



Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras de 21 hasta 40 días de edad en la hacienda “El Prado”

Quishpi Rodríguez, Efren Isaías

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando Mgtr.

04 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 de 21 hasta 40 días de edad en la hacienda El Prado**", fue realizado por el señor: **Quishpi Rodríguez, Efren Isaías**; 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, 04 de septiembre del 2023

EDWIN ORLANDO PINO PANCHI
Firmado digitalmente por
EDWIN ORLANDO PINO
PANCHI
Fecha: 2023.09.04 15:00:37
-05'00'

Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando Mgtr.

C. C. 0502295983

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



Quishpi Efren_TIC.docx

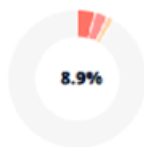
Scan details

Scan time:
September 4th, 2023 at 19:31 UTC

Total Pages:
30

Total Words:
7452

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
● Identical	4.3%	317
● Minor Changes	3%	221
● Paraphrased	1.6%	122
● Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage
● AI text
○ Human text

EDWIN ORLANDO PINO PANCHI
Firmado digitalmente por EDWIN ORLANDO PINO PANCHI
Fecha: 2023.09.04 15:03:55 -05'00'

Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando Mgtr.

C. C. 0502295983



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Quishpi Rodríguez Efren Isaías**, con cédula de ciudadanía No. 17245162623, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras de 21 hasta 40 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, 04 de septiembre del 2023

Quishpi Rodríguez, Efren Isaías

C.C.: 1724516263



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo, **Quishpi Rodríguez, Efren Isaías**, con cédula de ciudadanía No. 1724516263, 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 de 21 hasta 40 días de edad en la hacienda El Prado”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 04 de septiembre del 2023

Quishpi Rodríguez, Efren Isaías

C.C.: 1724516263

Dedicatoria

A mis padres, Rodrigo y Milena por su gran esfuerzo moral, sentimental y económico que en todo el trayecto universitario siempre estuvo presente, y me ayudaron a seguir desarrollando mis proyectos, dándome los mejores consejos, guiándome y haciéndome una persona de bien.

A mis hermanas, Rebeca y Mayte, que siempre han sido una motivación de seguir en adelante, nunca rendirme en los estudios y poder llegar a ser un ejemplo para ellas.

A mi novia, Lorena por el apoyo que siempre me brindo desde que la conocí y su confianza depositada en mí.

A mis mejores amigos, Alexis y José por siempre estar presente, su valiosa amistad y colaboración fueron primordiales en cada etapa universitaria.

Y todas las personas que colaboraron con su granito de arena, gracias a cada uno por su gran apoyo en los momentos de adversidad con mucho cariño y gratitud.

Efren Isaías Quishpi Rodríguez

Agradecimiento

Mis más sinceros agradecimientos a:

Mis educadores, Dr. Edwin Pino y Ing. Diego Vela por ser excelentes maestros y compartir los conocimientos y experiencia a las nuevas generaciones de profesionales que se gradúan de la Carrera.

Ing. Jeniffer Cuenca, por la predisposición y facilidades prestadas al momento de realizar el trabajo de investigación.

Al personal de apoyo y trabajadores de la hacienda “El Prado” por su excelente contribución y participación en todas las actividades de campo realizadas.

Al personal técnico de los laboratorios de, Mejoramiento Genético y Sanidad Animal de la Carrera Agropecuaria IASA – I, de Inmunología y Virología de la Carrera de Biotecnología y al Centro de Nanociencia y Nanotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE por su gran apoyo en la implementación de las técnicas diagnósticas serológicas y por ser parte de mi formación académica y profesional.

Efren Isaías Quishpi Rodríguez

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
Agradecimiento	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas	11
Índice de figuras	11
Resumen	12
Abstract	13
CAPÍTULO I.....	14
INTRODUCCIÓN	14
Antecedentes.....	14
Justificación	14
Objetivos	15
<i>Objetivo General</i>	15
<i>Objetivos Específicos</i>	15
Hipótesis	15
CAPÍTULO II.....	16
REVISIÓN DE LITERATURA.....	16
Transferencia de inmunidad pasiva	16
Desarrollo del sistema inmune en las primeras semanas de vida	16
Composición sérica de los terneros	17

Proteínas Totales	17
<i>Fibrinógeno</i>	17
<i>Albúmina</i>	17
<i>Globulinas</i>	18
Inmunoglobulinas	18
Relación de los niveles de inmunoglobulinas en terneros y la salud de los terneros	19
<i>Inmunoglobulina G</i>	20
<i>Inmunoglobulina A</i>	20
<i>Inmunoglobulina M</i>	20
Precipitación por sulfato de amonio	20
BSA (Ácido Bicinconónico).....	21
Hematocrito	22
Coliformes.....	22
<i>Cultivo de coliformes</i>	23
Factores que influyen en la contaminación de coliformes en terneros	23
Consecuencias de la exposición a coliformes en terneros jóvenes	24
Factores que afectan la carga bacteriana de coliformes en terneros	24
CAPÍTULO III	25
METODOLOGÍA	25
Ubicación del lugar de investigación	25
<i>Ubicación política</i>	25
<i>Ubicación geográfica</i>	25
<i>Ubicación ecológica</i>	26
Condiciones generales	26
Determinación del tamaño de muestra	26
Obtención de muestras	27

<i>Materiales, reactivos y equipos utilizados</i>	27
<i>Obtención de muestras sanguíneas</i>	28
<i>Obtención de muestras fecales</i>	28
Trabajo de Laboratorio	28
Obtención de suero sanguíneo	29
<i>Materiales, reactivos y equipos</i>	29
<i>Procedimiento</i>	29
Prueba del Hematocrito.....	30
<i>Materiales, reactivos y equipos</i>	30
<i>Procedimiento</i>	30
Prueba de Proteínas Totales.....	31
<i>Materiales, reactivos y equipos</i>	31
<i>Procedimiento</i>	31
Coprocultivo de heces	32
<i>Materiales, reactivos y equipos</i>	32
<i>Procedimiento para coprocultivo de coliformes</i>	32
Análisis estadístico	33
CAPÍTULO IV	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
CAPÍTULO V	40
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
Conclusiones	40
Recomendaciones.....	41
Bibliografía	42

Índice de tablas

Tabla 1 Estadística descriptiva de muestras de suero con relación a la cantidad de inmunoglobulinas G	17
Tabla 2 <i>Número de muestras por sexo</i>	34

Índice de figuras

Figura 1 <i>Estructura de una inmunoglobulina o anticuerpo</i>	19
Figura 2 <i>Complejo Cu – BCA en la prueba de análisis de proteínas</i>	21
Figura 3 <i>Placas Petrifilm™ 3M™ CC (6410)</i>	23
Figura 4 <i>Vista aérea del lugar de la investigación</i>	25
Figura 5 <i>Toma de muestras sanguíneas y fecales en terneros</i>	28
Figura 6 <i>Purificación de proteínas mediante sulfato de amonio</i>	30
Figura 7 <i>Carta de lectura de hematocrito</i>	31
Figura 8 <i>Asociación de la cantidad de coliformes respecto a los niveles de hematocrito</i>	34
Figura 9 <i>Asociación de la cantidad de coliformes respecto a la cantidad de proteínas totales mediante refractometría</i>	35
Figura 10 <i>Asociación de la cantidad de coliformes con la cantidad de proteínas mediante espectrofotometría</i>	36
Figura 11 <i>Asociación de la cantidad de coliformes con la cantidad de proteínas mediante ácido Bicinconínico (BCA)</i>	37
Figura 12 <i>Correlación entre de la cantidad de proteínas medidas por espectrofotometría y refractometría</i>	38
Figura 13 <i>Correlación entre de la cantidad de proteínas medidas por ácido bicinconínico y refractometría</i>	39

Resumen

La sanidad es uno de pilares fundamentales en la crianza del ganado bovino, junto con la nutrición y las instalaciones; procura sobre todo un bienestar animal en condiciones físicas y psicológicas adecuadas, para que el animal pueda mostrar un comportamiento natural dentro del lugar que se desarrolla y, por lo tanto, conllevar a una mejora en el desarrollo de la producción agropecuaria. En el presente trabajo de investigación se desarrolló en colaboración con la hacienda "El Prado". Se muestrearon 10 terneros en dos muestras (21 y 31 días) para comprender la importancia de la relación de los niveles de hematocrito y cantidad de proteínas (mg/mL) cuantificados en tres tipos de análisis (refractometría, espectrofotometría y ácido bicinonínico) presentes en suero sanguíneo con relación a la cantidad de coliformes en las heces (UFC/g), bajo un diseño observacional; para ello se ha realizado una correlación *Spearman* de los valores a través del programa *InfoStat*.

