



Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en vacas parto en la Hacienda “El Prado”

Llanos Espinel, Pamela Zulay

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.

03 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 vacas parto en la Hacienda “El Prado”**, fue realizado por la señorita: **Llanos Espinel, Pamela Zulay**; 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, 03 de septiembre del 2023

EDWIN ORLANDO PINO PANCHI
PINO PANCHI
Firmado digitalmente por
EDWIN ORLANDO PINO
PANCHI
Fecha: 2023.09.05 13:19:36
0100

Dr. Pino Panchi, Edwin Orlando, Mgtr

C. C. 0502295983

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



1 Llanos Espinel Pamela Zulay_TIC.docx

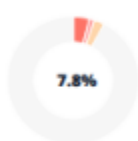
Scan details

Scan time:
September 3th, 2023 at 13:58 UTC

Total Pages:
45

Total Words:
11139

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	4.1%	452
Minor Changes	1.2%	136
Paraphrased	2.6%	286
Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage
● AI text
○ Human text

🔍 Plagiarism Results: (89)

🌐 Pag-17-22-Bottini.pdf

0.6%

[https://www.someve.com.ar/images/revista/2021/vol102\(3\)/...](https://www.someve.com.ar/images/revista/2021/vol102(3)/...)

MEDICINA V ET ISSN 1852-771X INA SOCIED ER AD DE RE PU BL NA RIA Rev. med. vet. (En línea) 2021, 102(3): 17-22 ICA ARGEN T...

🌐 Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnóstico ...

0.5%

<https://www.reumatologiaclinica.org/en-tecnicas-inmunologi...>

Subscribe to this journal ...

🌐 Determinación de la calidad del calostro en vacas-O...

0.5%

<https://repositorio.unphu.edu.do/bitstream/handle/1234567...>

Odile Polanco

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO HENRÍQUEZ UREÑA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DE RECURSOS NATURALES ESCUELA DE MEDICINA...

EDWIN ORLANDO PINO PANCHI
Firmado digitalmente por EDWIN ORLANDO PINO PANCHI
Fecha: 2023.09.05 13:13:36 -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, **Llanos Espinel, Pamela Zulay**, con cédula de ciudadanía No.1719200717, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en vacas preparto 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, 03 de septiembre del 2023

.....
Llanos Espinel, Pamela Zulay
C.C.: 1719200717



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación:

Yo, **Llanos Espinel, Pamela Zulay**, con cédula de ciudadanía No.1719200717 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Estimación de coliformes e inmunoglobulinas en vacas preparto en la Hacienda “El Prado”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 03 de septiembre del 2023

.....
Llanos Espinel, Pamela Zulay

C.C.:1719200717

Dedicatoria

Este logro académico primordialmente a mi familia, que fueron parte de la motivación y paciencia para poder desarrollarlo durante el tiempo transcurrido en el IASA, ya que me apoyaron desde el primer momento, en especial a mi abuelita Gladys que siempre estuvo pendiente con sus consejos en todo el desarrollo de mi carrera profesional.

También va dirigido a los docentes que brindaron su conocimiento en la formación de mi profesión, y también apoyaron para el desarrollo de mi trabajo de investigación.

Finalmente, a mis amigas que durante la Carrera brindaron su apoyo incondicional desde el primer momento.

Agradecimientos

A Dios por darme la guía de culminar mi Carrera profesional como también mi trabajo de investigación.

A mis padres (Isabel y José) por siempre estar para mí y por mí, brindándome de su manera su apoyo entre mis aciertos y errores. A la Universidad de las Fuerzas Armadas especialmente a la sede de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, por formarme como profesional y persona con la disciplina que la caracteriza en todo el trayecto de la formación de mi Carrera. También agradezco a las ingenieras que apoyaron mi trabajo de investigación Michelle Y, Ariana D, Cristina C, las cuales tuvieron paciencia en el laboratorio para cada uno de mis análisis. A mis docentes especialmente mi tutor Dr. Edwin Pino por confiar en el desarrollo del trabajo, y al Dr. Jorge Ron por brindarme su conocimiento y directrices en cada aspecto de la tesina.

A mis amigos Jeniffer I, Angeles P, Juanse M, Camila A, Salome R, Luis A, Miguel E, por apoyarme desde el primer momento hasta la finalización de mi Carrera, porque siempre han demostrado estar para mí, ya que son parte fundamental de mi vida, y por eso agradezco porque cada persona me regalo muchos momentos bonitos.

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	14
Abstract.....	15
CAPÍTULO I	16
INTRODUCCIÓN	16
Antecedentes	16
Justificación.....	17
Objetivos	17
Objetivo General.....	17
Objetivos Específicos.....	18
Hipótesis	18
CAPITULO II	19
REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	19
Vacas Preparto.....	19
Manejo de vacas preparto.....	19

Salud de la vaca preparto.....	20
Hematocrito	20
Proteínas totales	21
Parásitos en bovinos.....	21
Tipos de parásitos gastrointestinales.....	22
Nemátodos	22
<i>Trichuris ovis</i>	22
Tremátodos.....	24
Cestodos.....	24
Protozoarios.....	24
Inmunoglobulinas en vacas preparto	25
Inmunoglobulinas G	25
Inmunoglobulinas M.....	26
Inmunoglobulinas A	26
Carga bacteriana en heces de vacas preparto	27
Coliformes totales	27
Coliformes fecales	27
Técnicas de diagnóstico	28
Refractometría	28
Inmunoglobulinas con sulfato de amonio	28
Parasitosis (Coproparasitario).....	29
Examen microscópico	29
Técnicas de coproparasitario.....	29
Técnica de sedimentación	29
Técnica de flotación	30
Técnicas de diagnóstico de inmunoglobulinas en suero sanguíneo	31

Inmunofluorescencia indirecta	31
Técnicas de coprocultivo e identificación de carga bacteriana	31
Agar Mac Conkey	31
Agar EMB o Levine	32
Agar sangre.....	32
Agar S.S (<i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i>).....	32
Siembra en Placas “Petrifilm”	32
Placa para recuento de coliformes “Petrifilm 6416”	32
CAPITULO III.....	35
METODOLOGÍA.....	35
Ubicación del lugar de investigación.....	35
Ubicación geográfica	35
Materiales y Métodos	36
Fase de campo	36
Protocolo parto.....	37
Recolección de muestras	37
Fase de laboratorio	38
Laboratorio de Inmunología	38
Hematocrito	38
Proteínas totales	39
Inmunoglobulinas	40
Precipitación de proteínas.....	40
BCA	42
Cuantificación de proteínas por espectro fotometría	42
Área de parasitología del laboratorio de mejoramiento genético y sanidad animal.....	43
Coproparasitario técnica flotación.....	43

Área de microbiología del LMGSA	44
Coprocultivo	44
Diseño experimental	46
Variables evaluadas.....	46
CAPITULO IV	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
Porcentaje de hematocrito.....	48
Carga bacteriana.....	49
Inmunoglobulinas	50
Carga parasitaria.....	53
CAPITULO V	55
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
Conclusiones.....	55
Recomendaciones.....	56
Bibliografía	57

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Valores hematológicos totales medios de las vacas durante el tercer trimestre de embarazo, y lactancia temprana en ganado establecido</i>	21
Tabla 2 <i>Historial reproductivo de vacas en estudio</i>	36
Tabla 3 <i>Detalle de variables en estudio</i>	46
Tabla 4 <i>Número de vacas preparto por parto</i>	47
Tabla 5 <i>Porcentaje de hematocrito en vacas preparto</i>	48
Tabla 6 <i>Conteo de colonias coliformes en vacas preparto</i>	49
Tabla 7 <i>Proteínas totales con refractometría</i>	50
Tabla 8 <i>Resultado de tres metodologías para proteínas totales</i>	51
Tabla 9 <i>Comparación de tres métodos para proteínas totales</i>	52
Tabla 10 <i>Conteo de huevos de parásito Trichuris ovis</i>	53

Índice de figuras

Figura 1 <i>Ciclo en ovino de Trichuris ovis</i>	23
Figura 2 <i>Crecimiento cero de colonias de coliformes</i>	33
Figura 3 <i>Recuento de colonias coliformes</i>	34
Figura 4 <i>Vista aérea del lugar de la investigación</i>	35
Figura 5 <i>Recolección de sangre de la vena coccígea</i>	37
Figura 6 <i>Recolección de heces</i>	38
Figura 7 <i>Realización de prueba de hematocrito</i>	39
Figura 8 <i>Ajuste del pH para el sulfato de amonio</i>	40
Figura 9 <i>Precipitación de proteínas con sulfato de amonio en suero bovino de vaca preparto</i>	41
Figura 10 <i>Precipitación de suero con sulfato de amonio en tubo falcon</i>	41
Figura 11 <i>Huevo de parásito Trchuris ovis</i>	44
Figura 12 <i>Siembra de heces en placas petrifilm</i>	45
Figura 13 <i>Conteo de colonias en la placa petrifilm</i>	46
Figura 14 <i>Relación de N° de arete con resultados de proteínas (mg/dL)</i>	52

Resumen

En la ganadería bovina existe una problemática que los terneros pueden tener diarreas provocadas por varias razones durante el parto se contamina por la madre por alguna infección, por falta de calostramiento, transmisión de nemátodos vía transplacentaria o calostro. Debido a que el animal en los tres primeros días se encuentra sin ninguna defensa y su única manera de tener defensas es por medio del calostro, por lo que, la madre debe tener una buena inmunidad para transmitir.

Con la finalidad de estimar la carga bacteriana e inmunoglobulinas en vacas preparto de la Hacienda el Prado IASA I, en el área de maternidad del módulo de ganadería; lo que se propone en esta investigación es determinar la cantidad de inmunoglobulinas a través de proteínas totales de las vacas preparto, grado de infestación parasitaria y si existen infecciones bacterianas. Para la selección de los animales del estudio debían estar clínicamente sanos.

Con el uso del refractómetro, BCA y cuantificación por espectrofotometría se determinó las cantidades de proteínas séricas en vacas preparto con relación a inmunoglobulinas. Se estimó la metodología para las variables: inmunoglobulinas, proteínas totales, hematocrito y coproparasitario. Las muestras colectadas de 10 vacas en preparto con 15 días a la fecha probable de parto, las cuales se recolecto en primerizas, como también en multíparas; de las que se obtuvo como resultados en hematocrito con valores entre 30-40%, en el coproparasitario se identificó mediante la técnica de flotación al huevo de *Trichuris ovis*. En la carga bacteriana se utilizó placas Petrifilm para el conteo de coliformes.

