caso de los machos fueron 4 unidades experimentales.

Tanto hembras como machos obtuvieron un promedio de contenido mayor de inmunoglobulinas a las 72 horas. Pero en comparación en sexos el contenido de inmunoglobulinas fue mayor en hembras, con un promedio de 13,15 g/L, y en el caso de machos fue de 11,83 g/L, evidenciándose una transferencia de inmunidad dentro de los rangos.

**Tabla 15**

*Contenido de inmunoglobulinas según la edad y sexo*

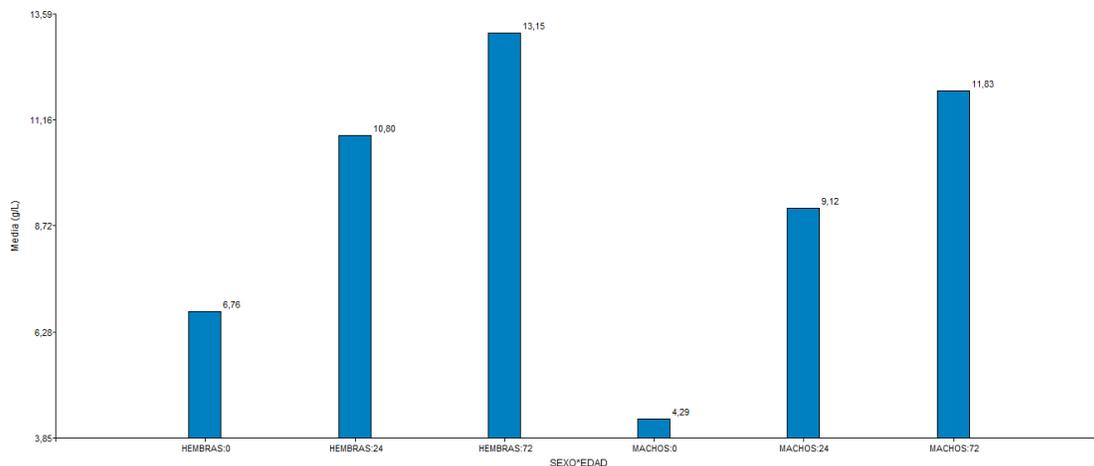
SEXO	Edad	n	Promedio (g/L)	Error experimental
Hembras	72	6	13,15 a	0,77
Hembras	24	6	10,8 a	0,27
Hembras	0	6	6,76 b	0,59
Machos	72	4	11,83 a	0,97
Machos	24	4	9,12 a	0,81
Machos	0	4	4,29 b	1,66

*Nota.* Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p>0,05$ ).  
Autoría propia.

En la figura 23 se puede observar la distribución de medias, dividida según la edad y sexo de los individuos en estudio, evidenciándose que las hembras bovinas en las 3 edades presentan un contenido de inmunoglobulinas superior a los machos bovinos.

**Figura 23**

*Distribución de la estimación de inmunoglobulinas según la edad y sexo*

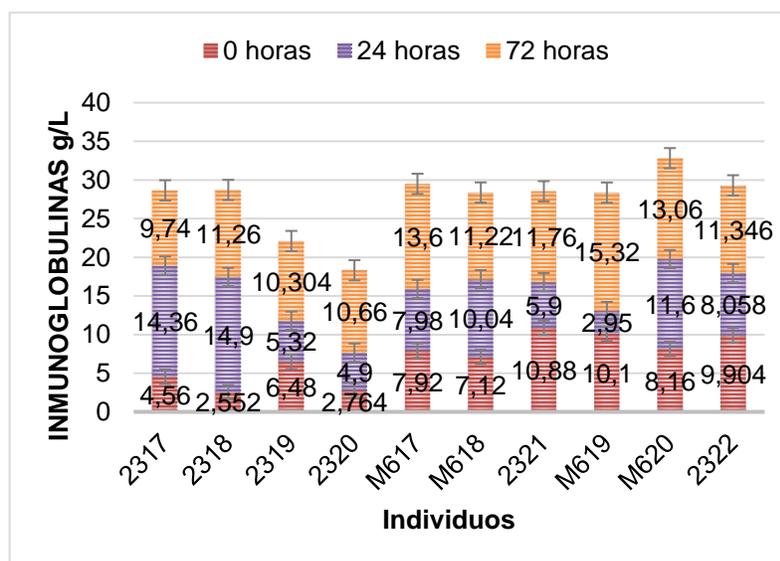


*Nota.* Autoría propia.