Se encontró una correlación nula entre la cantidad de proteína y las UFC de coliformes ($r = 0,4985$; $r = - 0,3343$; $r = 0,585$; en sus respectivos análisis), por lo tanto, se concluye que los valores no tienen relación y son independientes.

Palabras clave: TERNEROS, SUERO, COLIFORMES, INMUNOGLOBULINA.

Abstract

Health is one of the fundamental pillars in raising cattle, along with nutrition and facilities; above all, it seeks animal welfare in adequate physical and psychological conditions, so that the animal can show a natural behavior within the place where it develops and, therefore, lead to an improvement in the development of agricultural production. In the present research work was developed in collaboration with "El Prado" farm. 10 calves were sampled in two samples (21 and 31 days) to understand the importance of the relationship between hematocrit levels and amount of protein (mg/mL) quantified in three types of analysis (refractometry, spectrophotometry and bicinchoninic acid) present in blood serum in relation to the amount of coliforms in feces (UFC/g), under an observational design; for this, a *Spearman* correlation of the values has been carried out through the InfoStat program.

A null correlation was found between the amount of protein and the CFU of coliforms ($r = 0,4985$; $r = - 0,3343$; $r = 0,585$; in their respective analyses), therefore, it is concluded that the values do not have relationship and are independent.

Keywords: CALVES, SERUM, COLIFORMS, IMMUNOGLOBULIN.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Para el año 2022 en Ecuador, la población de bovinos es de 3'860.493 para la producción de carne y leche, de los cuales el 25,50% pertenece a ganado vacuno de menos de 1 año de edad (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2023); que por sus bajas defensas en el sistema inmunológico en el momento del parto pueden padecer enfermedades infecciosas como la colibacilosis que causa diarreas acuosas amarillentas y signos de deshidratación (Gaggianesi, 2016).

La mayoría de las pérdidas de terneros ocurren durante el parto y en los primeros 7 días de vida. Algunos estudios demuestran que las pérdidas para hatos bovinos de carne varían del 3 al 8% (Campero, 1998).

Para ello, las inmunoglobulinas juegan un papel fundamental en el encalostamiento y son esenciales para la salud del ternero recién nacido. Los terneros al nacer presentan una nula cantidad de inmunoglobulinas en su suero sanguíneo y dependen del calostro para adquirir inmunidad y protección frente a las diferentes enfermedades (Altemeier y Hernández, 2020).

Justificación

En los sistemas de producción bovina, la repercusión por enfermedades digestivas en rumiantes lactantes es de suma importancia, ya que puede generar costos para mantención de la buena salud del animal, y en los productos que genera la industria como carnes y productos lácteos.

Los terneros recién nacidos son muy susceptibles a infecciones ambientales y pueden desarrollar enfermedades como la onfaloflebitis y la diarrea neonatal. Estas enfermedades son las más comunes y pueden tener altas tasas de mortalidad. La salud del animal y la producción

de la granja pueden verse comprometidas si estas enfermedades no se tratan adecuadamente (Gomes, 2022).

Objetivos

Objetivo General

- Estimar la cantidad de coliformes e inmunoglobulinas en terneros machos y hembras de 21 hasta 40 días de edad.

Objetivos Específicos

- Determinar la carga bacteriana de coliformes presente en muestras de heces de terneros mediante placas Petrifilm 3M.
- Analizar el nivel de inmunoglobulinas presentes en suero sanguíneo de terneros mediante tres métodos analíticos refractometría, espectrofotometría y BCA.
- Determinar si existe una relación entre la carga microbiana de heces y el nivel de inmunoglobulinas en terneros de 21 y 31 días de edad.

Hipótesis

H₀: No existe asociación entre cantidad de coliformes e inmunoglobulinas en la salud de los terneros de 21 y los 31 días de edad.

H₁: Existe asociación entre cantidad de coliformes e inmunoglobulinas en la salud de los terneros de 21 y los 31 días de edad.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Transferencia de inmunidad pasiva

Los bovinos recién nacidos se inmunizan por medio del calostro suministrado de la madre, siendo un mecanismo complejo, limitado en cantidad y tiempo; y la falla en la transferencia de inmunoglobulinas se refleja por una concentración sérica menor a 10 mg/mL (Valdivia y Martínez, 1996).

La transferencia inadecuada de inmunoglobulinas muestra bajas ganancias de peso, en los primeros meses de vida, desarrollo de enfermedades y, por lo tanto, mayores tasas de mortalidad. Estas condiciones afectan también la productividad a largo plazo, bajando la cantidad de leche en una primera y segunda lactancia, por lo tanto, en mayor descarte de vacas (Elizondo, 2016).

La placenta de los rumiantes no permite el paso de inmunoglobulinas (Igs) desde la sangre de la vaca, hacia el ternero, el cual nace hipogammaglobulinémico dependiendo enteramente de los anticuerpos suministrados en el calostro, quienes combaten infecciones de patógenos durante las primeras horas de vida (Blanco *et al.*, 2021).

Desarrollo del sistema inmune en las primeras semanas de vida

El rumen de los terneros se encuentra estéril al momento del parto y la fuente de los microorganismos que lo componen, proceden de varias fuentes como es el contacto con el medio ambiente y el alimento (calostro), entre ellas son: enterobacterias, *E. coli*, *Enterococcus*, *Bacillus* esporulados, *Clostridium perringens* (Palencia *et al.*, 2005).

Después del primer día de vida del ternero, la absorción intestinal cambia, impidiendo la entrada de inmunoglobulinas y de igual manera evitando la entrada de energía, proteínas, vitaminas y minerales que ayudan a la eliminación del meconio (Chávez, 2023).

Composición sérica de los terneros

Proteínas Totales

Las proteínas son sustancias complejas que tienen un papel vital en la estructura y función de las células vegetales como animales; son formadas por compuestos nitrogenados llamados aminoácidos (Brandan *et al.*, 2008).

Las proteínas están disueltas en el plasma sanguíneo, y al medir la concentración se puede obtener información sobre los estados de la enfermedad (Busher, 1990).

En la Tabla 1 se presenta, el análisis de proteína total en suero medido por refractometría digital y la concentración de IgG cuantificado mediante el ensayo de inmunodifusión radial en 397 muestras de sangre bovina.

Tabla 1

Estadística descriptiva de muestras de suero con relación a la cantidad de inmunoglobulinas G

Ítem	Media	Desviación Estándar (SD)	Maximo	Mínimo
Proteína Total en suero (g/dL)	6,0	0,8	8,8	4,4
IgG (g/L)	24,1	10,0	59,1	2,1

Nota. Adaptado de Deelen *et al.*, (2014).

Fibrinógeno

Componente de la sangre que se forma en el hígado y juega un papel importante en la coagulación sanguínea, esta es liberada cuando el organismo sufre una lesión, y que junto a las plaquetas se adhieren a los tejidos lacerados para impedir o limitar el sangrado (Sociedad Española de Medicina de Laboratorio [SEQC], 2021).

Albúmina

Es el componente más abundante en el plasma, responsable de la presión coloidal-osmótica del plasma y también transporta 16 sustancias que se unen a ellas como hormonas,

vitaminas, bilirrubina, medicamentos, etc., esta representa el 50% de todas las proteínas en sangre (Brandan *et al.*, 2008).

Globulinas

Proteínas producidas principalmente en el hígado y en los linfocitos, insolubles en agua ni en soluciones salinas muy saturadas; se encuentra 3 tipos (Clínica Universidad de Navarra, 2023):

- α (alfa): transportadoras del angiotensinógeno, de las vitaminas liposolubles y del cobre.
- β (beta): transportadora de transferrina, vitaminas y hormonas.
- γ (gamma): son anticuerpos predecesores de la respuesta inmune.

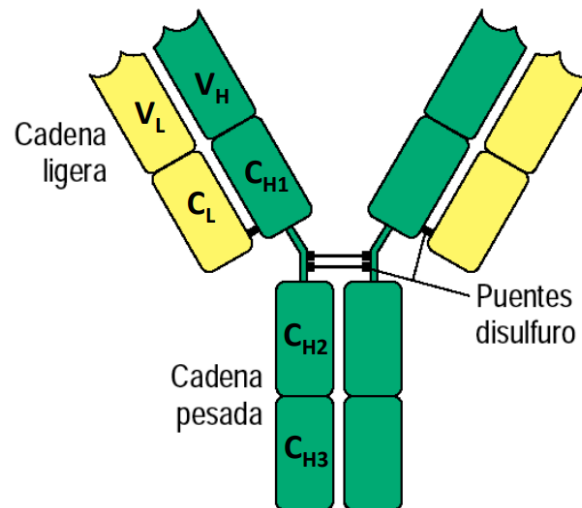
Inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas (Igs), definidos también como gammaglobulinas, son proteínas fundamentales para el torrente sanguíneo y en otros fluidos biológicos, como las lágrimas, la saliva y en el líquido sinovial influyendo directamente en el equilibrio del sistema inmunitario (Biotest, 2023).