Palabras clave: VACAS PREPARTO, PROTEÍNAS TOTALES, CARGA BACTERIANA, INMUNOGLOBULINAS

Abstract

In cattle breeding there is a problem that calves may have diarrhea caused by several reasons during childbirth is contaminated by some infection, for lack of heat, transmission of nematodes via transplacentaria or colostrum. Because the animal in the first three days is without any defense and its only way to have defenses is through colostrum, so, the mother must have a good immunity to transmit.

In order to estimate the bacterial load and immunoglobulins in cows prepared by the Hacienda el Prado IASA I, in the maternity area of the livestock module; what is proposed in this research is to determine the amount of immunoglobulins through total proteins of the cows parto, degree of parasitic infestation and if there are bacterial infections. For the selection of the study animals had to be clinically healthy.

With the use of the refractometer, BCA and quantification by spectrophotometry, the amounts of serum proteins in cows were determined in relation to immunoglobulins. The methodology for the variables was estimated: immunoglobulins, total proteins, hematocrit and coproparasitary. The samples collected from 10 cows in preparation with 15 days to the probable date of delivery, which were collected in first-timers, as well as in multimeters; from which results were obtained in hematocrit with values between 30-40%, in the coproparasitary was identified by the flotation technique to the egg of *Trichuris ovis*. Petrifilm plates were used in the bacterial load to count coliforms

Keywords: PREPARTO COWS, TOTAL PROTEINS, BACTERIAL LOAD, IMMUNOGLOBULINS

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

Dentro de la ganadería existen problemas relacionados a la salud de las vacas gestantes en parásitos que se localizan en placenta y útero, que afectan al feto. Al eliminar o prevenir las causas la incidencia puede disminuir en gran tamaño relacionadas con las defensas que puede manifestarse. (Puente, 2012).

En nuestro país, el sector agropecuario entre ganadería, silvicultura y agricultura aportan con el 8% de PIB y únicamente la ganadería ocupa con el 68% del suelo agrícola, la cual no apoya a la economía del país de manera representativa con un 11% del PIB en el ámbito agrícola (González , 2020). El ganado vacuno predomina con un total de 3.9 millones de cabezas a nivel nacional en el territorio de la Sierra se agrupa el mayor número de cabezas de ganado con 2 millones, de la totalidad del ganado ,por el sexo con un 69,5 % son vacas mientras que con un 30,5 % son toros en producción (Instituto Nacional de Estadística y Censos, [INEC], 2023).

La producción de la ganadería es un componente fundamental para la agricultura sostenible, porque, provee de nutrición, incrementos económicos y una seguridad alimentaria, aportando con un 40% de manera mundial a casi 1300 millones de personas Food and Agriculture Organisation, “Organización para la Agricultura y la Alimentación” (FAO), 2023).

La capacidad reproductiva, estado de salud o un incremento en la producción de las vacas es uno de los principales aspectos importantes en la explotación ganadera, por lo que, se necesita un parto al año por cada hembra que se encuentre en los ámbitos idóneos de reproducción, y de esta manera se asegura una lactancia apropiada para el productor como para la cría en desarrollo (Vélez y Zambrano, 2016).

Justificación

En el módulo de ganadería de la carrera Agropecuaria existen diarreas frecuentes en los terneros que pueden ser por transmisión transplacentario, calostramiento, contaminación durante el nacimiento, debido a que existe la problemática en el IASA I, se valoró la concentración de inmunoglobulinas en vacas preparto, tipo y carga de parásitos, como también la cantidad de coliformes en los animales.

En la reproducción y producción de la ganadería bovina, el periodo del parto abarca de 2 a 3 semanas previo al momento del parto, en el cual se necesita de ciertos cuidados en el manejo tanto alimenticios como la administración de fármacos, asegurando un estado de salud y producción de leche de la madre como la cría (Ruiz, 2015).

Los parásitos pueden llegar a ocasionar una deficiencia productiva y reproductiva en los bovinos, porque las crías en desarrollo pueden llegar a contaminarse desde que están en el vientre vía transplacentario o en el alumbramiento, existen parásitos tanto internos como externos que pueden conllevar a una enfermedad con síntomas como fiebre, anorexia, aborto y una baja en la producción de la leche dependiendo del tipo de parásito que lo afecte (Contexto ganadero, 2020).

Las coliformes son conocidas como habitantes normales del tracto intestinal, que se pueden acumular y multiplicar en las heces del animal, pueden ocasionar mastitis si estas se encuentran en contacto con el ambiente de la glándula mamaria. Entre estas se encuentra *Escherichia coli* que puede llegar a ser patógena para el animal (Rivera, 2014).

Objetivos

Objetivo General

Estimar la carga bacteriana e inmunoglobulinas en vacas preparto en la Hacienda el Prado.

Objetivos Específicos

Determinación de las especies y carga de los parásitos gastrointestinales en vacas preparto por técnica de flotación

Medición por el método de refractometría simple y BCA inmunoglobulinas en sangre de vacas preparto

Cuantificación de bacterias coliformes mediante cultivo Petrifilm presentes en heces de vacas preparto

Hipótesis

H₀: No existen diferencias significativas en la inmunidad de las vacas preparto como tampoco en parásitos, carga bacteriana en animales primíparas y multíparas.

H₁: Existen diferencias significativas de la inmunidad de las vacas preparto como tampoco en parásitos, carga bacteriana en animales primíparas y multíparas.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Vacas Preparto

El periodo de una vaca preparto inicia tres semanas antes de la fecha probable del parto, en el cual, se incrementa la demanda de nutrientes por el feto, glándula mamaria y síntesis de calostro, provocando un elevado desorden metabólico como también problemas de salud durante el tiempo de ciclo productivo (Garcia y Kalscheur, 2017).

Es uno de los periodos importantes y estratégicos para el esquema de producción de una finca con explotación de producción lechera. Su importancia tiene estrecha relación entre una optimización del posparto y reducción de patologías periparto, es así, que el implementar lotes específicos y una adecuada alimentación debe ser parte del manejo en vacas preparto (Calsamiglia, 2015).

Un animal de alta producción durante su último mes de gestación y posparto atraviesa por un periodo de balance energético negativo, ya que los requerimientos para el crecimiento tanto de leche y feto aumentan la energía requerida a través del alimento que la vaca consume, por lo tanto, se evidencia en grandes modificaciones en metabolismo energético y proteico, a razón de compensar la lactación del nuevo ternero, y de tal manera evitar alteraciones en la salud (Berneda *et al.*, 2019).

Manejo de vacas preparto

Previo a los 20 días del parto se conoce como el periodo de transición de la vaca, esta es una etapa importante dentro del ciclo productivo de la finca, puesto que alrededor del 80% de las enfermedades ocurren en este periodo de tiempo. El éxito en esta etapa tendrá efecto directo en la producción de vacas lecheras como también en resultados económicos (Palladino, 2020).

El buen manejo debe asegurar un consumo de materia seca máximo para una producción posterior de leche, lotes específicos para vacas preparto, esto garantizara un

adecuado consumo y evita competencia con otros animales, alimentos con bajos contenidos de potasio, en el cual aumenta el balance catión- anión para oponer el desplazamiento de calcio de los huesos a las glándulas mamarias. Las sales aniónicas son prescindibles y recomendables durante esta etapa, se puede complementar con selenio y vitamina E, para reducir patologías posparto (Palladino, 2020).

Las vacas preparto tienen necesidades energéticas y proteicas que aumentan debido al crecimiento del feto, ubre y el compendio del calostro. Es necesario que los animales se encuentren en condiciones óptimas en infraestructura externa como interna necesarios durante esta etapa (García y Díaz, 2019).

Salud de la vaca preparto

Hematocrito

Un perfil hematológico permite el diagnóstico de las enfermedades, en el cual, si existen alteraciones en valores de referencia en cuanto a especie, edad y estado fisiológico los resultados son de déficits en minerales, cobre, etc. Pueden ocasionar patologías clínicas y subclínicas en disminución de micro minerales como también pérdidas productivas, en cobre una reducción de glóbulos rojos y aumento en volumen de masa muscular (Roldan *et al.*, 2005).

El hematocrito señala la relación que existe entre volumen de eritrocitos y sangre total, el cual es el volumen ocupado por los hematíes en 100 ml de sangre, la unidad se interpreta en porcentaje (%) (Sigua, 2019).

Mediante indicadores hematológicos existen valores de referencia para bovinos, en (HCT) hematocrito es rangos desde 24 a 46 %, los cuales se encuentren dentro de valores normales (Castro, 2017).

Proteínas totales

Las vacas que son de segundo parto tienen grados Brix más bajos comparados con vacas que entran en tercer o más paridad. Las vacas con alta actividad de GLDH (glutamato deshidrogenasa) tienen una mayor probabilidad de daño de las células hepáticas debido a que se reducen la lipidosis hepática y, por lo tanto, la función para producir proteínas para el calostro génesis (Immler *et al.*, 2021).

Tabla 1

Valores hematológicos totales medios de las vacas durante el tercer trimestre de embarazo, y lactancia temprana en ganado establecido

Parámetro	Unidad / Rango Normal
Total proteína (TP)	g/dl (6.2-8.2)
Hematocrito	% (24-46)

Nota. Hematocrito y proteínas totales. Recuperado de (Ate *et al.*, 2009).

Parásitos en bovinos

Los parásitos en el sector pecuario tienen un gran impacto en la ganadería por lo que causan una demora en el crecimiento, como también una disminución en la producción y reproducción. Son varios los factores que afectan a la salud de los bovinos, así como, helmintos y coccidias que tienen diferentes consecuencias como malestar, diarreas acuosas, fiebre y vómitos, afectando a animales jóvenes impidiendo su crecimiento en masa muscular ya que son más susceptibles, en casos extremos pueden ocasionar la muerte (Figuroa, *et al.*, 2018).

Tipos de parásitos gastrointestinales

Nemátodos

Los nematodos gastrointestinales tienen un impacto en los animales, pueden tener un efecto inmunodepresor en el huésped que frecuentemente puede ser en animales susceptibles a desarrollar otras enfermedades o que no logran generar una respuesta inmune a la vacunación. Las infecciones por ataque de nematodos pueden causar varios cambios profundos en el tracto gastrointestinal como: aumento de número de células caliciformes en mucosa, reducción de altura y número de microvellosidades luminales, disminución del apetito resultante, diarrea, deshidratación, etc (Zoetis Animal Health, [Zoetis], 2019).

Los huevos a una temperatura óptima de 15°C pueden eclosionar convirtiéndose en larvas en el medio en el que se encuentren, pasando a mudar para conservar en vaina para su posterior protección al hábitat que va a sobrevivir, el ciclo en condiciones adecuadas puede durar entre 5 a 6 días (Zoetis Animal Health, [Zoetis], 2019).