En la Figura 24 se observa la distribución de la concentración de inmunoglobulinas de 10 individuos durante los 3 tiempos, evidenciándose que entre el intervalo de 0 y 24 horas el contenido aumenta significativamente en los animales, y a las 72 horas se ve una leve disminución debido a que el animal ya no es provisto de una alta concentración de proteínas.

**Figura 24**

*Comportamiento del aumento de la concentración de inmunoglobulinas de 10 individuos*



Nota. Autoría propia.

En la Tabla 16 se evidencia la distribución de medias según la edad de los individuos estudio, denotándose que en hembras tiene una mayor concentración de inmunoglobulinas, con una diferencia de concentración del 17,87% entre sexos.

**Tabla 16**

*Promedios del parámetro inmunoglobulinas, distribuido por sexos*

Sexo	n	Promedio (g/L)	Error experimental
Hembras	18	10,24 a	0,84
Machos	12	8,41 a	1,03

Nota. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes ( $p > 0,05$ ).  
Autoría propia.

## Discusión

El contenido de hematocrito permite evaluar el estado anímico del animal con la concentración de eritrocitos en la sangre. Según Moreno, (2008), determinó en su estudio que terneros de 1 mes de edad obtuvieron valores de  $35,1345 \pm 7,2$  y  $39,50 \pm 4,28$ ; sin embargo en el presente estudio se obtuvieron 2 valores de 50 y 52 % a la edad de 0 días lo que se podría determinar que es causado por un alto contenido durante transferencia de sangre evidenciándose que desde la madre no hay pérdida de glóbulos rojos por enfermedades y por el estado fisiológico del animal; por otro lado, el promedio de porcentaje de hematocrito de los 3 tiempos evaluados, con una máxima de 49,67 % y una mínima de 34,83 % (Tabla 5), que se encuentran dentro del rango normal mencionado por (Palacios y Narváez, 2018) en su estudio.

El contenido proteico (Inmunoglobulinas) del bovino es un parámetro importante en el metabolismo del animal, pues un valor óptimo se encarga de dar mantenimiento al crecimiento muscular. Según Cullens, (2017) ha demostrado que la proteína total de 5,2 a 5,5 g/dL indica que los terneros han logrado una transferencia pasiva exitosa de inmunidad. Adicional Luna, (2015) en su estudio demostró valores mínimos y máximos de 5,6 g/dL y 11,6 g/dL, concordando con los datos obtenidos en el presente estudio, el cual presento una media mínima 5,30 g/dL y una media máxima de 8,47 g/dL en un período evaluado de 3 edades (0, 24 y 72 horas) (Tabla 7).

Los terneros son individuos carentes de anticuerpos durante el periodo de gestación, pues los mismos son adquiridos mediante el consumo del calostro, el cual les genera inmunidad frente a organismos patógenos. Morin *et al.*, (2021) mencionan que un recuento en placa de <4000 UFC/mL en coliformes como valores normales en el estado de salud del neonato, lo que concuerda con el presente estudio pues se presentan valores máximos de 3066,67 UFC/mL (UFC/g) y un valor mínimo de 1733, 33 UFC/mL (UFC/g), demostrando que los terneros durante los primeros días de vida no se ven afectados por bacterias que afecten

su estado de salud, adicional durante el período de estudio ningún animal presento ninguna enfermedad (Tabla 8).

La inmunidad pasiva adquirida por parte del ternero proviene del consumo del calostro, el mismo que al tener cantidades de inmunoglobulinas altas le confiere una alta inmunidad al recién nacido para que pueda hacer frente a infecciones a los que se encuentra expuesto tras su nacimiento. En estudios realizados por Lorenz *et al.*, (2011) y Cullens, (2017) demostraron que la transferencia pasiva de  $Ig \geq 10$  g/L se considera una transferencia de inmunidad adecuada para el animal, además de relacionarlo con el contenido de proteínas, mismos que denotan que un contenido de proteínas superior a 5,2 g/dL se relaciona con una transferencia de inmunoglobulinas adecuado; en el presente estudio se demostró que existe una relación entre la inmunoglobulina y proteínas totales debido a que mantienen un correlación positiva, con un valor máximo de 12,26 g/L y mínima de 4,19 g/L (Tabla 13).

