



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TEMA:

**“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS
CAUSANTES DE DIARREA NEONATAL PRESENTES EN EL
CALOSTRO BOVINO, PROCEDENTE DEL CANTÓN SAN MIGUEL
DE BOLÍVAR”**

Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Médico Veterinario, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria

AUTOR:

ERICK ALBERTO SÁNCHEZ ASQUI

TUTOR:

DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

Guaranda – Ecuador

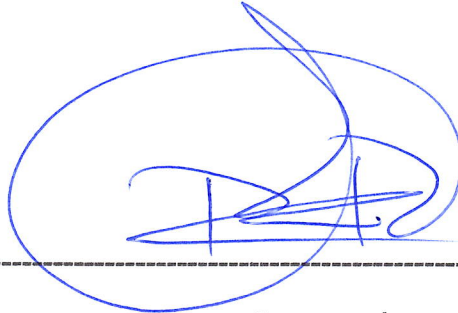
2024

CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL TUTOR

TEMA:

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE DIARREA NEONATAL PRESENTES EN EL CALOSTRO BOVINO, PROCEDENTE DEL CANTÓN SAN MIGUEL DE BOLÍVAR

REVISADO Y APROBADO POR:



DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

TUTOR



DR. FAVIÁN BAYAS MOREJÓN Ph.D.

PAR LECTOR



DR. JAGGER SEGURA Ph.D.

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Erick Alberto Sánchez Asqui, con C.I. 0604503318, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



ERICK ALBERTO SÁNCHEZ ASQUI

AUTOR

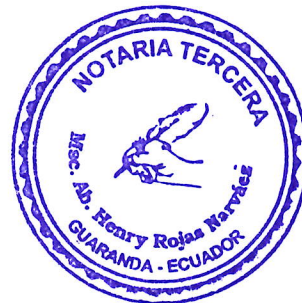


DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

TUTOR



Notaría Tercera del Cantón Guaranda
Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario



rio...

N° ESCRITURA 20240201003P00666

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADA POR: SANCHEZ ASQUI ERICK ALBERTO

INDETERMINADA DI: 2 COPIAS H.R.

Factura: 001-006- 000005713

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día veinte de Marzo del dos mil veinticuatro, ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparece el señor SANCHEZ ASQUI ERICK ALBERTO, soltero de ocupación estudiante, domiciliado en la Ciudad de Riobamba Provincia de Chimborazo y de paso por este lugar, con celular número (0983507186), su correo electrónico ericksanchez13579@gmail.com, por sus propios y personales derechos, obligarse a quien de conocer doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana; bien instruidas por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertido de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presenta su declaración Bajo Juramento declara lo siguiente manifiesto que el criterio e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado **“AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS CAUSANTES DE DIARREA NEONATAL PRESENTES EN EL CALOSTRO BOVINO, PROCEDENTE DEL CANTÓN SAN MIGUEL DE BOLÍVAR”** Es de mi exclusiva responsabilidad en calidad de autor, previo a la obtención del título de Médico veterinario de la Facultad en la Universidad Estatal de Bolívar, Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad, la misma que la hago para los fines legales pertinentes. HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA. La misma que elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que le fue al compareciente por mí el Notario en unidad de acto, aquel se ratifica y firma conmigo de todo lo cual doy Fe.

SANCHEZ ASQUI ERICK ALBERTO

C.C. 060 450 3318

AB. HENRY ROJAS NARVAEZ

NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA



EL NOTA....

NOMBRE DEL TRABAJO

Borrador tesis EASA 1).docx

AUTOR

ERICK ALBERTO SÁNCHEZ ASQUI

RECuento DE PALABRAS

18667 Words

RECuento DE CARACTERES

106716 Characters

RECuento DE PÁGINAS

80 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

1.3MB

FECHA DE ENTREGA

Mar 20, 2024 9:30 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Mar 20, 2024 9:31 AM GMT-5

● **9% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 2% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 5% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'ERICK ALBERTO SANCHEZ ASQUI', written over a large, light blue circular scribble.