Las inmunoglobulinas (Igs), son compuestos producidos por las células terminales en la diferenciación de los linfocitos B conocidas como células del plasma, tienen un papel importante en la inmunidad humoral, soluble en líquidos biológicos o unido a la membrana de los linfocitos B; estas existen 5 clases: Inmunoglobulina G (IgG), inmunoglobulina A (IgA), inmunoglobulina D (IgD), inmunoglobulina E (IgE) y la inmunoglobulina M (IgM). La más abundante de las cinco es la IgG (85%), con un peso molecular de 150 kDa que está presente en el suero (Peña, 2023). En la Figura 1, se muestra los componentes básicos de un anticuerpo.

Figura 1

Estructura de una inmunoglobulina o anticuerpo



Nota. Adaptado de Merino y Noriega, 2020.

El papel que desempeñan es evitando la unión de antígenos que destruyen células del organismo, para lo cual recubren y aglutinan estos compuestos favoreciendo la fagocitosis por macrófagos y neutrófilos (Villasante, 2021).

La estructura de las inmunoglobulinas son proteínas globulares que presentan un gran peso molecular, formadas 2 cadenas pesadas H (*heavy*) y dos cadenas ligeras L (*light*), unidas por dos puentes disulfuro entre cadenas H y una entre cadena H y L. Existen dos tipos de cadenas L (λ y κ) y cinco tipos de cadenas H (α , γ , μ , δ y ϵ), lo que da como resultado los cinco isótopos de inmunoglobulina disponibles (A, D, E, G y M) (Junta de Andalucía, 2020).

Relación de los niveles de inmunoglobulinas en terneros y la salud de los terneros

La ingesta de un calostro de calidad mejora el estado de salud de los recién nacidos y su posterior supervivencia a lo largo de sus primeros días de vida, depende meramente de la cantidad de inmunoglobulinas presente en sangre, siendo considerado como valores óptimos de 10 g/L, tomándose como mínimo 8 g/L (Galías y Harguindeguy, 2004).

Inmunoglobulina G

Es la molécula más importante producida por los linfocitos B y se distribuyen al torrente plasmático como anticuerpos (RumiNews, 2020). Representa un 75% del total de inmunoglobulinas en el organismo, y su función principal es la identificación y neutralización en el espacio tisular de las células (ReactLab, 2019). El anticuerpo apoya a la protección contra infecciones bacterianas y víricas, pero se demora un tiempo en formarse después de una infección o vacunación (Hirsch, 2020).

Según Buczinski *et al.*, (2018) se usa una concentración de 10 g/L de IgG mediante inmunodifusión radial o inmunoensayo turbidimétrico como estándar mínimo de referencia.

Inmunoglobulina A

Es un tipo de inmunoglobulinas que se encuentran en los recubrimientos en el sistema digestivo como en las vías respiratorias, esta evita que los patógenos (virus y bacterias) penetren en el plasma, actúan uniéndose a los antígenos inhibiendo su instalación en las mucosas (Hirsch, 2020).

Inmunoglobulina M

Son anticuerpos que se encuentra entre la primera línea de defensa producida en respuesta a una infección, estas representan aproximadamente del 5 al 10% del total de inmunoglobulinas y son de gran peso molecular (Healthwise, 2022). Estas moléculas no atraviesan las membranas biológicas activamente y solo son encontradas en la superficie de los linfocitos B (Peña, 2023).

Precipitación por sulfato de amonio

Es un método utilizado para la purificación de proteínas que se fundamenta en separar estas moléculas, al alterar su solubilidad de la solución por una concentración de sal de sulfato de amonio (NH_4NO_2), esto debido a que aumenta la fuerza iónica del suero sanguíneo y por tanto concentra las proteínas, conocido coloquialmente como “salazón” es una forma cómoda y

sencilla de separar proteínas complejas. Cabe recalcar que, se debe procurar no saturar el compuesto (más del 100%) ya que se puede contaminar el precipitado con sal (Laboratorium Discounter, 2023).

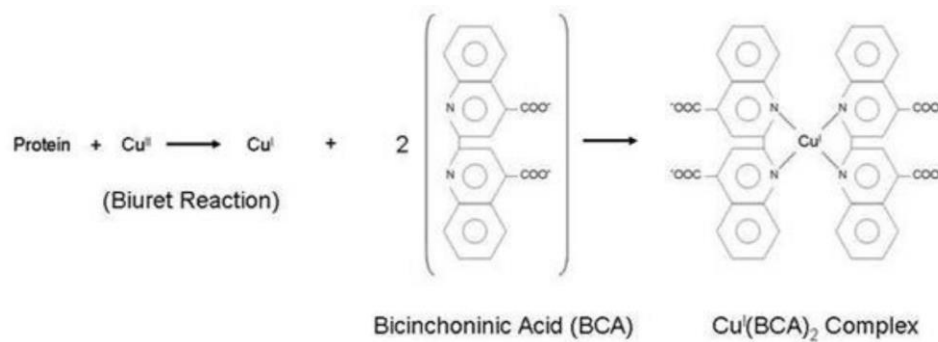
La sal tiene un comportamiento que generalmente se expresa en función del porcentaje de saturación, esta se determina con una curva logarítmica de solubilidad (mg/mL), frente a la saturación de sulfato de amonio (%). En la metodología el sulfato de amonio se incrementa poco a poco, y las proteínas se aíslan en cada lavado (Duong-Ly y Gabelli, 2014).

BSA (Ácido Bicinconónico)

Es un método de análisis de proteínas, que se fundamenta en un compuesto capaz de formar un complejo púrpura intenso con la adición de iones Cu^{1+} en presencia de medio alcalino (Fernández y Galván, 2023). La técnica fue desarrollada en 1985 y está catalogada como un ensayo colorimétrico a 562 nm al final de dos reacciones, (i) la formación de complejos cobre – proteína y (ii) la formación del quelato Cu-BCA; los rangos de concentración que puede medir son entre 20 a 2000 $\mu\text{g/mL}$ (Abyntek, 2023). En la Figura 2, se muestra la reacción química realizado por la proteína, la molécula de cobre y el ácido bicinconónico para forma el complejo Cu-BCA.

Figura 2

Complejo Cu – BCA en la prueba de análisis de proteínas



Nota: Adaptado de Productos Bio-Lógicos, 2016.

Hematocrito

También conocido como el volumen de células empaquetadas (PCV, por sus siglas en inglés), mide la cantidad de glóbulos rojos que está presente en una muestra de sangre anticoagulada (Haldeman *et al.*, 2022). A través de esta prueba, se puede detectar anemia por la falta de eritrocitos para transporte de oxígeno y es expresada en porcentaje (%), o también en términos de volumen de sangre (mL/dL), después de que se haya separado de su fase líquida (Haldeman *et al.*, 2022).

Coliformes

Son bacterias gramnegativas, en forma de bastón que no se reproducen por esporas, y que forman ácido y gas cuando son incubadas a 35 o 37°C. Se pueden encontrar en el agua, suelo, vegetación y en mayor cantidad en los animales homeotermos (bioMérieux, 2023).

La mayoría de las especies de bacterias coliformes, son inofensivos para la vida humana, siendo pocas las cuales se transmiten por el agua y pueden causar enfermedades graves (Swistock y Clemens, 2020).

Estas bacterias se han utilizado como indicadores de condiciones insalubres en la manufactura de alimentos y bebidas (3M, 2023) como también se pueden multiplicar fuera del intestino (Camacho *et al.*, 2009).

Los coliformes son bacterias ampliamente distribuidas en el medio ambiente y pueden colonizar el tracto digestivo de los terneros a través del contacto con el suelo, agua, alimentos o de la propia madre. Estos tienen la capacidad de fermentar lactosa, lo que significa que pueden utilizar este azúcar presente en la leche y otros alimentos como fuente de energía. Durante la fermentación de la lactosa, los coliformes producen ácido y gas, lo que puede contribuir a la acidez en el tracto digestivo y la formación de gases. Aunque algunos coliformes son parte normal del microbiota intestinal, ciertas especies pueden volverse patógenas y causar

enfermedades gastrointestinales, especialmente en condiciones de estrés, inmunosupresión o desequilibrios en la microbiota (Franco, 2011).

Cultivo de coliformes

En la industria, se utiliza placas de recuento de coliformes 3M™ Petrifilm™ CC (6410), el cual contiene nutrientes de VRB (Bilis Rojo Violeta), un agente gelificante y un indicador de tetrazolio que ayuda a la enumeración de colonias (3M, 2022). En la Figura 3, se muestra placas de laboratorio para cuenta rápido de coliformes.