El contenido de inmunoglobulinas en machos fue menor al de las hembras con un valor de 11, 83 g/L y 13, 15 g/L en hembras, a las 72 horas de nacido; sin embargo, no demostraron diferencias significativas, por lo que determina que la transferencia de inmunidad fue adecuada (Tabla 15). Adicional se puede observar el comportamiento del contenido de inmunoglobulinas a las 24 se observa una disminución de la misma en referencia al valor inicial, para posteriormente subir a un valor que se encuentra dentro del rango, denotando que a las 24 horas el ternero absorbe proteínas, pero no se no se reflejado y, metabólicamente el animal usa las proteínas las cuales se evidencian a las 72 horas con un restablecimiento de las mismas y por consiguiente se evidencia un aumento (Figura 24).

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### Conclusiones

- La estimación de coliformes totales se encontraba por debajo del umbral de daño puesto que el contenido promedio es de 2453,33 UFC/g denotando una carga bacteriana baja que no afecta el estado de salud del becerro; adicional, el contenido de inmunoglobulinas en los individuos evaluados en promedio fue de 11,63 g/L valor que se encuentra dentro del rango optimo, evidenciándose que el calostro consumido por los neonatos era adecuado, además de proveerlo de inmunidad pasiva.
- La cuantificación de carga bacteriana en heces de bovinos neonatos tomados durante 3 intervalos tuvo un promedio de 1690 UFC/g a las 0 horas, 2320 UFC/g a las 24 horas y 3350 UFC/g a las 72 horas; con un error experimental de 3.04, 1.56 y 0.81, respectivamente, sin demostrar diferencias significativas entre machos y hembras.
- El contenido de inmunoglobulinas en machos y hembras no difirió, pero si presentó un aumento significativo entre edades, además el contenido promedio a la edad de 24 horas en machos se encuentra por debajo del rango adecuado; sin embargo, para las 72 horas de nacido en ternero el contenido de inmunoglobulinas fue adecuado, evidenciándose una adecuada transferencia de inmunidad pasiva.

#### Recomendaciones

- Usar metodologías más sensibles como el método ELISA o Inmunodifusión Radial (IDR) para determinación de inmunoglobulinas en suero sanguíneo con una alta especificidad para obtener valores correccionales con la cantidad de proteínas obtenidas en las muestras de una población.

- Realizar un seguimiento en rangos de edad de 40-60 días después del nacimiento para evaluar el aumento o disminución de inmunoglobulinas y su relación en el estado de salud del animal, y contenido de carga bacteriana de los individuos en estudio.
- Considerar un número de animales mayor para poder tener un error mínimo entre los resultados, puesto que un número bajo de individuos no nos ayuda a obtener una variabilidad de resultados.

## Bibliografía

- 3M. (2015). *3M™ Petrifilm™ Simplemente rápidas, precisas y productivas*. Petrifilm Microbiology Indicator Plates. Recuperado el 02 de mayo de 2023 de [https://www.3m.com/3M/en\\_US/p/d/b00013935/](https://www.3m.com/3M/en_US/p/d/b00013935/)
- 3M. (2017). *3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Coliformes*. [Archivo PDF]. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409677O/guia-interpretacion-petrefilm-coliformes.pdf>
- 3M. (2022, septiembre 8). *3M™ Petrifilm™ Placa Recuento Coliformes 6416, Caja con 1,000*. 3M. Recuperado el 05 de mayo de 2023 de [https://www.3m.com.ec/3M/es\\_EC/p/d/v000207861/](https://www.3m.com.ec/3M/es_EC/p/d/v000207861/)
- Abcam. (2023). *Product name Human IgM ELISA Kit*. Recuperado el 16 de mayo de 2023 de <https://www.abcam.com/products/elisa/human-igm-elisa-kit-ab137982.html>
- Aguilar, V. (2004). VI. Reacciones de aglutinación Artemisa medigraphic en línea. *Gaceta Médica de México*, 140(3), 50–52. <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=27364>
- Arancibia, R. (2023). *Manejo del ternero recién nacido*. [Archivo PDF]. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/122560/Manejo-del-ternero-recien-nacido.pdf?sequence=1#:~:text=Se%20recomienda%20sumergir%20el%20cord%C3%B3n,Clorhexidina%20al%200%2C5%25>.
- Araúz, E., Fuentes, A., Batista, J., Ramón, V., y Caballero, S. (2011). Potencial calostropoietico en vacas multíparas 3/4 pardo suizo x 1/4 cebú y perfil químico, inmunológico y energético del calostro secretado en las primeras seis horas después del parto. *RedVet*, 12(9), 2–23. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63621919001.pdf>
- Atlas, R. M., y Parks, L. C. (2022). *Handbook of Microbiological Media*. CRC Press, Inc. London. [Archivo PDF]. <https://www.condalab.com/int/es/medios-de-cultivo-microbiologia/1228-14971-agar-luria-agar-lb-miller.html>