DEDICATORIA

A Dios que siempre protege mi vida.

A mi abuela: Blanca Elida Asqui Ruiz por su apoyo en mis decisiones y proyectos que he emprendido en la vida, tú fuiste y serás siempre mi segunda madre

A mi querida madre Marcia Cecilia Sánchez Asqui quien me inicio en el camino de la vida sembrando en mí el amor y respeto a la naturaleza y a la vida animal; forjando en mi la culminación de mis metas

AGRADECIMIENTO

La gratitud abre la puerta al poder, a la sabiduría y a la creatividad en el ser humano; siendo un don que nos acerca más a la plenitud en nuestras vidas. Es así que agradezco a:

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente “Carrera de Medicina Veterinaria” de la Universidad Estatal de Bolívar, por el alto desempeño de sus docentes, quienes me impulsaron valerosamente hacia el éxito en mi formación profesional encaminándome en las aulas del saber; a las autoridades del laboratorio general de la facultad que brindaron las facilidades para la ejecución del presente trabajo investigativo

Al director de Tesis Dr. Edison Riviño Ramón Curay guía y amigo quien con su sabiduría, firmeza y dedicación supo manifestar numerosos y a la vez valiosos comentarios y sugerencias relacionados a la culminación de la investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	PAG
CAPÍTULO I.	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS	4
□ Objetivo General.	4
□ Objetivos Específicos	4
1.4. HIPÓTESIS	5
2. MARCO TEORICO	6
2.1. Generalidades del calostro	6
2.2. Inicio de la producción de calostro	6
2.3. Manejo del neonato bovino	7
2.4. Absorción del calostro	9
2.5. Mecanismos de protección digestivo	9
2.6. Diarrea en neonatos	10
2.6.1. Mecanismos causales de la diarrea	11
2.6.2. Transporte de iones alterado	11
2.6.3. Malabsorción pasiva	12
2.6.4. Presión hidrostática tisular y aumento de la permeabilidad	13
2.7. Tipos de diarrea	13
2.7.1. Diarrea secretora	13
2.7.2. Diarrea osmótica	14
2.8. Efectos de la diarrea y sus signos clínicos	14
2.9. Cambios metabólicos provocadas por las diarreas	15

2.10.	Manejo terapéutico de la diarrea	16
2.11.	Etiologías de las diarreas	17
2.11.1.	<i>Escherichia coli</i>	18
2.11.2.	<i>Salmonella</i> spp.	20
2.11.3.	<i>Clostridium perfringens</i>	22
2.11.4.	Otras causas infecciosas de diarrea en terneros	24
2.12.	Identificación bacteriana	24
2.12.1.	Métodos fenotípicos de identificación	24
2.12.2.	Pruebas bioquímicas	27
2.13.	Antibiograma	28
3.	MARCO METODOLÓGICO	30
3.1.	Ubicación de la investigación	30
□	Localización de la investigación	30
□	Situación geográfica y edafoclimática	30
□	Zona de vida	30
3.2.	Métodos	31
3.2.1.	Material Experimental	31
3.2.2.	Factores en estudio	31
3.2.3.	Tratamientos	31
3.2.4.	Tipo de diseño experimental o estadístico	32
3.2.5.	Manejo del experimento	32
3.2.6.	Métodos de evaluación y datos a tomar	37
3.2.7.	Análisis de datos	38
	CAPÍTULO IV.	39
4.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	39

4.1.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	39
4.1.1.	Aislamiento de bacterias presente en el calostro bovino	39
4.1.2.	Identificación de bacterias causante de diarreas en terneros presente el calostro bovino.	40
4.1.3.	Prevalencia de los géneros bacterianos causante de diarreas en terneros aislados e identificados a partir de muestras de calostro bovino.	42
4.1.4.	Análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de los tratamientos propuestos.	44
4.2.	COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS	51
	CAPÍTULO V.	52
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1.	CONCLUSIONES	52
5.2.	RECOMENDACIONES	53
	BIBLIOGRAFÍA	54