Trichuris ovis

Es un parásito gastrointestinal pudiéndose encontrar en varios huéspedes, causa importantes enfermedades en los animales y humanos, como también consecuencias económicas. *Trichuris ovis* es un tricocéfalo (gusano filiforme que parasitan en el intestino grueso), se infesta en el ciego y colon de las ovejas, cabras y vacas. Tiene un ciclo directo donde el huésped definitivo contrajo a través de una etapa infectiva dentro de los huevos que ya eclosionaron en el intestino delgado y las larvas liberadas penetran la pared intestinal del ciego y colon proximal, donde se desarrollan hasta su madurez (Petrenko, 2022).

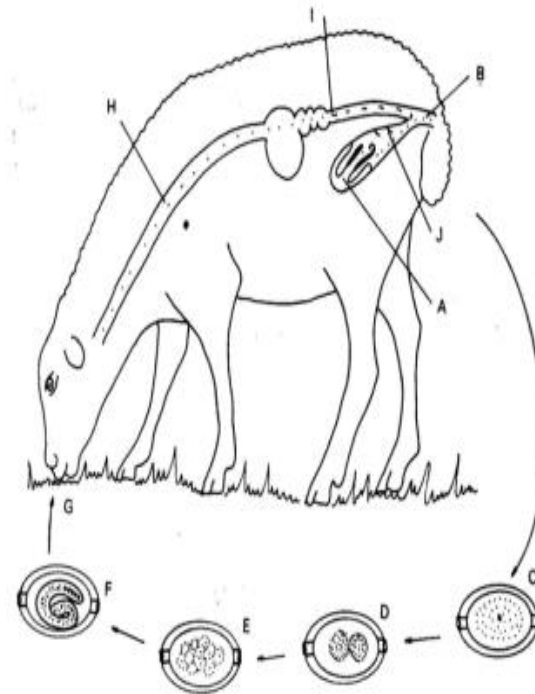
La maduración de los huevos liberados en heces de los hospedadores definitivos hasta llegar a su etapa invasiva tiene lugar fuera de un organismo con influencia a diversas condiciones del ambiente, así como, el desarrollo con oxígeno, temperatura y humedad,

afectando a la duración del ciclo biológico como también la viabilidad de los parásitos (Petrenko, 2022).

Los huevos del parásito son de color marrón amarillo, de forma limón con opérculo transparente a cada extremo. Son infectantes de 3 a 4 semanas en condiciones de humedad y temperatura adecuadas, lo cual pueden durar por años. Una vez ingerido los huevos por el hospedador son dirigidas a las glándulas de Lieberkuhn en el íleon, donde muda a fase de adulto y posterior a ello en dos semanas pasa al ciego y colon como infección, puede llegar a fijarse en la mucosa del extremo cefálico. Su periodo de incubación es entre 6 a 12 semanas dependiente de la especie animal (Ureña, 2018).

Figura 1

Ciclo en ovino de Trichuris ovis



Nota. Ciclo biológico de *Trichuris ovis*.

Recuperado de (Ureña, 2018).

Tremátodos

Son gusanos planos que se incorporan en el filo *Platyhelminthes* y se divide en subclase de *Digenea* y *Aspidogastrea*. Uno de los géneros más importantes es *Fasciola* en la salud humana. En estado adulto son endoparásitos en diferentes órganos, su tamaño es variable desde 30 µm a 30 mm. El hospedero definitivo contiene la fase adulta y el intermediario la fase larvaria (Vanegas y Mancilla, 2021).

Los trematodos han tenido una evolución en su adaptación como parásitos, posee dos aparatos reproductivos, tiene ciclo de vida complejo ya que afecta a varias especies de animales en fase adulto, donde se produce la reproducción, en estado larvario son de moluscos gasterópodo (Molina, 2020).

Cestodos

Son conocidos como tenias por su forma en cinta alargada con una gran longitud, compuestos por segmentos (estróbilo), son hermafroditas ya que cada segmento contiene órganos reproductores con testículos y ovarios. Estos gusanos viven en el tracto digestivo del hospedador, absorben nutrientes por la piel, su ciclo es indirecto complejo por que incluye de uno o más hospedadores intermediarios como moluscos u otros mamíferos (Román, 2016).

Un cestodo común en bovinos son *Moniexia expansa*, *M.Benedini* con una distribución cosmopolita, pueden infectar en cualquier edad del animal, pero en adultos no producen efectos nocivos, por tanto, en una infección masiva se puede evidenciar signos claros en el animal que lo presente. El ciclo biológico empieza por la expulsión de huevos en las heces del hospedador, con un embrión propio (Rada, 2023).

Protozoarios

Los protozoos gastrointestinales pertenecen al reino Protista y son microorganismos unicelulares que afectan a animales silvestres y domésticos, llegando a ser zoonóticos, pueden provocar varios signos clínicos hasta provocar la muerte del hospedador. El consumo del

material fecal contaminado ocurre con ooquistes originarios del animal en producción, la infección puede llegar a ser mixta en los cuales intervienen nematodos y cestodos, ocasionando pérdidas en peso, abortos entre otras (Rodríguez *et al.*, 2018).

En el género de *Eimeria* la especie *schneider* pueden producir en los animales jóvenes coccidiosis, esta enfermedad se caracteriza por causar disenterías o diarrea, asociadas a pérdidas económicas por su alta mortalidad y morbilidad, tal como en altos costos para su tratamiento (Volpato *et al.*, 2017).

Inmunoglobulinas en vacas preparto

Las inmunoglobulinas G, A y M son importantes para la transferencia pasiva de anticuerpos de la madre al ternero. Representan entre el 70 – 80% de las proteínas totales de los bovinos en calostro (Costa *et al.*, 2021).

En la vaca el suero tiene una alta cantidad de anticuerpos y puede llegar a contener hasta 25 mg de inmunoglobulinas por cada mililitro, del cual la mayor parte lo abarca la inmunoglobulina G (IgG) (Shaw *et al.*, 2016).

Inmunoglobulinas G

Las vacas tienen una placenta cotiledón sinepitelocorial la cual no permite la transferencia directa de inmunoglobulina G de la madre al feto, es así como, los terneros son agammaglobulinémicos durante el nacimiento y la obtención de los anticuerpos que se producen por una buena ingesta de calostro, es una de las más importantes para conseguir la transferencia pasiva en terneros. El suero y calostro contienen inmunoglobulinas G1 como también inmunoglobulinas G2, siendo el predominante en el calostro, mediante procesos de transcitosis se ocupa del paso de inmunoglobulina G de la sangre al calostro (Costa *et al.*, 2021).

La inmunoglobulina G se condensa por linfocitos B los cuales se encuentran en mayor cantidad en el suero sanguíneo y estos aparecen durante el transcurso de presentarse infecciones específicas o como reacción a una inmunización. Tienen varias subclases como

IgG1, IgG2, presentes en bovinos las cuales se encuentran en mayor cantidad en el calostro (Echeto *et al.*, 2002).

Inmunoglobulinas M

Es una inmunoglobulina 19S de tamaño grande, la cual se puede combinar con cinco antígenos, por lo tanto, es eficaz para aglutinar bacterias. La IgM se denomina un anticuerpo dominante a una respuesta primaria se produce sin una previa estimulación antigénica, de tal manera se desarrollan anticuerpos naturales. Esta macroglobulina no traspasa la barrera placentaria, de modo que si el feto tiene antígenos incompatibles estos son protegidos de los anticuerpos de la madre (Llumigusin, 2015).

La inmunoglobulina M se presentan mediante inmunologías inespecíficas o como señal a una inicial inmunización a infecciones sanguíneas bacterianas, teniendo un poder aglutinante. Se localiza a un 13% del total de la inmunoglobulina G del suero sanguíneo (Echeto *et al.*, 2002).

Inmunoglobulinas A

La inmunoglobulina A sobresale en secreciones endocrinas en el que, al hospedador le da la primera defensa inmune frente a cualquier microorganismo diferente. Por tanto, es el mayor isotipo de la superficie en mucosa intestinal. Es un anticuerpo predominante que se encuentra en forma de dímero 11S en las secreciones, la cual tiene un mecanismo de defensa en la superficie mucosa (Llumigusin, 2015).

Esta inmunoglobulina cuando se sintetiza por plasmocitos al ser secretora concede una inmunidad pasiva mediante el calostro, ya que contiene carbohidratos localizándose en las secreciones intestinales, exudados de leche y epitelios respiratorios ejerciendo una importancia en la inmunidad local del animal. Las inmunoglobulinas que se ubican en sangre se hallan en el tejido mamario en inicio de la lactancia, el cual apoya a la producción de inmunoglobulinas en calostro, pero en estadios tardíos en glándulas mamarias no se encuentran (Echeto *et al.*, 2002).

Carga bacteriana en heces de vacas preparto

Las heces del ganado bovino contienen una cantidad considerable de microorganismos de bacterias, virus y parásitos. Los coliformes que son frecuentes son *Escherichia coli* (*E.coli*) porque es un residente del tracto intestinal, como señal de una contaminación fecal en alimentos y agua. Este microorganismo es omnipresente en el entorno de la vaca y no se puede eliminar fácilmente, incluso en animales con un manejo exhaustivo (Heras *et al.*, 2016).

Coliformes totales

Las coliformes totales son un grupo de bacterias que pueden encontrar en diversos ambientes como también en intestinos de los seres humanos, estos pueden basarse en organismos que causan enfermedades en asociación con diferentes bacterias, pueden encontrarse en el medio provocando contaminación y una presencia de patógenos Coliform Bacteria, [RandWater], 2022).

Se pueden asociar principalmente con la contaminación de material fecal y se utilizan como indicadores de contaminación microbiológica y son importantes para la eficiencia de tratamiento en descomposición de bacterias. Se pueden usar para evaluar calidad mediante valores en la Organización mundial de la Salud (OMS) en muestras de estudio diferenciadas del tipo de uso que pueda ser la contaminación (Bera, 2022).

Coliformes fecales

Son coliformes que fermentan lactosa en medio EC con producción de gas en un tiempo de 48 horas a una temperatura de 45,5°C. La temperatura de incubación que se usa es de 44,5°C, en donde las coliformes fecales pueden juntarse con la contaminación de material fecal del animal infectado. Las *Escherichia coli* representan un 75 al 95% para el contero de las coliformes fecales, pero en algunas ocasiones pueden constituir el 1% del conteo para coliformes (Coliform y *Escherichia coli*, [Orengstone], 2022).