Figura 3

Placas Petrifilm™ 3M™ CC (6410)



Nota: Adaptado de 3M, 2022.

Factores que influyen en la contaminación de coliformes en terneros

Los coliformes son bacterias que se encuentran en el intestino de los animales y las personas, y pueden indicar la presencia de patógenos o contaminación fecal en el agua o el suelo. Algunos factores que pueden influir en la contaminación de coliformes en terneros de lechería son:

- La calidad del agua que beben los terneros, que puede estar contaminada por coliformes termo tolerantes de origen humano o animal.
- La higiene de las instalaciones donde se alojan los terneros, que pueden albergar coliformes totales y fecales en el suelo o el estiércol.

- La salud de la madre y el manejo del calostro, que pueden transmitir coliformes a los terneros si están infectadas o si el calostro no está bien conservado (Molina y Jiménez, 2017).

Consecuencias de la exposición a coliformes en terneros jóvenes

La exposición a coliformes en terneros jóvenes puede tener consecuencias negativas para su salud y su desarrollo. Algunas de estas consecuencias son: la infección por *Escherichia coli*, una bacteria que puede causar diarrea, deshidratación, fiebre y daño renal; como también la alteración del equilibrio ecológico de los ecosistemas acuáticos donde se vierten las aguas residuales de las lecherías, que puede favoreciendo la propagación de microorganismos patógenos (Mayo Clinic, 2022).

Factores que afectan la carga bacteriana de coliformes en terneros

Algunos factores que pueden afectar la carga bacteriana de coliformes en terneros son:

- La radiación solar, la temperatura ambiente, la humedad y la precipitación, que pueden influir en la supervivencia y el crecimiento de los coliformes en el ambiente.
- La calidad del calostro que reciben los terneros, que puede estar contaminado por coliformes si no se pasteuriza adecuadamente o si se almacena en condiciones inadecuadas (Fuccz *et al.*, 2006).
- La presencia de onfalitis en los terneros, que es una inflamación del ombligo causada por bacterias que pueden entrar por el cordón umbilical y provocar infecciones sistémicas (Cardona *et al.*, 2011).
- La higiene de las superficies de contacto con los terneros, que pueden contaminarse por coliformes si no se limpian y desinfectan correctamente (González *et al.*, 2013).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

Ubicación del lugar de investigación

La presente investigación se realizó en la hacienda ganadera de las instalaciones de la Carrera Agropecuaria IASA I, de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.

Ubicación política.

La investigación se ubicó en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia San Fernando, en la Hacienda el Prado (IASA I).

Ubicación geográfica

Geográficamente el área de estudio se encontró en las coordenadas de las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, son latitud 0°23' 20" S, longitud 78°24' 44" E, altitud 2748 m.s.n.m.

Figura 4

Vista aérea del lugar de la investigación



Nota: Adaptado de Google Maps, 2023.

Ubicación ecológica

Las instalaciones de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I están localizadas en el piso altitudinal montano bajo, región latitudinal templada, zona de vida bosque húmedo, temperatura promedio de 13,96°C y precipitación anual de 1332,72 mm (Arce, 2009).

Condiciones generales

El estudio se realizó entre los meses de mayo y julio del 2023 en los predios de la hacienda “El Prado” en los terneros de un rebaño lechero. Los mismos fueron mantenidos en el predio de nacimiento por un periodo de 3 días, para posteriormente ser trasladados a las cunas en donde se los mantiene hasta los 2 o 3 meses de edad.

La alimentación de ocho de los terneros seleccionados en el estudio, se encalostraron de forma natural, y dos se encalostraron con asistencia, dentro de las 3 horas de nacido; después, pasando 3 días, fueron llevados al área de cunas y fueron alimentados con 2 L de leche; para posteriormente suministrarles agua a voluntad y concentrado, de acuerdo con las políticas de la hacienda.

Determinación del tamaño de muestra

Para conocer la cantidad de terneros a muestrear se utilizó la fórmula de estimaciones por promedio poblacional para muestras finitas. López-Roldán (2015), considera que una población finita está conformada por menos de 100000 elementos.

$$n = \frac{N \times Z^2 \times (CV\%)^2}{E^2 \times (N - 1) + Z^2 \times (CV\%)^2}$$

En donde:

n: tamaño o número de la muestra

N: tamaño de la población

Z: nivel de confianza 95% = 1.96

CV%: Coeficiente de Variación

E: error máximo tolerable = 8,8%.

Al reemplazar los valores en las fórmulas anteriores obtendremos que se obtuvieron 10 muestras de terneros.

Obtención de muestras

La obtención de las muestras sanguíneas y fecales fue en terneros, dependiendo de la fecha de nacimiento, sin distinción del sexo, en un rodeo Holstein x Montbéliarde en la hacienda “El Prado”, entre los 21 y 31 días de edad; esto según el calendario de partos del predio. El estudio comenzó con el nacimiento de los terneros y se finalizó con el seguimiento hasta las 4 o 5 semanas de vida. Los terneros que nacieron con problemas al parto (bajo peso y distócicos) fueron incluidos dentro del análisis.

Materiales, reactivos y equipos utilizados

- Botas de caucho
- Overol
- Registro
- Etiquetas
- Tubos Vacutainer, tapa roja (sin anticoagulante)
- Tubos Vacutainer, tapa lila (con anticoagulante - EDTA)
- Aguja Vacutainer N° 21 G x 1”
- Gradilla para tubos
- Guantes de nitrilo desechables
- Capuchón Vacutainer (soporte de aguja)
- Frasco para deposición de material corto punzante
- Fundas de basura
- Papel Higiénico
- Cooler de espumaflex
- Jeringuillas
- Cinta de embalaje y masking.
- Frascos
- Tubos Eppendorf
- Alcohol 70%

Obtención de muestras sanguíneas

Se realizó una limpieza con alcohol al 70% en el sitio de punción, y realizando una obstrucción del flujo sanguíneo en la vena yugular externa y mediante una aguja calibre 21 G x 1" (*Zhejiang Kangkang Medical – Devices Co., Ltd.*), se extrajo 15 mL de sangre en tubos vacíos Vacutainer (10 mL, sin anticoagulante y 5 mL con EDTA), finalmente se etiquetó con el código del ternero muestreado y fecha (Figura 5.a).

Obtención de muestras fecales

Se realizó la estimulación de la porción recto anal de los terneros haciendo movimientos con un dedo, con el fin de que el animal defecará, obteniendo una muestra adecuada. Subsecuentemente, se colocó 1 g de heces en tubos Eppendorf para los análisis en el laboratorio (Figura 5.b).

Figura 5

Toma de muestras sanguíneas y fecales en terneros



Nota: Autoría Propia

Trabajo de Laboratorio

El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio Mejoramiento Genético y Sanidad Animal de la Carrera Agropecuaria IASA – I, en el Laboratorio de Inmunología y Virología de la

Carrera de Biotecnología y en el Centro de Nanociencia y Nanotecnología de la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE, en el cantón Rumiñahui de la provincia de Pichincha.

Obtención de suero sanguíneo

Materiales, reactivos y equipos

- Mandil
- Guantes de nitrilo
- Tubos Eppendorf
- Congeladora
- Gradillas
- Centrifuga
- Micropipeta con rango de 10 a 100 μL

Procedimiento

Para obtención de suero sanguíneo, las muestras de sangre en tubos de ensayo de vidrio sin anticoagulante (*KANG JIAN*), se centrifugaron en el equipo (*Spinplus, Topscien*) durante 7 minutos a 4000 rpm. Después, se extrajo el suero, colocándolo en los tubos plásticos Eppendorf para ser etiquetados correctamente y conservados a -4°C .

Las muestras séricas se llevaron al laboratorio de Inmunología y Virología de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, para la cuantificación de inmunoglobulinas; para ello, se colocó alrededor de 2 mL de suero y se transfirió a tubos de centrifugación de 15 mL, colocando 3 mL de una solución saturada de sulfato de amonio gota a gota con agitación continua a pH 7,8. Se lo dejó incubar durante 10 min con hielo a 4°C . Después se centrifugó la mezcla a 6500 rpm durante 15 min a 4°C y se suspendió el precipitado en el mismo volumen de PBS 1X, agitando y manteniéndolo siempre en hielo (Figura 6). Luego se añadió $\frac{3}{4}$ partes de la solución de sulfato de amonio y se lo mantuvo otros 10 min en hielo o a 4°C , por último, se centrifugó a 6500 rpm por 15 min a 4°C y se descartó el sobrenadante. Finalmente, el precipitado se suspendió en 1 mL de PBS 1X y se almacenó las muestras para una cuantificar a 4°C .