ÍNDICE DE TABLA

N°	Detalle	Pag.
1.	Causas infecciosas más importantes de diarreas en terneros(as)	18
2.	Agentes poco comunes causantes de diarreas en terneros	24
3.	Tratamientos planteados en la investigación.....	31
4.	Características del ADEVA	32
5.	Perfiles de identificación de bacterias Gram positivas en estudio	34
6.	Perfiles de identificación de bacterias Gram negativas en estudio.....	35
7.	Criterios interpretativos para la susceptibilidad antimicrobiana para enterobacterias en estudio	36
8.	Criterios interpretativos para la susceptibilidad antimicrobiana para las bacterias Gram positivas en estudio.....	37
9.	Muestras de calostro bovino con crecimiento bacteriano	39
10.	Bacterias aisladas de calostro bovino causante de diarreas en terneros	40
11.	Identificación fenotípica y bioquímicamente las bacterias causantes de diarreas en neonatos bovinos presente en el calostro.....	41
12.	Prevalencia de bacterias aisladas e identificadas calostro bovino causante de diarreas en terneros.....	42
13.	Estudio del ANOVA del DBCA del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias aisladas e identificadas en estudio	44
14.	Prueba de Tukey al 5% del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias aisladas e identificadas en estudio.....	44
15.	Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana del grupo de bacteria Gram negativa aisladas e identificadas del calostro	46
16.	Porcentaje de susceptibilidad del grupo Grampositivas presente en el calostro bovino.....	48

ÍNDICE DE FIGURA

N°	Detalle	Pag.
1.	Muestras de calostros bovino con crecimiento bacteriano.....	39
2.	Porcentaje de bacterias aisladas de calostro bovino causante de diarreas en terneros.....	40
3.	Prevalencia de bacterias aisladas e identificadas calostro bovino causante de diarreas en terneros.....	43
4.	Diagrama de la distribución de los halos de inhibición del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias aisladas e identificadas en estudio.....	45
5.	Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Salmonella</i> spp., aisladas e identificadas de calostro bovino.....	47
6.	Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Escherichia coli</i> , aisladas e identificadas de calostro bovino.....	47
7.	Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Listeria</i> spp., aislada e identificada de calostro bovino.....	49
8.	Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Corynebacterium</i> spp., aislado e identificado de calostro bovino.....	49
9.	Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Arcanobacterium</i> spp., aislado e identificado de calostro bovino.....	50

ÍNDICE DE ANEXOS

N°	Detalle
1.	Lugar de la experimentación.
2.	Base de datos.
3.	Fotografías de la investigación.
4.	Glosario de términos.

RESUMEN

Los terneros nacen agammaglobulinémicos, es decir, con el sistema inmunológico desprovisto de anticuerpos de tipo proteico, por lo cual es indispensable en esta especie transferir estos mecanismos de defensa por medio del calostro, sin embargo, este puede ser el vehículo de microorganismos patógenos que ocasionan diarreas. La finalidad de la presente investigación fue aislar e identificar bacterias patógenas causante de diarrea neonatal presentes en el calostro bovino procedente del cantón San Miguel de Bolívar. Mediante métodos de cultivos, aislamiento y caracterización bacteriana a partir de pruebas fenotípicas y bioquímica, se aislaron e identificaron géneros de bacterias diarreogénicas de 20 muestras de calostro, a las cuales se les sometió a pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión de disco recomendado por el CLSI, considerando que en estas pruebas in vitro se utilizó oxitetraciclina a 30µg (T1), amoxicilina 10µg (T2), sulfametoxazol 23.75µg + trimetoprim 1.24µg (T3) y cefalexina 30µg (T4). Obteniendo como resultados que las 20 muestras de calostros presentaron crecimiento bacteriano en los medios de cultivo, en consecuencia, se logró identificar 5 género bacterianos de nuestro interés clínico a partir de 12 muestras de calostro, el pool de bacterias identificadas se encontraba conformado por *Salmonella* spp., en un 41.67%, *Escherichia coli* en un 25%, 1 *Listeria* spp en un 6.67%, y finalmente con un 8.33% *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium* spp., correspondientemente, los mismos que en su totalidad en las pruebas de susceptibilidad mostraron resistente a amoxicilina (T2), en el caso de cefalexina (T4) el 100% de las *Salmonella* spp., expresaron sensibilidad, mientras que el resto de bacterias fueron resistentes a dicho fármaco, así mismo la oxitetraciclina inhibió por completos el crecimiento de *Salmonella*, *E. coli* y *Corynebacterium* spp., mientras que el 50% de aislados de *Listeria* spp., fueron resistente y el otro 50% sensibles, *Arcanobacterium* resistió el mecanismo de acción de dicho antibiótico, aunque es importante destacar que el sulfametoxazol más trimetoprim (T4) logró inhibir la totalidad de los géneros bacterianos aislados. Concluyendo que los antimicrobianos betalactámicos serán ineficientes en cuadros diarreicos en terneros del cantón San Miguel de la provincia Bolívar (Ecuador).