En vacas adultas un recuento de coliformes es de 15 a 20 por cada 100 ml lo que puede causar una diarrea e inapetencia. En coliformes fecales un resultado positivo es más de 0

sobre 100 ml indicando una contaminación a corregirse (Center for Food Security y Public Health [CFSPH], 2018).

Técnicas de diagnóstico

Refractometría

La refractometría manual utiliza una gota de suero sobre el prisma, posterior a ello se condujo hacia una fuente de luz para realizar la lectura en la escala de proteínas totales, el cual es su límite entre el campo color blanco y campo de color azul para el dato del resultado. La refracción es el suceso producido por el desvío de la luz de sustancias de interés para un siguiente análisis del estado de salud del animal (Bottini *et al.*, 2021).

Inmunoglobulinas con sulfato de amonio

La técnica incluye el reactivo sulfato de amonio para la precipitación sobre las inmunoglobulinas a gran escala con finalidades comerciales, el filtrado y precipitados se utilizan para análisis de contenido de albumina y globulina para la posterior separación del suero (Hassan *et al.*, 2020).

La purificación con sulfato amónico se utiliza para la separación de los anticuerpos del inmunosuero, el cual consiste en que las proteínas solubles construyen un puente de hidrógeno con las moléculas de agua por medio de los grupos polares, a lo que incorporan concentraciones de iones elevados cargado con el amonio y sulfato, estos reactivos concurren con las moléculas de proteínas. Por lo tanto, las proteínas al degenerar la unión con las moléculas de agua reducen su solubilidad generando una precipitación. La precipitación de las inmunoglobulinas varía con la especie de animal para su diagnóstico (Zuñiga, 2014).

El sulfato de amonio es el reactivo más utilizado por su alta solubilidad porque permite la aparición de fuerzas iónicas para los precipitados. En un perfil de solubilidad de cinco proteínas en presencia de amonio como agente principal del sulfato de amonio, cada proteína tiene rangos limitados de una fuerza iónica en el que hay una reducción de solubilidad. La

hemoglobina y pseudoglobulina tienen comportamientos semejantes en solubilidad con la estructura molecular (Carvalho, 2015).

Parasitosis (Coproparasitario)

Se trata la observación de porciones fecales para buscar macro y microscópica parásitos albergados en el hospedador, se encuentran en diferentes sistemas como digestivo (hígado) y respiratorio (Figuroa, *et al.*, 2018).

Es un método de diagnóstico para el análisis de carga parasitaria acerca de ooquistes, trofozoítos, esporas, quistes en heces, es muy utilizado para identificar si existe una presencia de parásitos en tracto digestivo (Caicedo, 2018).

Examen microscópico

Se puede evidenciar mediante muestras de materia fecal la existencia de parásitos según las diferentes formas en el núcleo en periodo patente, mediante un microscopio desde un menor enfoque hasta el máximo para visualización de características únicas del huevo parasitario (Figuroa, *et al.*, 2015).

Técnicas de coproparasitario

Existen varias técnicas para un coproparasitario, se diferencian en los métodos como en sus materiales, si es para identificar la presencia de parásitos, es cualitativas, y las que indican una intensidad con atención clínica son cuantitativas. Los métodos para una prueba de coproparasitario tienen características en sensibilidad, ejecución inmediata y resultados fiables. En la interpretación de resultados existen características necesarias para la detección de parásitos como: consistencia de material fecal, distribución de parásitos, muestras frescas ya que los nematodos en envases pueden seguir desarrollándose (Figuroa, *et al.*, 2015).

Técnica de sedimentación

Esta técnica favorece la observación de parásitos, protozoos con formas tróficas de amebas y giardias, mediante una solución densa su principal objetivo es que los parásitos se

encuentren en el fondo del sedimento que se lo realiza mediante una centrifuga para su posterior identificación en el microscopio (Rosendo, 2018).

Mediante el uso del método de sedimentación se puede realizar el conteo de huevos en el material fecal del animal, se basan en una concentración mayor de densidad de huevos en trematodos que los detritus, el cual permite un sedimento tras varios lavados, en bovinos tiene una sensibilidad del 93% y especificidad del 91% (Cusma, 2018).

Técnica de flotación

Identifica a huevos de los parásitos situados en gastrointestinales, porque por su pequeña densidad flotan hacia la superficie de la solución con material fecal. Mediante la solución saturada de sal o azúcar están entre un rango de 1.18 y 1.20 o menor a ella (Coronel, 2016).

Los huevos de los diferentes parásitos flotan en una solución densa mientras que los detritus (residuos de materia solida resultante de una descomposición) se sedimentan, de esta manera se puede descartar infecciones leves. En trematodos los huevos por lo general son más pesados y necesitan de una solución de yoduro mercurato de potasio a una densidad de 1.44, es poco usada por su toxicidad y ser corrosiva. Mediante la técnica de flotación se pueden observar diferentes huevos de nematodos, cestodos y ooquistes de protozoarios (Figuroa, *et al.*, 2015).

Interpretación: Para su interpretación de resultados existen recomendaciones de realizarlo durante tres días consecutivos con muestras de material fecal siempre fresca para no alterar resultados durante su análisis en un examen microscópico, incrementando a la técnica su sensibilidad con la presencia notoria de huevos de parásitos en un periodo patente (Figuroa, *et al.*, 2015).

Técnicas de diagnóstico de inmunoglobulinas en suero sanguíneo

Las técnicas permiten una detección de anticuerpos a partir de un volumen pequeño de suero sanguíneo, su sensibilidad y especificidad a los anticuerpos mediante nuevas técnicas han incrementado, de tal manera que permiten realizar diagnósticos a enfermedades que pueda presentar el animal (Hernández y Cabiedes, 2010).

Inmunofluorescencia indirecta

Es una técnica de fácil manejo y estandarización, pese a lo cual su interpretación necesita de un previo conocimiento con experiencia. Se basa en el reconocimiento de los anticuerpos de estructuras antigénicas de células nativas. Existe una relación entre el anticuerpo anti-inmunoglobulina humana producido en animales direccionado a fracciones de inmunoglobulinas IgG, IgA e IgM. Los resultados presentes en suero o plasma se valoran mediante microscopio de epifluorescencia (Hernández y Cabiedes, 2010).

Técnicas de coprocultivo e identificación de carga bacteriana

Se realizan con el fin de identificar a los agentes patógenos mediante el crecimiento bacteriano, por medio de una cantidad de muestra de heces en un medio de cultivo para su posterior análisis. Es importante reconocer las distintas bacterias sean estén de microbiota intestinal y patógenas, las cuales generan diferentes síntomas en el hospedador (Cedeño, 2019).

Agar Mac Conkey

Es un medio selectivo y diferencial usado para aislamiento de bacilos de enterobacterias y del género *Pseudomonas*. El agar se usa para el aislamiento de bacterias entéricas gram negativas y la diferenciación de bacterias gram positivas encargadas de la fermentación de lactosa. También se usan como medio para la diferenciación de bacterias porque, poseen la capacidad de fermentar azúcares (Allen, 2005).

Agar EMB o Levine

Es un medio para el aislamiento de tipo diferencial para enterobacterias tanto fermentadoras como no fermentadoras, con eosina y azul de metileno, la composición permite que los grupos de coliformes fermenten, es decir, dejando colonias de coloración azul o morada metálica, mientras que las que no se fermentan de color rosa ligero (Cedeño, 2019).

Agar sangre

Es un medio con una finalidad en general, aísla microorganismos mediante el cual se puede diferenciar las colonias con características de borde regular, translucido. Se puede identificar a distintos agentes de las coliformes. En su contenido es rico en nutrientes, por lo tanto, tolera un crecimiento de varias bacterias y permite hallar hemólisis (Tipán, 2012).

Agar S.S (*Salmonella* y *Shigella*)

Es un agar que permite caracterizar de *Shigella sp.*, por el metabolismo fermentativo y oxidativo, el cual pertenece a los bacilos tipo móvil por los flagelos. Permite la detección de carga bacteriana ya que produce ácido sulfhídrico, lactosa y urea negativas, se puede identificar a la *Salmonella* entérica causante de diferentes síntomas de tracto intestinal siendo infecciosa y transmitible (Cedeño, 2019).

Siembra en Placas “Petrifilm”

La técnica de siembra Petrifilm es usada para el contero de coliformes y *E.coli* en específico, en el cual un agente es gelificante con contenido de nutrientes y un indicador de la actividad laglucoronidasa en la que facilita la enumeración de las colonias, acompañado de un gas o burbuja junto a la colonia. Puede usarse como análisis de parámetros microbiológicos de coliformes, hongos, levaduras y enterobacterias (De la Cruz, 2013).

Placa para recuento de coliformes “Petrifilm 6416”

La placa es un medio de cultivo para muestras que contienen nutrientes de bilis rojo violeta, además de un agente gelificante soluble en agua a temperatura fría y un indicador de

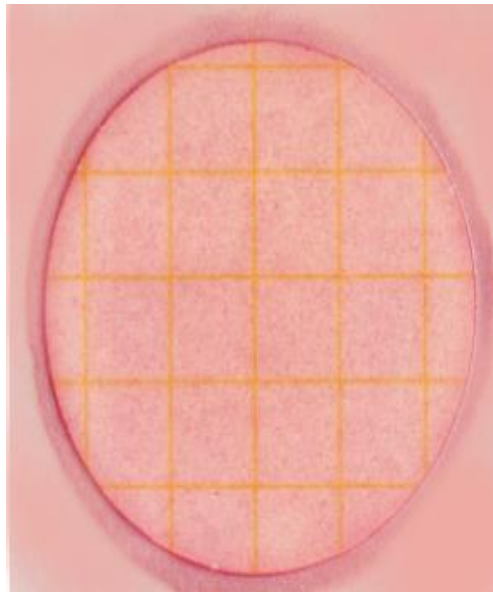
tetrazolio que permito su posterior conteo de colonias en cada placa. Las coliformes son bacilos gramnegativos, las cuales produce ácido y gas por la fermentación de la lactosa, las colonias producen ácido, lo cual es indicador de pH y esta se encuentre alrededor de la colonia roja (3M, 2020).

Interpretación para recuento de coliformes

La identificación de coliformes se realiza por el recuento entre 15 y 150 colonias, en el caso de ser masiva se debe realizar diluciones seriadas. Existen recomendaciones por medio del método validado por la AOAC Internacional (Association of Analytical Communities) (3M, 2020).