Figura 6

Purificación de proteínas mediante sulfato de amonio



Nota: Autoría Propia

Prueba del Hematocrito

Materiales, reactivos y equipos

- Capilares
- Guantes
- Mandil
- Microcentrífuga
- Sellador de capilares
- Tabla de lectura de hematocrito

Procedimiento

Para la prueba de hematocrito, se utilizó las muestras de sangre en tubos de vidrio con anticoagulante (EDTA) (VanTubo®), a partir de ello, se cargó en 2 capilares (Micro hematocrito sin heparina, *EUROPA LABWARE*) esto para realizar el análisis por repetido, luego se taparon con plastilina en la tabla de sellado (Brã-seal).

Seguidamente se colocaron en el equipo de microcentrífuga (*TG12M Centrifuge, Madell Technology Corporation*) durante 5 minutos a 10000 rpm, finalmente el análisis se lo realizó en la carta de lectura de hematocrito (Figura 7) y se lo anoto en la hoja de registro.

Figura 7

Carta de lectura de hematocrito



Nota: Autoría Propia

Prueba de Proteínas Totales

Materiales, reactivos y equipos

- Guantes
- Mandil
- Agua destilada
- Micropipeta 1000 μ L
- Puntas auto clavadas 1000 μ L
- Frasco de cortopunzantes
- Refractómetro
- Papel absorbente
- Destornillador de calibración

Procedimiento

A partir del suero obtenido en el apartado anterior, se tomó de 200 μ L (aproximadamente 3 a 4 gotas) y se lo colocó en el refractómetro (RHC - 300ATC), y con dirección a una fuente de luz, se realizó la lectura de proteínas totales por refractometría.

Coprocultivo de heces

Materiales, reactivos y equipos

- Balanza
- Palillos
- Papel Aluminio
- Tubos de ensayo con peptona
- Mechero de Alcohol
- Gradilla de tubos
- Rotulador
- Vortex
- Muestra de Heces
- Incubador
- Tanque de gas
- Alcohol potable
- Agua peptonada (0,1%)
- Cámara de flujo laminar
- Placas Petrifilm
- Dispensador
- Micropipeta de 1000 μ L
- Puntas de 1000 μ L

Procedimiento para coprocultivo de coliformes

En primer lugar, se tomó la muestra de heces del tubo Eppendorf, y se pesó 1 g para realizar una solución madre en 10 mL de peptona, para posteriormente se realice una dilución seriada. La solución madre fue puesta en el vortex para hacer una solución homogénea. Seguidamente, en la cámara de flujo laminar, previamente desinfectada, se diluyó con la micropipeta de 1mL en los tubos de ensayo de 9 mL de peptona, esta dilución se la realizó hasta – 4. Teniendo ya todos los tubos listos, se inoculó 1mL de la solución en las Placas Petrifilm 3M para el crecimiento de coliformes. Finalmente, se etiqueto la placa y se dejó incubar durante 24 horas a 37°C.

Análisis estadístico

La inferencia estadística descriptiva y los gráficos de correlaciones de *Spearman* para determinar el grado de asociación entre coliformes (UFC/g) y proteínas totales (mg/mL) cuantificadas con diferentes métodos (refractometría, espectrofotometría y ácido bicinconínico) son realizados con el programa InfoStat v. 2020e y así, analizar los resultados especificados en los objetivos de la investigación. Se analizaron un total de muestras de 10 terneros.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2, se presenta la cantidad de terneros muestreados y su clasificación sexual con su respectivo porcentaje equivalente.

Tabla 2

Número de muestras por sexo

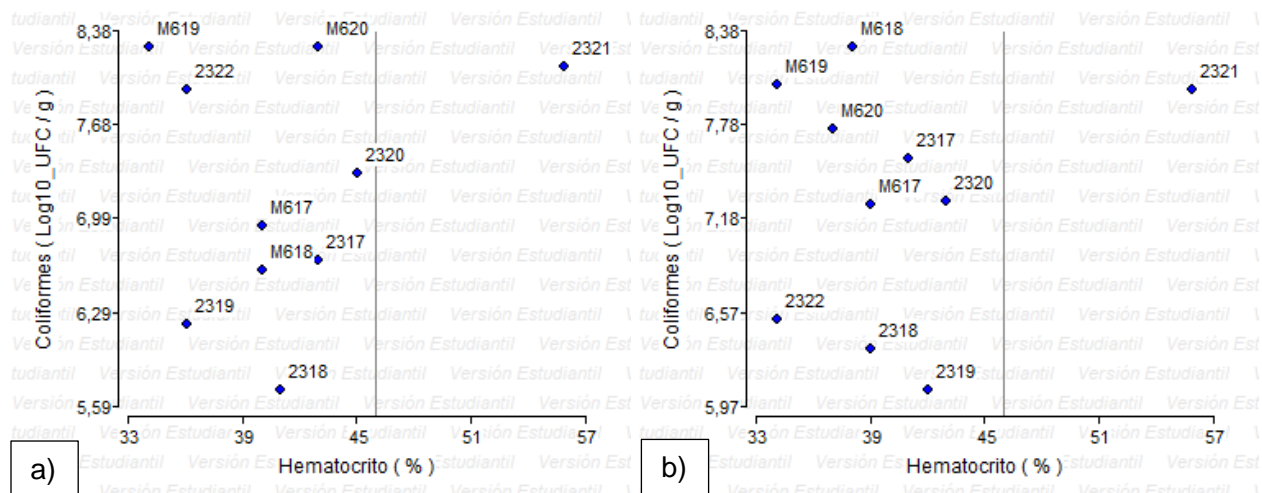
Sexo	muestras	porcentaje
Machos	4	40
Hembras	6	60
Total	10	100

Nota. Autoría Propia

Se muestra dos diagramas de dispersión entre la cantidad de coliformes (Log10_UFC/g) y el nivel de hematocrito (%). En la Figura 8.a, se presenta que la prueba de hematocrito tiene una media de 41,40% (SD \pm 6,22) con un rango de 34 a 56% y en la Figura 8.b, fue de 40,3% (SD \pm 6,29) con el mismo rango anterior.

Figura 8

Asociación de la cantidad de coliformes respecto a los niveles de hematocrito



Nota. Muestra tomada a los 21 y 31 días respectivamente (n=10). El número dentro de la gráfica representa el código del animal en la hacienda. Autoría Propia.

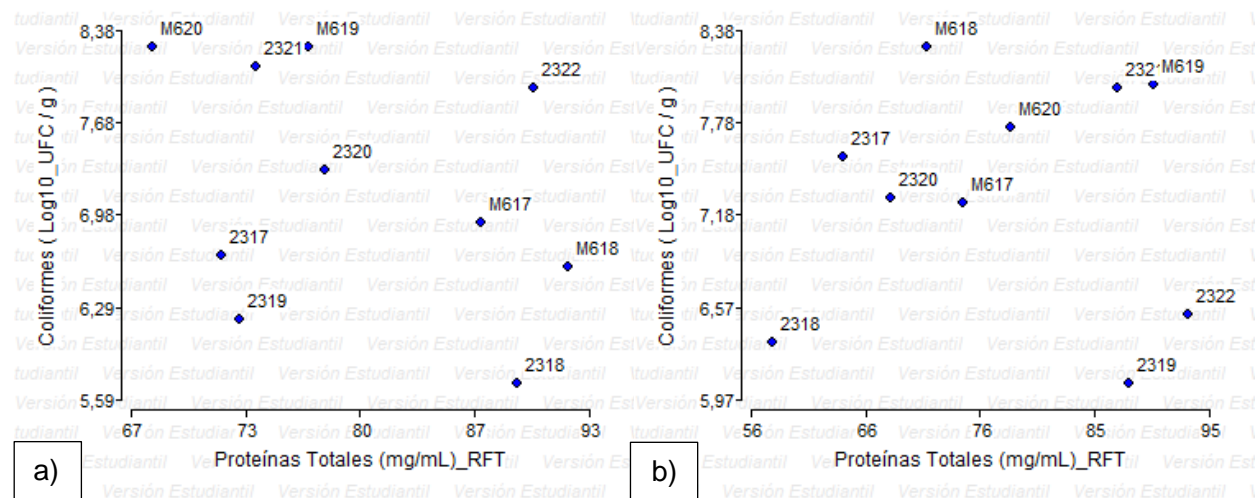
Solo una de las muestras (código 2321) en la primer y segundo análisis se estableció fueran de los límites ideales de hematocrito que según Núñez y Bouda, (2007), menciona que

valores atípicos altos se pueden dar por eritrocitosis relativa por hemoconcentración (deshidratación). Además, cabe resaltar que, estos valores tienen una cantidad importante de variantes en su resultado, y se debe concluir con respecto al nivel de proteínas totales, enfermedades bacterianas o víricas detectadas, cardiopatías, enfermedades pulmonares o renales o disminución del volumen plasmático. No se encontraron valores por debajo de límite inferior marginal (20%), que según García, (2019) indica que los animales no presentan anemia. Los coeficientes de correlación entre los niveles de hematocrito y la cantidad de coliformes ($r = 0,0828$ y $r = -0,1890$, respectivamente al tiempo de muestreo); nos revelan que presentan una escasa o nula relación lineal (Martínez *et al.*, 2009).