Palabras Claves: Calostro, Bacterias, Diarreas, Susceptibilidad Antimicrobiana.

SUMMARY

Calves are born agammaglobulinemic, that is, with an immune system devoid of protein antibodies, so it is essential in this species to transfer these defense mechanisms through colostrum, however, this can be the vehicle of pathogenic microorganisms that cause diarrhea. The purpose of this research was to isolate and identify pathogenic bacteria causing neonatal diarrhea present in bovine colostrum from the San Miguel de Bolivar canton. By means of culture methods, isolation and bacterial characterization from phenotypic and biochemical tests, genera of diarrheogenic bacteria were isolated and identified from 20 colostrum samples, which were subjected to antimicrobial susceptibility tests using the disc diffusion method recommended by CLSI, considering that in these in vitro tests oxytetracycline was used at 30 μ g (T1), amoxicillin 10 μ g (T2), sulfamethoxazole 23.75 μ g + trimethoprim 1.24 μ g (T3) and cephalexin 30 μ g (T4). As a result, the 20 colostrum samples showed bacterial growth in the culture media, consequently, 5 bacterial genus of our clinical interest were identified from 12 colostrum samples, the pool of bacteria identified consisted of *Salmonella* spp, in 41.67%, *Escherichia coli* in 25%, 1 *Listeria* spp. in 6.67%, and finally with 8.33% *Corynebacterium* spp. and *Arcanobacterium* spp. correspondingly, all of them in the susceptibility tests showed resistance to amoxicillin (T2), in the case of cephalexin (T4) 100% of the *Salmonella* spp. expressed sensitivity, while the rest of the bacteria expressed sensitivity, expressed sensitivity, while the rest of the bacteria were resistant to that drug, likewise oxytetracycline completely inhibited the growth of *Salmonella*, *E. coli* and *Corynebacterium* spp. while 50% of *Listeria* spp. isolates were resistant and the other 50% sensitive, *Arcanobacterium* resisted the mechanism of action of that antibiotic, although it is important to note that sulfamethoxazole plus trimethoprim (T4) managed to inhibit all the bacterial genera isolated. It is concluded that beta-lactam antimicrobials will be inefficient in diarrhea in calves from the San Miguel colony of Bolivar province (Ecuador).

Key words: Colostrum, Bacteria, Diarrhea, Antimicrobial Susceptibility.

CAPÍTULO I.

1.1. INTRODUCCIÓN

Dentro de las enfermedades que afectan al becerro(a) durante la fase de neonato, las que son consideradas en mayor medida como prevalecientes son las diarreas, onfalitis infecciosas, patologías respiratorias y las causadas por parásitos, las cuales influyen directamente en el aumento de los índices de morbilidad y mortalidad de un hato lechero en cuestión (Wilson *et al.*, 2022).

Armengol & Fraile (2016), mencionan que la mayor incidencia mundial de muertes neonatales en explotaciones lecheras están relacionadas a los trastornos ocasionados por enfermedades infecciosas de carácter viral y bacteriano que originalmente se exagera cuando existen fallos en la transferencia de inmunidad pasiva.