Figura 2

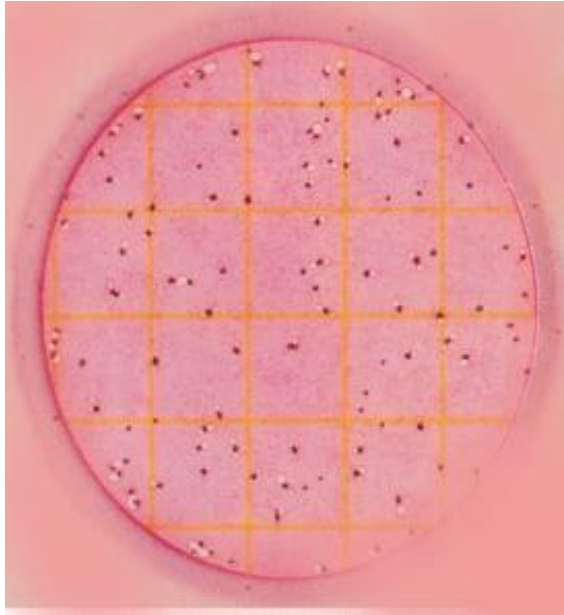
Crecimiento cero de colonias de coliformes



Nota. En el gel las burbujas de fondo son propias del gel y no existe crecimiento, por tanto, no son resultados para el recuento. Recuperado de (3M, 2020)

Figura 3

Recuento de colonias coliformes



Nota. Colonias contables en un total de 79, dentro del rango en población total de coliformes. Recuperado de (3M, 2020)

CAPITULO III

METODOLOGÍA

Ubicación del lugar de investigación

La presente investigación, se realizó para la toma de muestras en el Taller de Ganadería de las instalaciones de la Carrea Agropecuaria IASA I, de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.

El trabajo fue realizado con la colaboración de algunos laboratorios: Laboratorio de mejoramiento genético y sanidad animal IASA I, Biotecnología animal, Inmunología y virología de Biotecnología y Biotecnología Vegetal IASA I.

Ubicación geográfica

Geográficamente el área de estudio se encontró en las coordenadas de las instalaciones de la Carrea 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 4

Vista aérea del lugar de la investigación



Nota. Recuperado de (Google Earth, 2023)

Materiales y Métodos

Equipos:

Se utilizaron dentro de la investigación los siguientes: microscopio, cámara de flujo laminar, incubadora, balanza, centrifuga refrigerada, centrifuga, Multiscan.

Reactivos:

Para la realización de coproparasitario se usó Lugol y como medio diluyente para las diluciones en placas petrifilm es la peptona.

Métodos:

Refractometría, BCA, espectrofotometría, hematocrito

Fase de campo

En el presente estudio se utilizó las siguientes vacas en estado de gestación:

1740,1738,1810,1908,1919, V205, V233, 1813, V2013, V232.

Tabla 2

Historial reproductivo de vacas en estudio

N° Vaca	Partos		
	Macho	Hembra	Aborto
1740	1	2	1
1738		3	
1810	2	1	
1908	1	1	
1919	1	1	
V205		2	
V233	1		
1813		2	
V213	2		
V232		1	

Nota. Elaboración propia

En la tabla 2 se puede identificar que una vaca en estudio tuvo un proceso abortivo, el cual se desconoce su causa, ya que mediante el análisis de las variables en estudio se puede identificar que es el animal 1740.

Protocolo parto

El lote de maternidad se encontró alrededor del Taller de Ganadería el cual se aplicó los siguientes medicamentos: 10 ml de ADE vía subcutáneo, 60 ml de desparasitante oral Triclabendazole 12%, Albendazole 10 %; Además se realizó el corto del plumero de cola, antes de la designación del lote para su posterior control.

Recolección de muestras

Para las vacas parto, la toma de muestras fue 10 días previos a la fecha del posible parto, se las trasladó a la manga, la cual permite una adecuada sujeción y eficiente recolección de muestras (heces, sangre). La extracción de sangre se obtuvo de vena coccígea con vacutainer en tubos lila y rojo. En heces se recolectaron mediante la estimulación del esfínter, se los coloco en frascos esterilizados con el respectivo número de arete de cada vaca.

Figura 5

Recolección de sangre de la vena coccígea



Nota. Autoría propia

Figura 6

Recolección de heces



Nota. Autoría propia

Fase de laboratorio

Esta fase comprendió la preparación posterior de la recolección de las muestras en heces y sangre en el Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal, del Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, Carrera Agropecuaria, en el cual se realizó coproparasitario por la técnica de flotación para identificar los huevos de parásitos presentes. En el área de hematología la extracción de suero sanguíneo para la determinación de proteínas totales, inmunoglobulinas, como también el valor de hematocrito. En el área de microbiología, el coprocultivo con 1g de heces frescas para la colocación en placas Petrifilm para carga bacteriana.

Laboratorio de Inmunología

Hematocrito

Se extrajo 5 mL de sangre de la vena coccígea en un tubo que contenga la solución anticoagulante y se invirtió hasta homogenizar.

El tubo se inclinó de la muestra de sangre, luego de colocar el capilar sin heparina dentro, para que suba por capilaridad, hasta llenar las tres cuartas partes de su total capacidad.

Mediante plastilina se selló la parte inferior del capilar para evitar la salida de la sangre.

En la centrifuga, se introdujo los tubos capilares, con los extremos de plastilina para afuera, a una velocidad de 1000 revoluciones por minuto (rpm) por 5 minutos.

Una vez transcurrido el tiempo se retiró los tubos y con la ayuda de la carta de lectura se determinó el índice del % de hematocrito.

El capilar se coloca de manera que inicio de la sangre tenga relación con la línea base, el valor es la línea donde se encuentre el plasma y las células.

Figura 7

Realización de prueba de hematocrito



Nota. Autoría propia

Proteínas totales

Se extrajo 10 mL de sangre de vena coccígea en un tubo sin anticoagulante. Se colocó en la centrifuga a una velocidad de 4000 rpm por 7 minutos, con un tubo del mismo material y nivel al frente, para proceder a extraer suero sanguíneo.

Mediante una micropipeta, se extrajo el producto final de suero sanguíneo para colocarlo en tubos eppendorf.

El refractómetro se lo calibro con agua destilada hasta obtener en su línea base 2 g/100 mL.

Se retiró 30 μ L de suero sanguíneo y se colocó en el prisma principal para su lectura final restándole dos g/100 mL ya que su nivel empieza en ese valor.

Inmunoglobulinas

Precipitación de proteínas

Se preparó la solución saturada de sulfato de amonio a una concentración del 60%, es decir 60 gramos por cada 100 mL de agua destilada; por lo tanto, en un vaso de precipitación se colocó el reactivo granulado con agua y con un agitador se disolvió hasta obtener una solución saturada, a continuación, con una tira de pH se midió para ajustarlo tanto con hidróxido de sodio o ácido clorhídrico al requerido de pH 7.8

Figura 8

Ajuste del pH para el sulfato de amonio



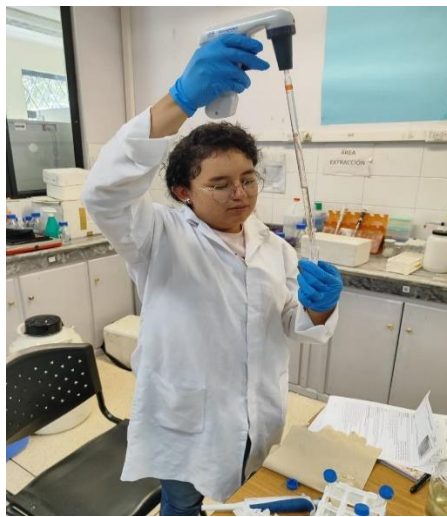
Nota. Autoría propia.

En un tubo falcon de 15 mL, se colocó 2 mL de suero más 3 mL de sulfato de amonio a una solución saturada con una pipeta graduada gota a gota en la solución. Para la incubación

se colocó en hielo de agua a los tubos falcon por 10 minutos para posterior a ello, llevarlo al vortex por 5 segundos.

Figura 9

Precipitación de proteínas con sulfato de amonio en suero bovino de vaca preparto



Nota. Autoría propia

Figura 10

Precipitación de suero con sulfato de amonio en tubo falcon



Nota. Autoría propia

Esto se logró en el Laboratorio de Biotecnología Animal; del Departamento de Ciencia de la Vida y Agricultura, que con la centrifuga refrigerada se modificó a 4490 rpm durante 15 minutos a 4 grados centígrados, una vez transcurrido el tiempo se retira el sobrenadante y se resuspende el mismo volumen del precipitado PBS 1X, para más adelante colocar el tubo en el vortex por 5 segundos. Se añadió las $\frac{3}{4}$ partes de la solución saturada es decir si su volumen es de 4 mL se añade 3 mL de sulfato de amonio con la pipeta graduada gota a gota. Se mantuvo por 10 minutos en el hielo el tubo y de la misma manera se colocó en la centrifuga refrigerada a la misma modificación inicial, para luego retirar el sobrenadante y el resultado del precipitado se colocó 1 mL de Phosphate Buffered Saline (PBS) 1X. Por último, se almacenó las muestras en tubos eppendorf con su respectiva numeración para la cuantificación a 4 grados.

BCA

Se preparó las diluciones de acuerdo con las instrucciones del fabricante para el procedimiento en la microplaca, la cual se basó en una solución base con relación a las muestras para la cuantificación mediante la siguiente formula:

$$\text{Volumen WR requerido} = (\# \text{ estandares} + \# \text{ incognitas}) * \text{replicas} * \text{volumen de WR por muestra}$$

En el kit de BCA se preparó los reactivos A y B en relación 50:1 para su posterior aplicación, en una microplaca se coloca 10 μ L de cada estándar y muestra por duplicado para una mayor confirmación del resultado.

La placa se incubó a 37°C por 30 minutos, una vez transcurrido el tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente y se mide la absorbancia a 562 nm. Con la curva de calibración de los estándares para PBS para así calcular la concentración de cada muestra en mg/mL.

Cuantificación de proteínas por especto fotometría

En la microplaca se empezó con un lavado inicial a cada pocillo , esto fue realizado en el Laboratorio de Biotecnología Animal; del Departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura, para su posterior análisis, por lo tanto, se colocó ácido clorhídrico y agua destilada, cada pocillo

tiene una enumeración alfabética desde A a H, en el primer pocillo de la izquierda se colocó PBS como muestra blanco ya que es disolvente de las proteínas, de forma continua hacia abajo se colocó 2 µL muestra con su respectivo duplicado, una vez que se acabó de colocar las muestras se cierra la tapa de la microplaca y se la ubicó en el multiscan a una longitud de onda de 280 nm para la cuantificación de proteínas.

Área de parasitología del laboratorio de mejoramiento genético y sanidad animal

Coproparasitario técnica flotación

Un día previo al ensayo se realizó la solución salina la cual se sobresatura el agua destilada y sal, posterior a ello se coloca en un decantador para el retiro de cristales en su base.