En la Figura 9.a se presenta la correlación del nivel de proteínas medidos por refractometría en donde la media la primera prueba fue 80 mg/mL ($SD \pm 8,69$) con un rango de 68 a 92 mg/mL. En el segundo muestreo la media fue 77,10 mg/mL ($SD \pm 12,03$) con un rango de 58 a 93 mg/mL (Figura 9.b).

Figura 9

Asociación de la cantidad de coliformes respecto a la cantidad de proteínas totales mediante refractometría

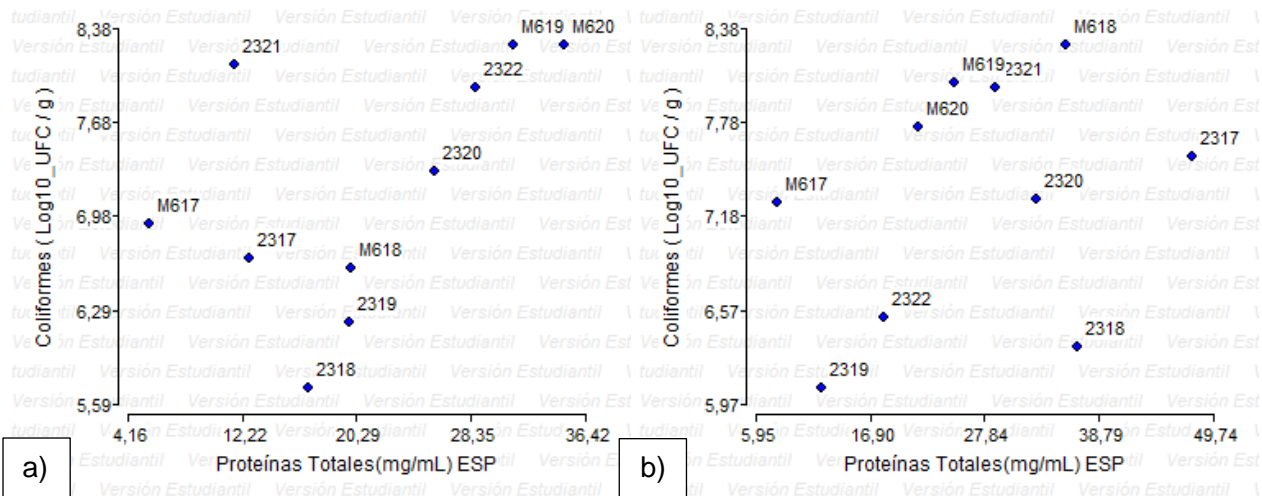


Nota. Muestra tomada a los 21 y 31 días respectivamente (n=10). El número dentro de la gráfica representa el código del animal en la hacienda. Autoría Propia.

Los coeficientes de correlación son nulos entre la cantidad de proteínas totales y de las coliformes son $r = -0,3343$ y $r = -0,0424$ (respectivamente al tiempo de muestreo). Sin embargo, la cantidad de proteínas totales séricas en todos los terneros se encuentra en un rango aceptable, que según Buczinski *et al.*, (2018) y Zakian *et al.*, (2018) valores <52 mg/mL medidos con refractometría digital presentan una falla en la transferencia de la inmunidad pasiva, así como la asociación con la presencia de enfermedad del sistema nervioso central, íleo o emergencia abdominal (Trefz *et al.*, 2017) y podrían ser susceptibles a enfermedades provocadas por el grupo de coliformes.

Figura 10

Asociación de la cantidad de coliformes con la cantidad de proteínas mediante espectrofotometría



Nota. Muestra tomada a los 21 y 31 días respectivamente (n=10). El número dentro de la gráfica representa el código del animal en la hacienda. Autoría Propia.

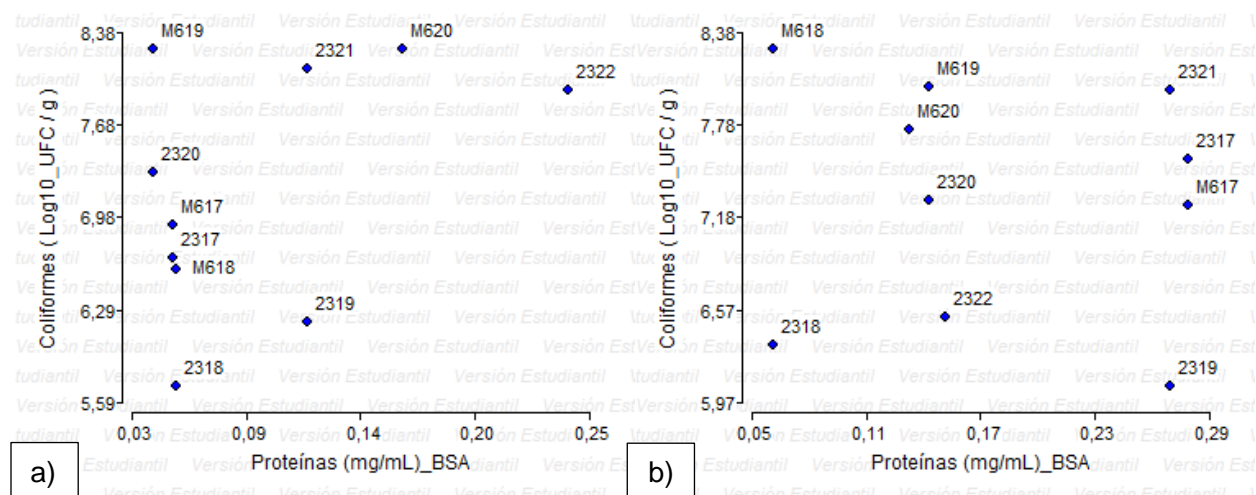
En la Figura 10.a se presenta la cantidad de proteínas purificadas por sulfato de amonio a los 10 días y cuantificadas mediante espectrofotometría digital donde la media fue 20,72 mg/mL (SD± 9,39) con un rango de 5,63 a 43,95 mg/mL. La muestra tomada a los 31 días fue 26,66 mg/mL (SD± 12,15) con un rango de 7,94 a 47,75 mg/mL (Figura 10.b). Según Schagger, (1994), la precipitación de inmunoglobulinas de los sueros sanguíneos se da con la adición de

40 – 45% de sulfato de amonio para precipitar IgG, que puede purificarse aún más mediante cromatografía de intercambio aniónico y que la precipitación por sal es la que más se ha utilizado para fraccionar proteínas de membrana.

Las dos variables presentan coeficientes de correlación $r = 0,4985$ y $r = 0,3212$, (respectivamente al tiempo de muestreo); presentan una débil relación entre estas dos variables. Además, cabe recalcar que, según Deelen *et al.*, (2014) la relación de proteínas tiene un grado de asociación con inmunoglobulinas G de ($r=0,93$).

Figura 11

Asociación de la cantidad de coliformes con la cantidad de proteínas mediante ácido Bicinconínico (BCA)

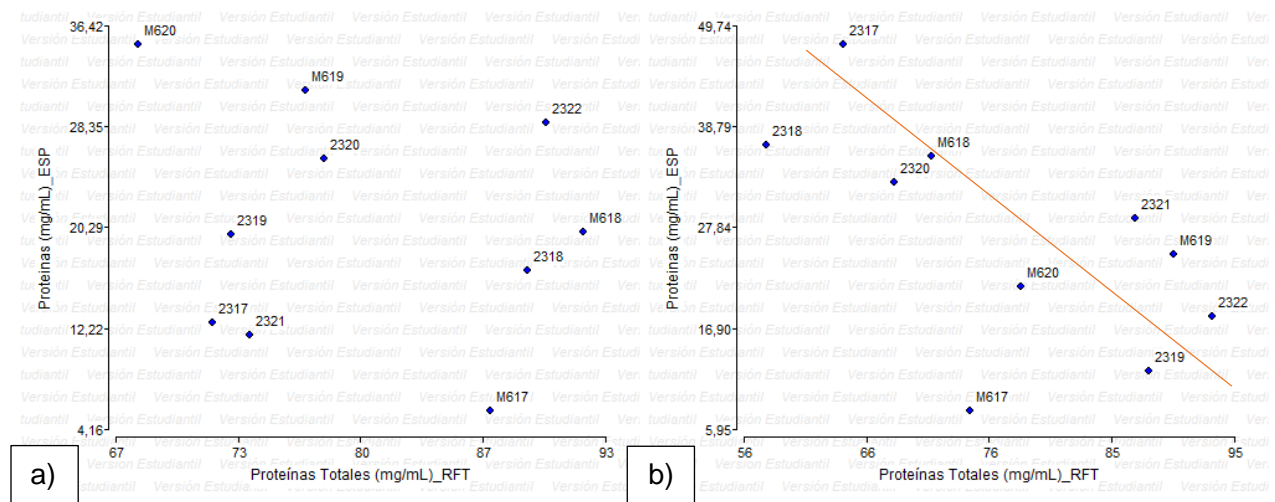


Nota. Muestra tomada a los 21 y 31 días respectivamente (n=10). El número dentro de la gráfica representa el código del animal en la hacienda. Autoría Propia.