- Bertram, T. A., Ludlow, J. W., Basu, J., y Muthupalani, S. (2013). Digestive Tract. In *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology: Vol. III* (Tercera, pp. 2277–2359). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00056-X>
- Bohlen, J., y Rollin, E. (2018). *Calf Health Basics A core philosophy for protecting calf health*. [https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/B%201500\\_1.PDF](https://secure.caes.uga.edu/extension/publications/files/pdf/B%201500_1.PDF)
- Bottini, J., Simonetti, L., Peña, S., Ghibaudi, M., López, G., Rovegno, M., y Fernández, M. (2021). Comparación de tres métodos para cuantificar proteínas totales en sueros caprinos. In *Revista de Medicina Veterinaria* (Vol. 102, Issue 3, pp. 17–22). [https://www.someve.com.ar/images/revista/2021/Vol102\(3\)/Pag-17-22-Bottini.pdf](https://www.someve.com.ar/images/revista/2021/Vol102(3)/Pag-17-22-Bottini.pdf)
- Casas, M., y Canto, F. (2015). *La importancia del calostro en el bovino*. INIA. [Archivo PDF]. [https://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_bovina\\_de\\_leche/cria\\_artificial/75-importancia\\_del\\_Calostro.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/cria_artificial/75-importancia_del_Calostro.pdf)
- Castaño, E., y Bernal, S. (2015). *Validación del método de ensayo de Coliformes totales y fecales por la técnica de Número más probable (NMP) en la calidad del queso fresco producido a pequeña escala* [Trabajo de titulación, Universidad Libre Seccional Pereira]. <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/16168/VALIDACI%c3%93N%20DEL%20M%c3%89TODO%20DE%20ENSAYO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Castell, J. (2023). *Bioquímica inmunológica*. [Archivo PDF]. [https://www.uv.es/jcastell/2\\_Anticuerpos.pdf](https://www.uv.es/jcastell/2_Anticuerpos.pdf)
- Castrillón, M. (2020). *Indicadores de inmunidad pasiva y activa en neonatos bovinos de madres vacunadas y no vacunadas con una bacteriana comercial* [Trabajo de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. [https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78069/2020-Maria\\_Ines\\_Castrillon\\_Rodriguez.pdf?sequence=5&isAllowed=y](https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78069/2020-Maria_Ines_Castrillon_Rodriguez.pdf?sequence=5&isAllowed=y)