En un frasco estéril se retiró una porción de heces para su posterior uso, el cual la primera cuarta parte se llena de heces y se homogeniza con agua saturada hasta 100 mL del frasco de orina. En otro frasco con la ayuda de un colador se traspasó el líquido para colocarlo en un tubo de 10 mL en una gradilla. Con la pipeta se llena hasta obtener un menisco invertido para que se pueda obtener la muestra transcurridas dos horas.

En un portaobjetos se colocó una gota de lugol y se toma una muestra cerca del menisco invertido para visualizar su resultado en el microscopio.

Para la determinación de la carga parasitaria con los resultados obtenidos se especificó mediante la siguiente formula:

$$Carga\ parasitaria = \frac{\text{número de huevos de párasitos}}{\text{Gramo de muestra}} \times 100$$

El gramo de muestra de heces se realizó mediante el pesado en un vaso de 100 mL el cual el valor es: 22.088 g

Figura 11

Huevo de parásito Trichuris ovis



Nota. Visualización en lente 40x

Área de microbiología del LMGSA

Coprocultivo

El medio que se utilizó es Peptona a una concentración del 0,1%, es decir por cada 100 mL, por lo tanto, para 1000 mL se obtuvo 1 g de soluto en un bote de 1 litro. Dentro de la cámara de flujo laminar se dispuso en tubos de ensayo con volúmenes de 10 mL y 9 mL para la dilución que se necesitó.

Para el procesamiento de las heces se lo realizó en el área coproparasitológico, el cual mediante un mechero y una homogenización previa en los frascos esterilizados se retiró una porción para un tubo eppendorf con su respectivo detalle de arete de la vaca. Una vez lista la muestra limpia se la llevó al área de microbiología, el cual mediante una balanza en una porción pequeña de aluminio se pesó 1g de heces para posterior a ella colocarlos en el tubo

con el medio peptona, una vez finalizada se flameo el borde superior del tubo de ensayo y se enrosco la tapa, para llevarlo al agitador vortex para homogenizarlo por 15 segundos.

Dentro de la cámara de flujo laminar se desinfecta cada instrumento a utilizar con alcohol al 70%, el tubo de 10 mL es el de la solución madre, el cual contiene 1g de heces, por lo tanto, se procedió a retirar 1000 μ L y se colocó en un tubo de 9 ml para posterior a ello homogenizar en el agitador vortex por 15 segundos, se realizó dos diluciones, es decir se trabajó en solución madre, 10^{-1} y 10^{-2} . Para la siembra en una placa Petrifilm se levantó el papel absorbente para colocar 1000 μ L perpendicular al agar para su distribución. Siguiendo a la siembra, se colocó en una incubadora a temperatura de 37° y se observó los resultados 24 horas después.

Figura 12

Siembra de heces en placas petrifilm



Nota. Autoría propia

Figura 13

Conteo de colonias en la placa petrifilm



Nota. Autoría propia

Diseño experimental

Se realizó una estadística descriptiva con el programa InfoStat para los diferentes análisis de las variables en estudio y la interpretación de los resultados.

Variables evaluadas

Tabla 3

Detalle de variables en estudio

Descripción	Variable	
	Cualitativa	Cuantitativa
Hembras: - Primerizas - Multíparas		x
Concentración de inmunoglobulinas (mg/dL)		x
% de hematocrito		x
Género de parásitos	x	
Carga parasitaria (número/g)		x
Género de bacterias	x	
Número de bacterias coliformes (UFC/g)		x

Nota. Autoría propia

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se muestrearon un total de 10 vacas preparto, las cuales se encontraban en el área de maternidad de la Hacienda el Prado - IASA I. Los resultados que se detallan más adelante son de cada una de las variables como coproparasitario, carga bacteriana, inmunoglobulinas y hematocrito en relación con el estado de salud de los bovinos.

Se tomaron únicamente dos vacas primíparas y ocho multíparas, debido a que no existió más vacas primerizas. Por lo tanto, existe un sesgo de muestreo de 8 contra 2.

Tabla 4

Número de vacas preparto por parto

Vacas	N	%
Primerizas	2	20
Multíparas	8	80
Total	10	100

Nota. n: número de muestras, %:

porcentaje equivalente

Se observa en la tabla 4 existe mayor número de bovinos hembra en las multíparas es decir que ya tuvieron más de un parto, a diferencia de las primerizas con dos animales; no se tiene un número de animales similar en los grupos por factor tiempo de realización de la investigación.

Al respecto de lo anterior se considera que (Galindo, 2021) los animales multíparas son fundamentales en producción que las primerizas, así mismo que la clasificación y selección de animales como reproductores crean un filtro en el cual la ganadería solo se queda con aquellos animales por características que contribuyan al cumplimiento de objetivos de la unidad de explotación.

Porcentaje de hematocrito

Tabla 5

Porcentaje de hematocrito en vacas preparto

N° Arete	Partos		Hematocrito (%)
	Primípara	Multípara	
V233	X		35
V232	X		34
1738		X	35
1740		X	35
1908		X	30
1813		X	37
1810		X	34
V213		X	36
1919		X	35
V205		X	40
	\bar{x}		35,10
	DS		2,51
	Máximo		40
	Mínimo		30

Nota. Autoría propia

En el caso del hematocrito, estos resultados concuerdan con el reportado con (Castro, 2017) en donde los rangos normales de hematocrito están entre 26-46% para vacas; en la tabla 5 el porcentaje está dentro de lo normal también se evidencia el máximo y mínimo. Por medio del máximo y mínimo existió una diferencia del 10% debido a la edad que las vacas en estudio corresponden, ya que es un factor que afecta significativamente a la composición de la sangre, por tal motivo la menor 1908 tiene 4 años a diferencia de la máxima V205 3 años, el número de partos de las dos vacas son similares a 2; una de las causas de un hematocrito bajo puede deberse a una infestación parasitaria la que puede afectar los niveles de sangre del animal.

Carga bacteriana

Tabla 6

Conteo de colonias coliformes en vacas preparto

N° Arete	Parto		UFC/g
	Primípara	Múltipara	
V233	X		11600
V232	X		11500
1738		X	1060
1740		X	1520
1908		X	2900
1813		X	1260
1810		X	1180
V213		X	1400
1919		X	1960
V205		X	1510
	Promedio		3589

Nota. Autoría propia

En la tabla 6, se puede evidenciar el conteo en UFC/g de las colonias de coliformes, el cual en una placa Petrifilm usada como metodología de laboratorio con muestras menores a 100000 UFC/ml y mayores a 10000 UFC/ml se consideran en rangos normal en vacas adultas (Morin *et al.*, 2021).

Las hembras bovinas en el estudio para el conteo de coliformes se diferencian en primerizas las cuales tiene su valor más alto, el cual (Pérez *et al.*, 2022) a mayor edad y partos el sistema inmunológico de la vaca es más deficiente y este es otro factor para contraer una infección, por lo tanto, las vacas múltiparas concuerdan ya que su nivel de carga bacteriana es menor al de las primerizas. Como se observa en la tabla existió un margen de diferencia entre la vaca V233 que es primípara con una carga bacteriana 11600 a la vaca 1738 con 1060 UFC/g

Inmunoglobulinas

Tabla 7

Proteínas totales con refractometría

N° Arete	Parto			Unidad (g/dL)
	Primípara	Multípara	Aborto	
V233	X			7
V232	X			7.6
1738		X		8
1740		X	X	8.1
1908		X		8
1813		X		7.5
1810		X		8
V213		X		7.2
1919		X		7.8
V205		X		6.5

Nota. Autoría propia

En la tabla 7 mediante el análisis con la técnica de refractometría, el cual, en las vacas preparto, permite analizar el contenido que poseen, para proteínas totales, por medio de (Ate *et al.*, 2009) afirman que los valores hematológicos de las vacas durante el tercer trimestre de embarazo y lactancia temprana en ganado establecido es entre 6.2 a 8.2 g/dL, el cual en el estudio cumple con el rango normal.

La vaca 1740 como se mencionó anteriormente tiene un aborto, el cual se pudo comprobar que los animales que tiene procesos infectocontagiosos durante su vida generan anticuerpos, los cuales se ven reflejados en la concentración de las proteínas totales y es su nivel potencial inmunológico para una transmisión a la progenie.

El potencial de inmunidad es directamente proporcional de la madre a la cría, una madre saludable dará una cría con mayor probabilidad de supervivencia y resistencia a la transmisión de enfermedades.

Tabla 8

Resultado de tres metodologías para proteínas totales

N° Arete	Método	Resultado proteína (mg/mL)	Dosis (µL)
V233	Refractómetro	70	30
1738	Refractómetro	80	30
V232	Refractómetro	76	30
1740	Refractómetro	81	30
1908	Refractómetro	80	30
1813	Refractómetro	75	30
1810	Refractómetro	80	30
V213	Refractómetro	72	30
1919	Refractómetro	78	30
V205	Refractómetro	65	30
V233	Espectofotometría	9	2
1738	Espectofotometría	9,4	2
V232	Espectofotometría	10,475	2
1740	Espectofotometría	14,725	2
1908	Espectofotometría	14,425	2
1813	Espectofotometría	4,67	2
1810	Espectofotometría	11,425	2
V213	Espectofotometría	7,6	2
1919	Espectofotometría	4,8025	2
V205	Espectofotometría	8,125	2
V233	BCA	0,02469	10
1738	BCA	0,016683333	10
V232	BCA	0,02585	10
1740	BCA	0,041916667	10
1908	BCA	0,042983333	10
1813	BCA	0,04325	10
1810	BCA	0,053416667	10
V213	BCA	0,08425	10
1919	BCA	0,105583333	10
V205	BCA	0,096683333	10

Nota. Autoría propia

En la tabla 8 se detalló los tres métodos para la cuantificación de proteínas totales en suero de bovino en las vacas preparto, el método que se usó para la relación de inmunoglobulinas fue el de refractómetro manual ya que varios autores hacen referencia en sus investigaciones con esta técnica donde representan entre el 70 – 80% de las proteínas totales.