Los coeficientes de correlación entre las proteínas medidas por ácido bicinconínico con las coliformes fueron $r = 0,0585$ y $r = - 0,2454$, (respectivamente al tiempo de muestreo); por lo tanto, se asume que tiene una relación lineal nula. El promedio de la muestra a los 21 días (Figura 11.a) (n=10) fue 0,09 mg/mL (SD± 0,07) con un rango de 0,04 a 0,24 mg/mL y el promedio de la segunda muestra (n=10) de la prueba fue 0,18 mg/mL (SD± 0,09) con un rango de 0,06 a 0,28 mg/mL (Figura 11.b).

Figura 12

Correlación entre de la cantidad de proteínas medidas por espectrofotometría y refractometría



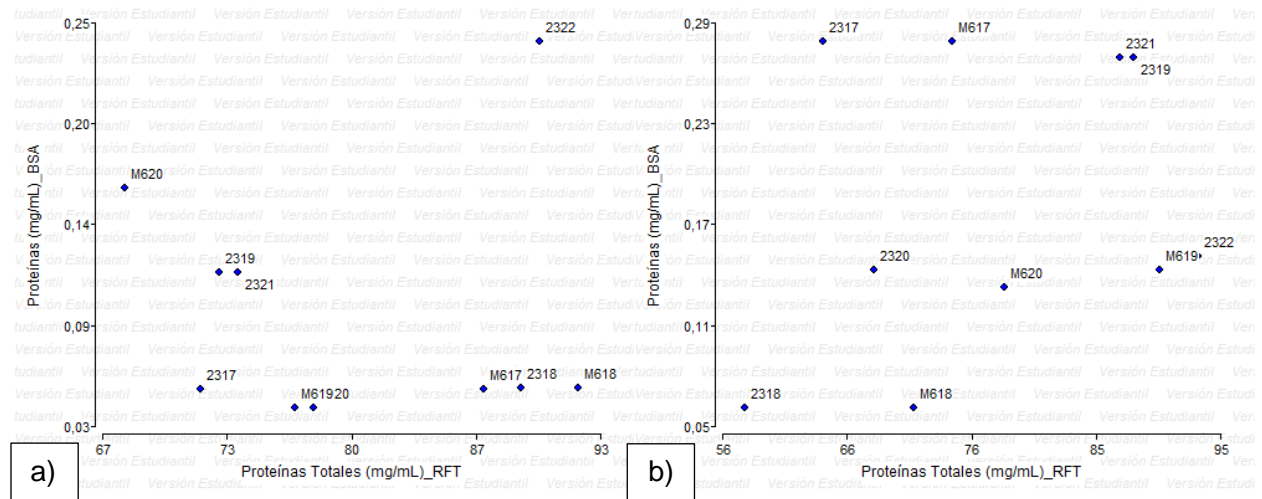
Nota. Muestra tomada a los 21 y 31 días respectivamente (n=10). El número dentro de la gráfica representa el código del animal en la hacienda. Autoría Propia.

En la Figura 12, los coeficientes de correlación entre las proteínas medidas por espectrofotometría con aquellas que se midió por refractometría son $r = -0,0667$ y $r = -0,7091$, (respectivamente al tiempo de muestreo); por lo tanto, se asume que en la Figura 12.a que tiene una relación lineal nula, mientras que en la Figura 12.b presenta una relación negativa entre estas dos variables.

Los coeficientes de correlación entre las proteínas medidas por ácido bicinónico con las que midió por refractometría fueron $r = -0,0491$ y $r = 0,1963$, (respectivamente al tiempo de muestreo); por lo tanto, se asume que tiene una relación lineal nula (Figura 13).

Figura 13

Correlación entre de la cantidad de proteínas medidas por ácido bicinconónico y refractometría



Nota. Muestra tomada a los 21 y 31 días respectivamente (n=10). El número dentro de la gráfica representa el código del animal en la hacienda. Autoría Propia.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- No existió asociación entre la cantidad de coliformes (UFC/g) y el número de inmunoglobulinas presente en suero sanguíneo medidos con refractometría, espectrofotometría y ácido bicinconínico, ya que todos los bovinos se encontraron dentro del diseño muestral del estudio, conviven bajo similares condiciones de manejo, climáticas y sanitarias.
- Sin embargo, existió una correlación lineal moderada y negativa ($r = - 0,7091$) entre métodos cuantitativos de refractometría y espectrofotometría de proteínas totales.
- Se atribuye la baja prevalencia de enfermedades por coliformes al protocolo de alimentación con calostro; donde se le administro 2 litros de calostro fresco de buena calidad (concentraciones de IgG $>50\text{mg/mL}$) dentro de las 2 horas posteriores al nacimiento.
- Las pruebas estadísticas de coeficiente de correlación de Spearman en el campo de la veterinaria nos ayudan con una respuesta cuantificable y confiable a la relación que hay entre las variables, por lo que propone un análisis predecible para problemas prácticos de sanidad y bienestar animal.

Recomendaciones

- Estandarizar métodos de diagnóstico (BCA) para inmunoglobulinas en sus clases (IgG, IgM, IgA) que sean utilizados como una pre-identificación de animales positivos a enfermedades causadas por la familia *Enterobacteriaceae*.
- Realizar pruebas diagnósticas continuas para garantizar el estatus sanitario de los animales evitando propagación de enfermedades propiciadas por el grupo de bacterias coliformes.
- Se recomienda un plan de manejo sanitario preventivo para los lugares donde se encuentren los animales hacinados (limpieza de corrales, manejo de la humedad ambiental y utilización de productos químicos) para evitar que sean focos de contagio de los bovinos y otras especies que conviven con ellos.
- Ampliar la información epidemiológica y económica para enfermedades transmitidas por coliformes que tengan relación con problemas en el manejo sanitario en las haciendas enfocadas en la producción bovina, estableciendo correlaciones e identificando los factores de riesgo que influyen en el contagio y pérdidas económicas anuales en finca.

Bibliografía

- 3M. (2022). *Placa para recuento de coliformes* [Archivo PDF].
<https://multimedia.3m.com/mws/media/7297100/3m-petriefilm-coliform-count-plate-product-instructions.pdf>
- 3M. (2023). *Coliformes*. Food Safety. Recuperado el 20 de julio de 2023 de
https://www.3m.com.ec/3M/es_EC/food-safety-la/biblioteca-de-documentos/microorganismos/coliformes/
- Abyntek. (2023). *5 métodos para cuantificar proteínas*. Recuperado el 20 de julio de 2023 de
<https://www.abbyntek.com/5-metodos-para-cuantificar-proteinas/>
- Altemeier, M. (2020). *Diarreas en terneros recién nacidos: consecuencias y estrategias preventivas* Recuperado el 08 de mayo de 2023. <https://rumiantes.com/diarreas-en-terneros-recien-nacidos-consecuencias-y-estrategias-preventivas/>.
- Arce, M. (2009). *Normal climática y distribución de la precipitación de la hacienda El Prado - IASA*. <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/download/1422/1012>
- bioMérieux. (2023). *Coliformes*. Coliformes. Recuperado el 20 de julio de 2023 de
<https://www.biomerieux.es/coliformes>
- Biotest. (2023). *Inmunoglobulinas*. Recuperado el 20 de julio de 2023 de <https://lc.cx/bbOUGK>
- Blanco, C., Ribero, A., y Semper, F. (2021). Evaluación de la transferencia de inmunidad pasiva en terneros de razas lecheras nacidos y alimentados con calostro de vacas con altos y bajos recuentos de células somáticas al momento del secado [Tesis de grado]. En *Universidad de la República, Facultad de Veterinaria*. <https://lc.cx/KDBG-Y>
- Brandan, N., Llanos, C., Barrios, M. B., Escalante, A., y Ruíz, D. (2008). *Proteínas Plasmáticas* [Archivo PDF]. <https://lc.cx/Whq-X7>
- Buczinski, S., Gicquel, E., Fecteau, G., Takwoingi, Y., Chigerwe, M., y Vandeweerd, J. M. (2018). Systematic Review and Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy of Serum