- Coleen, J., y Judío, H. (2022, diciembre 8). Feeding the Newborn Dairy Calf. *PennState Extension*. <https://extension.psu.edu/feeding-the-newborn-dairy-calf#section-4>
- Creek, J. (2022, abril 14). *Inmunoglobulinas: ¿qué son y qué función tienen?* MedlinePlus. Recuperado el 18 de junio de 2023 de <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-de-sangre-de-inmunoglobulinas/#:~:text=Las%20inmunoglobulinas%20tambi%C3%A9n%20se%20conocen,para%20destruir%20s%C3%B3lo%20esas%20sustancias.>
- Cullens, F. (2017, marzo 28). *Using a refractometer to monitor the success of your colostrum program*. Michigan State University Extension. [https://www.canr.msu.edu/news/using\\_a\\_refractometer\\_to\\_monitor\\_the\\_success\\_of\\_your\\_colostrum\\_program#:~:text=Numerous%20research%20studies%20have%20shown,concentration%20%E2%89%A510%20g%2FL.](https://www.canr.msu.edu/news/using_a_refractometer_to_monitor_the_success_of_your_colostrum_program#:~:text=Numerous%20research%20studies%20have%20shown,concentration%20%E2%89%A510%20g%2FL.)
- Dickinson, B. (2013). *BD Endo Agar*. Recuperado el 28 de julio de 2023 de <http://www.bd.com>
- Estill, C. (2023). *The calving process*. Recuperado el 30 de junio de 2023 de <https://anrs.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/anrs/calvingschool-thecalvingprocess.pdf>
- Fecteau, G., Baillargeon, P., Higgins, R., Paré, J., y Fortin, M. (2002). Bacterial contamination of colostrum fed to newborn calves in Québec dairy herds. *Can Vet J*, 43(7). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC341940/>
- Flores, R., y Romero, Á. (2013). *Calidad del calostro y estatus inmunitario de terneras en su primera semana de vida por medio de la densidad de proteínas séricas en cuatro ganaderías lecheras del departamento de Sonsonate, El Salvador* [Trabajo de Investigación, Universidad de El Salvador]. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/5279/>
- Franco, A., Pelaez, R., Trujillo, C., Rojas, J., Correa, N., y Franco, J. (2020). Deficiencia selectiva de inmunoglobulina A: manifestaciones clínicas, hallazgos de laboratorio y

diagnóstico preciso. *CES Medicina*, 34(1), 64–73.

<https://doi.org/10.21615/cesmedicina.34.1.6>

Garboza, F., Frontado, R., Noguera, N., Ávila, H., Ojeda, L., Ramírez, N., Triana, J., y Triana, F. (2011). Uso de medios alternativos a base de hidrolizado de caseína y extracto de *Aspergillus niger* y su efecto sobre la expresión genética de una cepa de *Escherichia coli*. *Scielo*, 31(2). [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562011000200010](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562011000200010)

Google Eart. (2023, marzo 12). *Ubicación IASA I, Sangolquí*. Recuperado el 06 de julio de 2023 de <https://earth.google.com/web/search/IASA,+Sangolqu%c3%ad/@-0.3847475,-78.4147692,2713.75116344a,1056.51565355d,35y,323.93440737h,45t,0r/data=CmEaNxIxCiUweDkxZDViYmJkODY0NDg1MmWI6MHgxOTE2M2EwYmEzZDEzMDIyKghMYWluSUFTQRgCIAEiJgokCXyCuWjXTTRAEXyCuWjXTTTAGfVGqRHxIjHAITtMyxmPv13A>

Grodzki, A. C., y Berenstein, E. (2010). *Antibody Purification: Ammonium Sulfate Fractionation or Gel Filtration* (Vol. 588, pp. 15–26). [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-324-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-324-0_3)

Guerra, J. (2023, junio 30). *Conozca los síntomas y las etapas del parto de la vaca*. CONtextoganadero. Recuperado el 18 de julio de 2023 de <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/conozca-los-sintomas-y-las-etapas-del-parto-de-la-vaca>

Heras, T., Enríquez, I., Gaxiola, S., Romo, J., Anne, P., y Barajas, R. (2016). Comportamiento de *Escherichia coli* en heces de vacas adicionadas con taninos hidrolizables. *Abanico Veterinario*, 6(3). <https://doi.org/10.21929/abavet2016.63.4>