Las diarreas neonatales son consideradas una de las principales causas de descompensación orgánica y muerte del becerro(a), generalmente el neonato bovino tiende a ser altamente susceptibles a la aparición de diarreas durante la fase de amamantamiento del calostro, esto ocurre fundamentalmente por dos principios, en donde, los protagonistas son; 1) un sistema inmunológico inmaduro no competitivo, y 2) colonización de agentes patógenos que ocasionan disturbios intestinales de grado variable (Caffarena *et al.*, 2021).

Lombard *et al.*, (2019) mencionan que en los Estados Unidos de Norte América aproximadamente el 6% de terneras (más de 500 000 neonatos) mueren al nacer o poco después, generalmente el 50 % de estas muertes se deben a enfermedades digestivas diarreicas o enfermedades respiratorias.

En los neonatos las diarreas generalmente ocasionan cuadros variables de deshidratación ocasionados por pérdidas electrolíticas, desequilibrio ácido-básico, lo que conlleva al comprometimiento del estado de salud general del becerro, este es el punto de partida que propicia el fácil acceso de nuevos agentes infecciosos, que dificultan el diagnóstico y por ende el tratamiento (Calderón & Gallo, 2020).

Como en cualquier otro tipo de enfermedad infecciosa que ocasiona disturbios orgánicos (diarrea) es de suma importancia la realización y establecimiento de un

diagnóstico de manera precoz que conlleven a la instauración rápida de un adecuado plan terapéutico que permita evitar complicaciones de mayor comprometimiento sistémico en el ternero (a), se reconocen como agentes etiológicos a distintos microorganismos los cuales pueden ser protozoarios como *Cryptosporidium spp*, *Eimeria spp*, bacterias como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* (k99) y *Clostridium perfringens* y virus conocidos como Coronavirus, Rotavirus y DVB. Todos estos microorganismos que ocasionan diarreas en los terneros(as) comparten la característica de que pueden ser transmitidos por la vía oral, la cual es considerada la principal vía de acceso por medio de los alimentos como el calostro bovino que es suministrado en las primeras horas de vida (Chae *et al.*, 2021).

De La Gala (2022), menciona que en Ecuador la *Escherichia coli* es el patógeno entérico aislado en mayor medida en las heces de los terneros con cuadros diarreicos, también menciona que su patogenicidad se debe por las toxinas que secreta la bacteria en el intestino del bovino, por ende, las pérdidas pueden ser muy elevadas para la comunidad ganadera y baja producción de terneros en el Ecuador, considerando también que es un patógeno altamente zoonótico genera preocupación para la salud pública de las personas relacionadas a la ganadería.

1.2. PROBLEMA

El calostro bovino se encuentra conformado por componentes esenciales para el desarrollo del ternero en el ambiente extrauterino, en donde, los anticuerpos, son el nutriente que se destaca sobre los demás componentes inmunológicos y nutricionales, en conjunto estos componentes presentes en esta secreción láctea aseguran la supervivencia del neonato, esta sustancia es rica en carbohidratos y sustancias nutritivas los cuales le confieren la capacidad de albergar y desarrollar microorganismos patógenos oportunistas los que pueden utilizarlo como medio de crecimiento y medio de transmisión para ocasionar una patología en cuestión en el becerro(a).

Generalmente el calostro contaminado o con altos recuentos de bacterias patógenas es el punto crítico del manejo del neonato en las explotaciones lecheras, esto debido a que el ternero es susceptible a la interacción de los factores de virulencia que tiene cada microorganismo patógeno que se encuentra contaminando dicha sustancia, esto debido principalmente a la incompetencia del sistema inmunológico del ternero(a), sumado a estos antecedentes se encuentra la falta de establecimiento de protocolos de higiene en la obtención, procesamiento y ofrecimiento del calostro al ternero.