Tabla 9

Comparación de tres métodos para proteínas totales

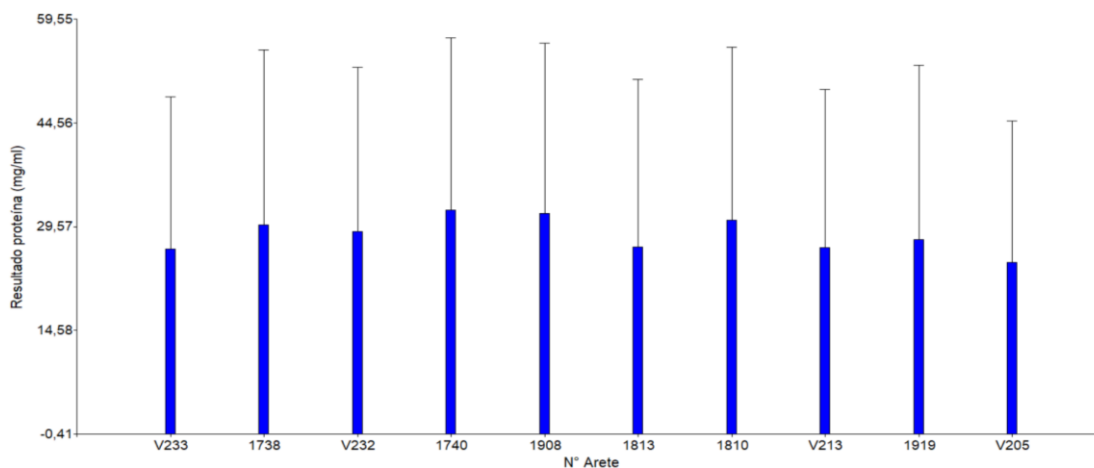
Correlación entre Resultado proteína (mg/ml) y Dosis (µl)		
	Resultado proteína (mg/ml)	Dosis (µl)
Resultado proteína (mg/ml)	1,00	0,00
Dosis (µl)	0,91	1,00

Nota. Autoría propia

En la tabla 9 mediante los métodos refractometría, BCA y cuantificación por espectrofotometría en suero bovino, se realizó una correlación la cual el resultado si depende de la dosis.

Figura 14

Relación de N° de arete con resultados de proteínas (mg/dL)



Nota. Autoría propia

Campos *et al.*, (2007) menciona que “Las concentraciones de inmunoglobulinas son más bajas en primerizas que en vacas multíparas, ya que tienen un sistema inmune más desarrollado debido a una mayor exposición de antígenos, los cuales serán transmitidos a las crías. De igual manera, la capacidad secretora de la glándula mamaria es superior y poseen un mecanismo activo de transporte de inmunoglobulinas.

Carga parasitaria

Tabla 10

Conteo de huevos de parásito Trichuris ovis

N° de Vaca	Huevos con Lugol	Huevos sin Lugol	Carga parasitaria con Lugol	Carga parasitaria sin Lugol
V233	9	6	40.75	27.16
1738	8	4	36.22	18.11
V232	4	2	18.11	9.05
1740	7	4	31.69	18.11
1908	9	7	40.75	31.69
1813	8	4	36.22	18.11
1810	10	7	45.27	31.69
V213	7	5	31.69	22.64
1919	9	24	40.75	108.66
V205	8	10	36.22	45.27

Nota. Autoría propia

Mediante la tabla 10 se puede evidenciar la cantidad de carga parasitaria, el cual (Montero *et al.*, 2020) menciona que existen una clasificación dependiendo de la carga en el que 10 a 25 huevos por gramo son un nivel moderado y entre el rango de 100 a 200 se considera una infestación grave.

En el estudio la carga parasitaria sin Lugol las vacas que se encuentran con un grado moderado son 1738, V232, 1740,1813,V213; mientras que las vacas con alto nivel a un grado grave son V233,1908,1810,1919,V205 en el que se evidenció con una mayor contaminación como afirman los autores (Delgado y Mera, 2011) una alta carga parasitaria en el instante de trasladar las vacas a otro lote donde se encuentran en pastoreo, puede ocurrir que al pasar del

potrero los parásitos se hallaban de forma latente puede llegar a ser contaminados. Por lo tanto, hay infestación parasitaria, confirmando en el coproparasitario.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- En el presente estudio fue posible estimar la carga bacteriana mediante placas de petrifilm con heces fecales para las coliformes y en inmunoglobulinas se realizó con la medición de proteínas totales para una relación en los resultados de 10 vacas parto en la Hacienda el Prado IASA I.
- Para la determinación de los huevos de parásitos en las heces de las vacas parto se realizó mediante la técnica de flotación, la que permitió reconocer a los huevos de *Trichuris ovis* presente en el material fecal de todas las vacas y el 50% de los animales en estudio presentan una carga parasitaria en nivel moderado por motivos de estancia en los potreros con parásitos de forma latente.
- Mediante la utilización de las metodologías en cuantificación de proteínas refractometría y BCA, se pudo medir las inmunoglobulinas presentes en sangre de las vacas parto las cuales se evidencia que las concentraciones de inmunoglobulinas son bajas en primerizas que en vacas multíparas, ya que tienen un sistema inmune más desarrollado debido a una mayor exposición de antígenos.
- Para la cuantificación de bacterias coliformes mediante cultivo en placas petrifilm 6416 presentes en heces de las vacas parto, existió un conteo mayor a 10000 y menor a 100000, el cual se encuentra dentro de los rangos normales para la metodología usada, como también una diferencia de carga bacteriana entre primerizas y multíparas en relación con su edad.

Recomendaciones

- Para la determinación de las diferentes inmunoglobulinas en la vaca preparto, se recomienda analizar con otro método como inmunodifusión radial con mayor sensibilidad en concentraciones ya establecidas por otros autores.
- Se recomienda incorporar un hemograma para tener una referencia de infección vírica o bacteriana.
- Introducir más variables en los partos en diferentes intervalos de 1 a 3, 4 a 6 y mayor a 6
- Realizar un estudio endémico en el IASA I de las diferentes enfermedades como Brucelosis, Neospora, IBR, DVB.

Bibliografía

- 3M. (2020). 3M™ Petrifilm™ *Simplemente rápidas, precisas y productivas*. Petrifilm Microbiology Indicador Plates. Recuperado el 01 de mayo de 2023 de 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>
- Allen, M. (2005). *MacConkey Agar Plates Protocols*. [Archivo PDF]. <https://asm.org/ASM/media/Protocol-Images/MacConkey-Agar-Plates-Protocols.pdf?ext=.pdf>
- Ate, I., Rekwot, P., Norl, A., y Tekdel, L. (2009). Haematological values of cows during third trimester of pregnancy and early lactation in settled cattle herds in Zaria, Northern Nigeria. *African Journal of Biomedical Research*, 12(3), 7. <https://www.ajol.info/index.php/ajbr/article/view/95171/84519>
- Bera, B. (2022). Total Coliform and Fecal Coliform Bacterial Estimation Assessing Water Quality of Lake Saheb Bandh. *International Journal of Aquatic Science*, 13(01), 14. https://www.journal-aquaticscience.com/article_147370_428ef2faa87ddc449e6efd05d18d27ba.pdf
- Berneda, M., Noble, C., y Rodríguez, M. (2019). *Efecto del nivel de alimentación preparto sobre el reinicio de la actividad lútea de vacas lecheras a pastoreo* [Tesis de Grado, Universidad de la República]. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/25212>
- Bottini, Simonetti, L., Peña, S., López, G., y Fernández, M. (2021). Comparison of three methods to quantify total proteins in goat sera. *Sociedad de Medicina Veterinaria*, 102(3), 3–6. [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)

- Caicedo, K. (2018). *Identificación de organismos de filo apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos* [Trabajo de Titulación, Universidad de las Américas].
<https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2795347>
- Calsamiglia, S. (2015). *Nuevos avances en el manejo y alimentación de la vaca durante el parto*. [Archivo PDF]. Recuperado el 07 de mayo de 2023 de
https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria/56-alimentacion_y_manejo_vaca_parto.pdf
- Campos, R., Carrillo, A. F., Loaiza, V., Giraldo, L., y Calero, D. (2007). *El calostro: herramienta para la cría de terneros* [Proyecto de Investigación, Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira].
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/8431/romulocamposgaona.20072.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Carvalho, K. (2015). *Avaliação do uso de sais na precipitação de uma proteína empregada como agente antiviral* [Tesis de maestría, Universidad Federal de Uberlândia].
<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/15259>
- Castro, E. (2017, diciembre 12). Indicadores clínicos y sanguíneos en vacas autóctonas criadas en sistema extensivo. *Redvet*, 18(12), 3–9.
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640022.pdf>
- Cedeño, A. (2019). *Bacterias aisladas en coprocultivos realizadas en el laboratorio BioLab* [Informe de investigación, Universidad Nacional de Chimborazo].
<https://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/6673/1/8.-TESIS%20ANDY%20STEVEN%20CEDE%20C3%91O%20GARCIA.pdf>
- Center for Food Security y Public Health [CFSPH]. (2018). *Water Quality Dairy Cattle coliformes fecales*. [Archivo PDF].
https://www.cfsph.iastate.edu/Infection_Control/Routes/Water_Quality_Dairy_Cattle.pdf

- Coronel, A. (2016). *Elaboración de un manual de buenas prácticas sanitarias en bovinos de doble propósito en la granja experimental* [Trabajo de Titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5348>
- Costa, A., Goi, A., Penasa, M., Nardino, G., Posenato, L., y De Marchi, M. (2021). Variation of immunoglobulins G, A, and M and bovine serum albumin concentration in Holstein cow colostrum. *Animal*, 15(7). <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100299>
- Contexto Ganadero. (2020). *Prevención de parásitos desde que el feto está en el vientre*. Perulactea. Recuperado el 25 de mayo de 2023 de <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/aprenda-prevenir-parasitos-antes-de-que-el-feto-este-en-el-vientre-de-la-vaca>
- Cusma, O. (2018). *Variación de la prevalencia y carga parasitaria de Fasciola hepatica en vacunos muestreados en horas de la mañana y tarde del mismo día* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Cajamarca]. <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/2986/Tesis%20Completa%20Oscar%20Castillo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- De la Cruz, A. (2013). Evaluación de tres técnicas microbiológicas utilizadas para detectar coliformes totales y fecales en muestras de agua. *Visión Antataura*, (1(2013):101-110), 4–10. <https://revistas.up.ac.pa/index.php/antataura/article/view/209>
- Delgado, A., y Mera J. (2011). *Determinación de la carga parasitaria en tres especies* [Informe de investigación, Escuela Politécnica del Ejercito]. <https://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/4681/T-ESPE-IASA%20I-004571.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Echeto, O. E. V., Vargas, J. D., Oviedo, M. A. V., Oviedo De Vale, M. G., Castejón, O., y García, M. (2002, March 15). Blood serum Immunoglobulins levels (IgM, IgG, IgA) in Water Buffaloes under two Different Weaning Systems. *FCV-LUZ, XII* (3), 2–9.

https://www.researchgate.net/publication/286907093_Blood_serum_inmunoglobulins_levels_IgM_IgG_IgA_in_water_buffaloes_under_two_different_weaning_systems

Food and Agriculture Organisation, “Organización para la Agricultura y la Alimentación” (FAO). (2023). *El papel de la FAO en la ganadería y el medio ambiente*. Organización de Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura. Recuperado el 11 de mayo de 2023 de <https://www.fao.org/livestock-environment/es#:~:text=El%20papel%20de%20la%20FAO,pobreza%20y%20el%20crecimiento%20econ%C3%B3mico>.