- Herrera, Y., Brunal, E., Campillo, J., Rugeles Pinto, C., y Martínez, N. (2018). Perfil proteico en vacas lactantes y novillas de vientre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 10(2), 179–183. <https://doi.org/10.24188/recia.v10.n2.2018.624>
- Hrković, A., Softić, A., y Mahmutbegović, E. (2013). Hematological parameters in calves on farm breeding. *Veterinaria*, 62(4), 185–192. <https://journal.veterinaria-sarajevo.com/vfs/index.php/journal/article/view/203/160>
- Kertz, A. F., Hill, T. M., Quigley, J. D., Heinrichs, A. J., Linn, J. G., y Drackley, J. K. (2017). A 100-Year Review: Calf nutrition and management. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10151–10172. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13062>
- Loo, K. (2022). Aspectos claves sobre las inmunoglobulinas, un elemento fundamental para la salud de las becerras. <https://ganaderiasos.com/wp-content/uploads/2023/03/ASPECTOS-CLAVES-SOBRE-INMUNOGLOBULINAS-UN-ELEMENTO-FUNDAMENTAL-PARA-LA-SALUD-DE-LAS-BECERRAS-.pdf>
- Lorenz, I. (2021). Calf health from birth to weaning - an update. *Irish Veterinary Journal*, 74(1). <https://doi.org/10.1186/s13620-021-00185-3>
- Lorenz, I., Mee, J. F., Earley, B., y More, S. J. (2011). Calf health from birth to weaning. I. General aspects of disease prevention. In *Irish Veterinary Journal* (Vol. 64, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/2046-0481-64-10>
- Luna, S. (2015). *Niveles de proteínas séricas totales en terneros híbridos de carne y su relación con indicadores sanitarios y productivos* [Proyecto de Investigación, Universidad de Chile]. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/140710/Niveles-de-proteinas-sericas-totales-en-terneros-hibridos-de-carne-y-su-relacion-con-indicadores-sanitarios-y-productivos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Miceli, G., Alvarado, M., Moyano, R., y Travería, G. (2019). Determinación de proteínas: un recurso diagnóstico para evaluar sueros de bovinos con paratuberculosis. *Analecta Veterinaria*, 39(2). <https://doi.org/10.24215/15142590e037>
- Mobley, G. (2022). *Ranching*. Recuperado el 22 de junio de 2023 de <https://education.nationalgeographic.org/resource/ranching/>
- Moredo, F. A., Larsen, A. E., y Stanchi, N. O. (2018). *Patogenicidad microbiana en Medicina Veterinaria* (Vol. 1, pp. 30–75). <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/view/1106/1091/3579-1>
- Moreno, F., Builes, J., y Cadavid, J. (2008). *Evaluación de 30 parámetros hemáticos en bovinos Bos indicus en los municipios de San Juan de Urabá y Arboletes del Uraba Antioqueño* [Trabajo de investigación, Universidad Centros de Estudios en Salud]. [https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/1000/Evaluacion\\_parametros\\_hemalitos.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/1000/Evaluacion_parametros_hemalitos.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Morin, M. P., Dubuc, J., Freycon, P., y Buczinski, S. (2021). Short communication: Diagnostic accuracy of the Petrifilm culture system for identifying colostrum with excessive bacterial contamination in Quebec dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4923–4928. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19474>
- Novello, A. (2023). *Coliform Bacteria in Drinking Water Supplies*. Recuperado el 11 de julio de 2023 de [https://www.cattco.org/sites/default/files/downloads/environmental-health/coliform\\_bacteria\\_brochure\\_12-1-04\\_0.pdf](https://www.cattco.org/sites/default/files/downloads/environmental-health/coliform_bacteria_brochure_12-1-04_0.pdf)
- Padullés, N., Jórdar, R., y Montoro, B. (2013). *Características técnicas de las inmunoglobulinas intravenosas comercializadas en España* (Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria & Grupo Español de Medicamentos Hemoderivados (GEMEH), Eds.). [https://gruposedetrabajo.sefh.es/gemeh/images/monografia\\_2013\\_film\\_web2.pdf](https://gruposedetrabajo.sefh.es/gemeh/images/monografia_2013_film_web2.pdf)