La administración de calostros de baja calidad sanitaria conlleva principalmente al establecimiento de cuadros diarreicos en el neonato, lo que provoca un aumento en los índices de morbilidad y mortalidad de animales jóvenes, además del compromiso fisiológico que ocasiona superar una patología diarreica en los terneros(as) en una explotación lechera, lo que a largo plazo se traduce a una disminución de la población que se destina al reemplazo de los animales que han cumplido un ciclo productivo.

Los cuadros diarreicos en los becerros se caracterizan por heces líquidas y profusas, deshidratación, emaciación, postración y muerte, principalmente provocan grandes pérdidas económicas por la muerte de terneros recién nacidos, costos generados por la aplicación de tratamientos y adicionalmente por resultados diagnósticos errados a la hora de poner en manifiesto el agente etiológico, conllevando a una disminución de las tasas de curación y generación de resistencia antimicrobiana.

1.3. OBJETIVOS

- **Objetivo General.**

Aislar e identificar bacterias patógenas causantes de diarrea neonatal presentes en el calostro bovino, procedente del cantón San Miguel de Bolívar

- **Objetivos Específicos**

Aislar bacterias patógenas presente en el calostro bovino.

Identificar fenotípica y bioquímicamente bacterias presentes en el calostro.

Estimar la prevalencia de los géneros bacterianos aislados e identificados.

Analizar la susceptibilidad antimicrobiana de los tratamientos propuestos.

1.4. HIPÓTESIS

HO: No existe una alta prevalencia de bacterias patógenas causantes de diarrea neonatal presentes en el calostro bovino, procedente del cantón San Miguel de Bolívar.

HI: Existe una alta prevalencia de bacterias patógenas causantes de diarreas neonata presentes en el calostro bovino, procedente del cantón San Miguel de Bolívar.

CAPÍTULO II.

2. MARCO TEORICO

2.1. Generalidades del calostro

Esta secreción láctea es producida por la glándula mamaria de las vacas la misma que se encuentra conformada por cuatros cuartos mamarios, su función está definida por la producción y secreción de la leche y del calostro que es la primera secreción láctea después del parto, la misma que es indispensable para conferir las condiciones óptimas de salud a los terneros ya que contiene anticuerpos responsables de la activación inmunitaria, y factores nutricionales responsables otorgar los nutrientes necesarios para garantizar su adaptación y su desarrollo en el ambiente extrauterino y (Toscano, 2019; Ruiz, 2018).

Las garantías de sobrevivir de los terneros se ven significativamente aumentadas cuando este ha recibido un correcto calostrado, sin embargo, la morbilidad y mortalidad de los recién nacidos se incrementan de manera considerable si este no recibe las cantidades adecuadas de calostros dentro de las primeras horas después del parto, todo esto debido a la capacidad de transferir componentes inmunitarios y nutricionales de la madre hacia la cría a través del calostro y la capacidad que posee este último de absorberlas de manera eficiente (Playford & Weiser, 2021).

2.2. Inicio de la producción de calostro

El evento que se considera como el punto de partida en la producción del calostro es el parto, el cual es un proceso biológico dependiente de la acción de determinadas hormonas, algunas de estas involucradas en la secundinación del mismo y otras vinculadas a la concentración de componentes biológicamente activos hacia el calostro y a su posterior eyección hasta acumularse en las cisternas mamarias, existe una diferenciación marcada entre el calostro y la leche común, principalmente en la composición ya que este contiene sustancias fundamentales como; los anticuerpos de estructura proteica transferidos desde la circulación sanguínea de la madre, este proceso está determinado por la influencia de los estrógenos y progesterona, esta secreción láctea contiene niveles elevados de IgG, IgA, IgM e IgE y nutrientes (Gavin *et al.*, 2018).

El ternero cuando nace se encuentra en una condición agammaglobulinémica, es decir desprovisto de anticuerpos y memoria inmunitaria, es por esto que el calostro es fundamental para asegurar el desenvolvimiento del neonato, Los principales problemas en la transferencia de inmunidad se encuentra relacionados con la incapacidad de absorber inmunoglobulinas en el tiempo de tolerancia absorbiva que se asociaría a un mayor riesgo de mortalidad y morbilidad en la fase de amamantamiento (Borchardt *et al.*, 2022).