Figuroa, A., Godínez J., y Vargas B. (2018). Parásitos gastrointestinales de ganado bovino y caprino en Quechultenango Guerrero México. *Aceptado: Febrero*, 11(6), 97–104. Recuperado el 11 de mayo de 2023 de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/438/318>

Figuroa, A., Pineda S., Godínez J., y Vargas D. (2018). Parásitos gastrointestinales de ganado bovino y caprino en México. *Agro productividad*, 11(6), 5–8. Recuperado el 15 de mayo de 2023 de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/438/318/737#:~:text=En%20el%20ganado%20bovino%20se,de%20especies%20de%20Eimeria%20spp>.

Figuroa, J., Jasso C., Liebano E., y Martínez V. (2015). Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria. In *Examen Microscópico* (pp. 4–52). [Archivo PDF]. <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v26n1/v26n1a02.pdf>

Figuroa, J., Jasso, C., Martínez, P., Rodríguez, R., y Zárate J. (2015). *Examen Coproparasitoscópico*. Recuperado el 21 de mayo de 2023 de https://www.researchgate.net/publication/279530633_Figuroa-Castillo_JA_Jasso-Villazul_C_Liebano-Hernandez_E_Martinez-Labat_P_Rodriguez-Vivas_RI_Zarate-Ramos_JJ_2015_Capitulo_3_Examen_coproparasitoscopico_En_Tecnicas_para_el_diagnostico_de_parasitos_c

- Galindo, F., (2021). *Apoyo profesional al logro de objetivos productivos y reproductivos en la sociedad agrícola y ganadera Maracaibo* [Informe de pasantía, Universidad Libre Colombia]. <https://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/21800?show=full>
- Garcia, A., y Kalscheur, K. (2017, Julio 8). La ración preparto de la vaca. *ResearchGate*, 2–3. Recuperado el 11 de mayo de 2023 de <https://www.researchgate.net/publication/318284773>
- García, A., y Díaz, F. (2019). Manejo de las vacas próximas al parto. *Dairy Science Department South Dakota State, Frisona Española* (194), 1–3. Recuperado el 22 de mayo de 2023 de <https://dellait.com/es/insights/manejo-de-las-vacas-proximas-al-parto/>
- González, E., (2020). *Frecuencia de hembras gestantes de ganado bovino sacrificado en el centro de faenamiento Tungurahua* [Trabajo de titulación, Universidad Agraria del Ecuador]. <https://cia.uagraría.edu.ec/Archivos/GONZALEZ%20SUAREZ%20ERIK%20DAVID.pdf>
- Google Earth. (2023). IASA. Recuperado el 17 de mayo de 2023 de <https://earth.google.com/web/@-0.3934297,-78.41337008,2754.48396302a,138.21042386d,35y,-117.67510038h,44.99397806t,0r>
- Hassan, H. S., Najam, A., Parveen, G., Ali, H., Channa, R. A., y Adeel, S. S. (2020). An optimized method of IgG's precipitation with ammonium sulphate from hyper immune horse plasma for snake anti venom production. *International Journal of Molecular Biology: Open Access*, 5(4), 166–169. <https://doi.org/10.15406/ijmboa.2020.05.00144>
- Heras, T., Enríquez, I., Gaxiola, S., Romo Javier, y Anne M. (2016). Behaviour of Escherichia coli in cow feces added with of hydrolysable tannins. *Abanico Veterinario*, 6(3). <https://doi.org/10.21929/abavet2016.63.4>
- Hernández, R., D. F., y Cabiedes, J. (2010). Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. *Reumatología Clínica*, 6(3), 173–177. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2009.10.003>

- Immler, M., Failing, K., Gärtner, T., Wehrend, A., y Donat, K. (2021). Associations between the metabolic status of the cow and colostrum quality as determined by Brix refractometry. *Journal of Dairy Science*, 104(9), 10131–10142. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19812>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos, [INEC]. (2023). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-bbd/>
- Llumigusin, C., (2015). “Evaluación de tres métodos de conservación (congelación, refrigeración, preservantes) de calostro de vacas Holstein Friesian a los 0, 15, 30, 45, 60 y 75 días en la parroquia de Machachi” [Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <https://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/2809>
- Molina, P., (2020). *Análisis de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos (Trematodos) para el diseño de vacuna de ADN* [Proyecto de Investigación, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/7059>
- Montero, A., Rodríguez I., y Gheldof P. (2020). Prevalencia y carga parasitaria mensual de nematodos gastrointestinales y Fasciola hepática en bovinos lecheros de dos distritos del Valle del Mantaro, Junín, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(2). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17819>
- 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>
- Coliform y *Escherichia coli*, [Orengstone]. (2022). *Coliforms, Fecal Coliforms and Escherichia coli*. [Archivo PDF]. <https://seafood.oregonstate.edu/sites/agscid7/files/snic/compendium/chapter-14-coliforms-fecal-coliforms.pdf>

- Palladino, A., (2020). *Manejo de la vaca en transición: Vaca Preparto*. [Archivo PDF].
https://puntoganadero.cl/imagenes/upload/_5db9d253331ac.pdf
- Pérez, R., Padilla F., González H., De la Cruz M., Castañeda H., y Hernández M. (2022). Factores asociados a la prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino de doble propósito. *Abanico Veterinario*, 12. <https://doi.org/10.21929/abavet2022.16>
- Petrenko, M. (2022). Effect of temperature on embryogenesis of *Trichuris ovis* during in vitro cultivation. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 24(107), 23–28. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10704>
- Puente, E. (2012). *Diagnóstico Integral del Aborto Bovino*. Recuperado el 23 de mayo de 2023 de
http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/38332/14_Capitulo14.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rada, S., (2023). *Diagnostic test for hemoparasities and gastrointestinal parasites in cattle* [Trabajo de investigación, Universidad Cooperativa de Colombia].
<https://repository.ucc.edu.co/handle/20.500.12494/49139>
- Coliform Bacteria, [RandWater]. (2022). *Total Coliform Bacteria*. Recuperado el 12 de mayo de 2023 de <https://doh.wa.gov/community-and-environment/drinking-water/contaminants/coliform#:~:text=Total%20coliform%20bacteria%20are%20commonly,Fecal%20contamination%20is%20not%20likely.>
- Rivera, A., (2014). *Determinación de la prevalencia de mastitis subclínica en ganado* [Trabajo de titulación, Universidad Nacional Agraria].
<https://repositorio.una.edu.ni/2741/1/tnl73r621.pdf>
- Rodríguez, R., Torres, J., Aguilar A., González M., Cruz G., y Galera L. (2018). Protozoos gastrointestinales de animales domésticos y silvestres. *Biodiversidad*, 1–2. [Archivo PDF].

<https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap5/05%20Protozoos%20gastrointestinales.pdf>

Roldan, V., Gasparotti M., Luna M., Pierola F., Sola J., Gapel Camilo, y Pinto Manuel. (2005, diciembre 12). Análisis del perfil hematológico de vacas gestantes de la región centro de Santa Fe. *Red de Revistas Científicas de América Latina*, 3–5. [Archivo PDF].
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63617178004.pdf>

Román, G., (2016). *Tipos de parásitos gastrointestinales en bovinos según categoría zootécnica (terneras, vaconas y vacas) de la parroquia Cristóbal Colón* [Trabajo de titulación, Universidad Politécnica Estatal del Carchi].
<http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/510?locale=en>

Rosendo, M., (2018). *Análisis coproparasitoscópico en Peromyscus maniculatus* [Tesis de grado, Universidad Autónoma del Estado de México].
<http://ri.uaemex.mx/bitstream/20.500.11799/95206/1/Tesis+Maria+Montserrat+Rosendo+Vargas+-+Análisis+coproparasitoscopico.pdf>

Ruiz, S., (2015). *Manejo y profilaxis de vacas desde el preparto, parto y postparto hasta los 100 días de lactancia* [Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4797>

Shaw, A. L., Mathews, D. W., Hinkle, J. E., Petschow, B. W., Weaver, E. M., Detzel, C. J., Klein, G. L., y Bradshaw, T. P. (2016). Absorption and safety of serum-derived bovine immunoglobulin/protein isolate in healthy adults. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 9, 365–375. <https://doi.org/10.2147/CEG.S120118>

Sigua, J., (2019). *Determinación de valores referenciales en hemograma y química sanguínea en bovinos hembra de raza Holstein en condiciones de altitud* [Trabajo de titulación, Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca].
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18240>

- Tipán, J., (2012). *Determinación del mayor índice de Listeria monocytogenes en tres etapas de faenamiento de bovinos en un camal* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2418/14/UPS-CT002425.pdf>
- Ureña, M., (2018). *Familia Trichuridae*. [Archivo PDF].
<https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/39/39005/t25tricridos0506.pdf>
- Vanegas, W., y Mancilla Y. (2021). *Protocolo de diagnóstico de trematodos paramphistomum spp y Fasciola hepática en bovinos* [Trabajo de grado, Universidad Antonio Nariño].
<http://repositorio.uan.edu.co/handle/123456789/6506>
- Vélez, A., y Zambrano R. (2016). *Prevalencia de vacas gestantes en el matadero municipal de la parroquia Portoviejo* [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/592>
- Volpato, A., Tonin, A. A., Machado, G., Stefani, L. M., Campigotto, G., Glombowsky, P., Galli, G. M., Favero, J. F., y da Silva, A. S. (2017). Gastrointestinal protozoa in dairy calves: identification of risk factors for infection. *Revista MVZ Cordoba*, 22(2), 5910–5924.
<https://doi.org/10.21897/rmvz.1027>
- Zoetis Animal Health, [Zoetis]. (2019). *Strategic Control of Nematodes in Beef Cattle Zoetis Animal Health Pages*. [Archivo PDF].
https://www2.zoetis.co.za/content/_assets/pdf/Strategic-Control-of-Nematodes-in-Beef-Cattle.pdf
- Zuñiga, I. (2014). *Obtención y purificación de anticuerpos policlonales específicos contra el contaminante emergente estreptomycin* [Tesis de grado, Universidad Autónoma de Aguascalientes].
<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/279/396599.pdf?sequence=1&isAllowed=y>