- Páez, A. (2015). *Concentración de Inmunoglobulinas de calostro bovino utilizando tecnologías de membranas*. [Trabajo de titulación, Universidad Politécnica Salesiana].  
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9413/1/UPS-QT07127.pdf>
- Páez, P. (2010). *Comportamiento del metabolismo hem en neonatos bovinos bajo condiciones experimentales en trópico bajo* [Trabajo de Posgrado, Universidad Nacional de Colombia].  
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/7061/7409004.2010.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Palacios, E., y Narváez, J. (2018). Estudio exploratorio de valores hematológicos en terneras Holstein Frisian mestizas, durante los primeros seis meses de vida. *Maskana*, 9(1), 51–58. <https://doi.org/10.18537/mskn.09.01.06>
- Phillips, M. (2022, junio 5). *Coprocultivo*. MedlinePlus. Recuperado el 29 de julio de 2023 de <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003758.htm>
- Roca, J. (2020, agosto 27). *Placas 3M™ Petrifilm™, una opción sostenible*. Bioser. Recuperado el 16 de mayo de 2023 de <https://www.bioser.com/placas-3m-petrefilm-una-opcion-sostenible/>
- Rodríguez, J., Colla, C., Ginés, M., Osorio, J., y Schröder, G. (2018). *El uso del refractómetro en el Laboratorio Clínico Veterinario MANUAL* (Primera, Vol. 2).  
<https://rehip.unr.edu.ar/bitstream/handle/2133/17232/El%20uso%20del%20refract%C3%B3metro.%20Cl%C3%ADnico%20Veterinario%20MANUAL%20%20JOAQU%C3%8DN%20V.%20RODR%C3%8DGUEZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Rossi, A. (2021). Mac Conkey Agar. In *Britania*. Recuperado el 08 de agosto de 2023 de [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60707267ecda2.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707267ecda2.pdf)
- Rubio, G. (2018). *Enzimoimmunoensayo (ELISA) para la cuantificación de IgA en saliva*. Recuperado el 01 de junio de 2023 de <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

- Ruiz, U. (2019). *Guía de técnicas Inmunológicas*. Recuperado el 19 de junio de 2023 de <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-01/GUIA%20DE%20TECNICAS%20INMUNOLOGICAS%202020.pdf>
- Sánchez, Á. (2020). ¿Qué cuidados necesita un ternero recién nacido? *RumiNews*. Recuperado el 02 de julio de 2023 de <https://rumiantes.com/cuidados-necesita-ternero-recien-nacido/#:~:text=El%20ternero%20reci%C3%A9n%20nacido%20debe,o%20aerosol%3B%20existen%20m%C3%A1s%20productos.>
- Sigua, J. (2019). *Determinación de valores referenciales en hemograma y química sanguínea en bovinos hembras de raza Holstein en condiciones de altitud* [Trabajo de titulación, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18240/1/UPS-CT008663.pdf>
- Swistock, B. (2020). *Bacterias Coliformes*. Recuperado el 25 de mayo de 2023 de <https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes>
- Swistock, B., y Sharpe, W. (2022). *Coliform Bacteria*. Recuperado el 25 de mayo de 2023 de <https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes>
- Torres, M. (2023). *Purificación y cuantificación de Inmunoglobulinas*. [Archivo PDF]. <https://www.jove.com/es/pdf/3084/jove-protocol-3084-igy-technology-extraction-chicken-antibodies-from-egg-yolk>
- Vela, D. (2022). *Fecundación, gestación y parto*. Recuperado el 14 de julio de 2023 de [https://docs.google.com/presentation/d/1a0QvCyn7FVqI9vvp71EdPe3HS0m\\_rBs4prmYVjc6AYM/edit](https://docs.google.com/presentation/d/1a0QvCyn7FVqI9vvp71EdPe3HS0m_rBs4prmYVjc6AYM/edit)
- Vivanco, E. (2022). *Guidelines for drinking-water quality*. [Archivo PDF]. [https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/33469/1/BCN\\_normas\\_calidad\\_de\\_agua\\_coliformes\\_2022\\_FINAL.pdf](https://obtienearchivo.bcn.cl/obtienearchivo?id=repositorio/10221/33469/1/BCN_normas_calidad_de_agua_coliformes_2022_FINAL.pdf)

Ybalmea, R. (2015). Alimentación y manejo del ternero, objeto de investigación en el Instituto de Ciencia Animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 49(2), 1–13.

<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193039698003>

Yepes Mejía, M., y Prieto Quevedo, C. (2011). *Relación de la concentración de proteína sérica, la calidad de calostro y la ganancia de peso en terneros lactantes en hatos de la sabana de Bogotá* [Trabajo de grado, Universidad de La Salle].

<https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/112>

Zuñiga, I. (2014). *Obtención y purificación de anticuerpos policlonales específicos contra el contaminante emergente estreptomina* [Trabajo de grado, Universidad Autónoma de Aguascalientes].

<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/279/396599.pdf?sequence=1&isAllowed=y>