- Refractometry and Brix Refractometry for the Diagnosis of Inadequate Transfer of Passive Immunity in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 474–483. <https://doi.org/10.1111/jvim.14893>
- Busher, J. (1990). *Serum albumin and globulin* [Archivo PDF]. reboundhealth.com. <https://lc.cx/oKU0sA>
- Camacho, A., Giles, A., Ortigón, M., y Palao, B. (2009). *Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP)* [Archivo PDF]. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. <https://lc.cx/UHFGV8>
- Campero, C. (1998). *Pérdidas perinatales y neonatales en terneros de rodeos de cría* [Archivo PDF]. <https://lc.cx/9Dd144>
- Cardona, J., Álvarez, J. P., y Arrieta, G. B. (2011). Aislamiento e identificación de agentes bacterianos productores de onfalitis en terneros del departamento de Córdoba. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 14(2), 95–99. <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a10.pdf>
- Chávez, L. (2023). *Suplementación con calostro artificial en terneros* [Archivo PDF]. En Agrovet. <https://lc.cx/WsyLHi>
- Clínica Universidad de Navarra. (2023). *Globulina*. Recuperado el 20 de julio de 2023 de <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/globulina>
- Deelen, S. M., Ollivett, T. L., Haines, D. M., y Leslie, K. E. (2014). Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3838–3844. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7939>
- Duong-Ly, K. C., y Gabelli, S. B. (2014). *Salting out of Proteins Using Ammonium Sulfate Precipitation* (pp. 85–94). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0>

- Elizondo, J. (2016). *Transferencia de inmunidad pasiva en reemplazos de lechería* [Archivo PDF]. UTN informa. <https://lc.cx/C9N5EY>
- Fernández, E., y Galván, A. (2023). *Métodos para la cuantificación de proteínas* [Archivo PDF]. <https://lc.cx/z-mjcv>
- Franco, S. (2011). *Valor predictivo positivo del diagnóstico clínico de diarrea en terneros* [Tesis de Maestría]. Universidad nacional del Litoral]. <https://lc.cx/at-n3X>
- Fuccz, J., Gomez, R., Cárdenas, M., y Campos, C. (2006). *Comportamiento de coliformes fecales como indicadores bacterianos de contaminación fecal en diferentes mezclas de biosólido y estériles utilizados para la restauración ecológica de la cantera Soratama, Bogotá*. <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/4894/3772>
- Gaggianesi, A. (2016). *Mortandad periparto causada por Escherichia coli en establecimiento lechero de la Cuenca Mar y Sierras* [Tesina de grado]. <https://lc.cx/2p5jAW>
- Galias, A., y Harguindeguy, A. (2004). *Relevamiento del nivel de calostrado en terneros Hereford* [Tesis de grado]. <https://lc.cx/lbO2M8>
- García, J. (2019). Determinación de inmunoglobulinas séricas de origen calostrado en terneros recién nacidos. *Boletín Técnico, Serie Zoológica*, 6(2). <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1398>
- Gomes, V. (2022). *Onfaloflebitis, diarrea en terneros y otras enfermedades neonatales bovinas*. Recuperado 20 de julio de 2023 de <https://lc.cx/bOXJ85>
- González, R., González, J., Peña, B., Núñez, L., Pérez, E., Moreno, A., y Reyes, J. (2013). *Carga de bacterias coliformes en calostro bovino pasteurizado* [Archivo PDF]. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/2/26.pdf>
- Google Maps. (2023). *Hacienda Ganadera IASA 1*. Recuperado el 06 de septiembre de 2023 de <https://lc.cx/EVM-tY>.

- Haldeman, C., Turley, R., y Novick, T. (2022). *Hematocrito*. Health Library. Recuperado 21 de agosto de 2023 de https://myhealth.ucsd.edu/Spanish/RelatedItems/167,hematocrit_ES
- Healthwise. (2022). *Inmunoglobulinas*. Recuperado el 21 de agosto de 2023 de <https://www.cigna.com/es-us/knowledge-center/hw/pruebas-mdicas/inmunoglobulinas-hw41342>.
- Hirsch, L. (2020). *Análisis de sangre: Inmunoglobulinas (IgA, IgG, IgM)*. Recuperado el 21 de agosto de 2023 de <https://kidshealth.org/es/parents/test-immunoglobulins.html>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2023). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) [Archivo Excel]*. <https://lc.cx/A4AmMq>
- Junta de Andalucía. (2020). *Anticuerpos*. Inmunología - 2º Bachillerato. Recuperado el 26 de junio de 2023 de <https://lc.cx/gYk8MF>
- Laboratorium Discounter. (2023). *Sulfato de amonio*. Recuperado el 26 de junio de 2023 de <https://www.laboratoriumdiscounter.nl/es/quimicos/a-z/a/sulfato-de-amonio/>
- López, P. (2015). *Metodología de la investigación social cuantitativa*. Recuperado el 26 de junio de 2023 de <https://ddd.uab.cat/record/129382>
- Martínez, R., Tuya, L., y Ortega, M. (2009). *El coeficiente de correlación de los rangos de Spearman [Archivo PDF]*. Revista habana ciencias médicas La Habana, VIII (2). <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v8n2/rhcm17209.pdf>
- Mayo Clinic. (2022). *E. coli - Síntomas y causas*. Recuperado el 01 de agosto de 2023 de <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/e-coli/symptoms-causes/syc-20372058>
- Merino, J., y Noriega, M. J. (2020). *Inmunología [Archivo PDF]*. Fisiología General. <https://lc.cx/7pNsAV>
- Molina, G., y Jiménez, I. (2017). *Análisis de la contaminación por coliformes termo tolerantes en el estuario del río ranchería, La Guajira (Colombia)*. <https://doi.org/10.17151/bccm.2017.21.2.3>

- Núñez, L., y Bouda, J. (2007). *Patología Clínica Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.*
<https://books.google.com.ec/books?id=CkBbyoBNnWcC>
- Palencia, S., Céspedes, L., Nuviola, Y., Reyes, I., y Rodríguez, M. (2005). La cepa de yogur como probiótico, una alternativa en la salud y mejora del ternero. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6.
- Peña, J. (2023). *Inmunoglobulinas*. Recuperado el 16 de mayo de 2023 de <https://inmunosalud.net/index.php/defensas/70-03-inmunoglobulinas>
- Productos Bio-Lógicos. (2016). *qPROTEIN (BCA) Kit para cuantificar proteínas totales* [Archivo PDF]. <https://www.pb-l.com.ar/wp-content/uploads/2016/07/RA03-qPROTEIN.pdf>
- ReactLab. (2019). *IgG (Inmunoglobulina G)*. Recuperado el 16 de mayo de 2023 de <https://lc.cx/a8hKG0>
- RumiNews. (2020). *Inmunoglobulinas: ¿Qué son y qué función tienen?* Recuperado el 17 de agosto de 2023 de <https://rumiantes.com/inmunoglobulinas-que-son-que-funcion-tienen/>
- Schagger, H. (1994). *A Practical Guide to Membrane Protein Purification* (G. von Jagow, Ed.; Elsevier Science). <https://lc.cx/HOIbXN>
- Sociedad Española de Medicina de Laboratorio. (2021). *Fibrinógeno*. Recuperado el 22 de mayo de 2023 de <https://www.labtestsonline.es/tests/fibrinogeno>
- Swistock, B., y Clemens, S. (2020). *Bacterias Coliformes*. Pennsylvania State University. Recuperado 20 de julio 2023 de <https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes>
- Trefz, F. M., Lorenz, I., Lorch, A., y Constable, P. D. (2017). Clinical signs, profound acidemia, hypoglycemia, and hypernatremia are predictive of mortality in 1,400 critically ill neonatal calves with diarrhea. *PLOS ONE*, 12(8), e0182938.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182938>

Valdivia, F., y Martínez, R. (1996). La transferencia de inmunidad pasiva a los becerros recién nacidos mediante calostro bovino congelado [Archivo PDF]. *dialnet.unirioja.es*.

<https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/6151513.pdf>

Villasante, P. (2021). *Componentes de la respuesta inmunológica*. Neurociencias. Recuperado el 24 de julio de 2023 de <https://lamenteesmaravillosa.com/componentes-de-la-respuesta-inmunologica/>

Zakian, A., Nouri, M., Rasooli, A., Ghorbanpour, M., Constable, P. D., y Mohammad-Sadegh, M. (2018). Evaluation of 5 methods for diagnosing failure of passive transfer in 160 Holstein calves. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(2), 275–283. <https://doi.org/10.1111/vcp.12603>