2.3. Manejo del neonato bovino

Uno de los procedimientos que se toman en cuenta dentro de las fases de cría y manejo de neonatos bovinos es el calostro, el que es considerado como un parámetro fundamental y depende en parte de la cantidad de calostro que el ternero logre consumir en las primeras horas de vida, la cantidad debería ser de al menos 2 litros de calostro por alimentación con balde o tetero dentro de las primeras seis horas de vida y otros 2 litros dentro de las 12 horas posteriores a la primer toma (Batista *et al.*, 2015).

La activación de la inmunidad por parte del becerro se encuentra dependiendo en gran medida por la cantidad de inmunolactoglobulina calostrada, la cual es esencial para activar el sistema inmunológico y conferirle resistencia al ternero ante posibles agentes infecciosos de importancia clínica, los cuales se asocian a enfermedades respiratorias y entéricas de alta incidencia en las etapas de cría en una explotación lechera. La mortalidad entre los terneros privados del proceso de calostrado es alta, ya que se asume deficientes reservas inmunitarias que le confieran a dichos animales protección sanitaria (Cuttance & Lavan, 2019).

La evaluación del calostro permite su categorización en función a sus condiciones inmunológicas y composicionales, por lo tanto, aquellos que son categorizados como de excelente calidad inmunológica es recomendable reservarlos en cierta cantidad para los posibles casos de emergencias. El calostro es una fuente alimenticia primordial rico en vitaminas liposolubles A, D y E. Por lo tanto, es la mejor opción alimentar a los terneros con la mayor cantidad de calostro que pueda consumir, inclusive en individuos que están más allá de la etapa en la que pueden obtener inmunidad pasiva (Batista *et al.*, 2015).

El transporte pasivo de componentes séricos desde la sangre materna hacia el calostro ocurre generalmente en el periodo de 2 semanas antes que inicie el periodo de transición, es decir aproximadamente cinco semanas antes de que ocurra el parto, el componente de mayor cantidad presente en la composición del calostro son las inmunoglobulinas de tipo G, siendo las IgG1 e IgG2 las que predominantemente están en mayor cantidad en relación a la IgA, e IgM las cuales se encuentran en un 5% y 7 % respectivamente (Osman *et al.*, 2018).

De la mayoría de las inmunoglobulinas encontradas en el calostro aproximadamente del 80% a 90% corresponde a IgG1, este valor es de tres a doce veces mayor que en el suero sanguíneo materno, esta concentración es debida a la selección y secreción selectiva por parte de las células epiteliales mamarias metabólicamente activas, estas inmunoglobulinas y los demás nutrientes presentes en el calostro se absorben principalmente a nivel del intestino delgado. Las vellosidades del intestino delgado están cubiertas por enterocitos altamente vacuolizados, y especializados en la captación de micromoléculas y macromoléculas (Maier *et al.*, 2019).

En los terneros existe una absorción de carácter pasivo hasta un periodo de 25 horas desde el nacimiento, sin embargo, este proceso fisiológico es significativamente reducido a comparación de las primeras 6 horas después del parto, ya que se va dando de manera progresiva el cierre del intestino, en donde generalmente es limitado el paso de macromoléculas (Singh *et al.*, 2019).

Como medida de manejo en todos los casos se debería suministrar a los terneros calostro fresco de buena calidad como primera alimentación, considerando de vital importancia que la primera toma sea hasta la saciedad, la medición del porcentaje brix permite estimar las concentraciones de solutos importantes para las sobrevivencia del becerro, este procedimiento debe realizarse inmediatamente después del parto, aunque si las condiciones para su efecto no son favorables, existe una ventana de 24 para suministrarlo, siempre y cuando este mantenga una buena calidad inmunológica e higiénica. a comparación de los bovinos en otras especies La IgA en la leche proporciona una inmunidad humoral intestinal de carácter transitorio (Mee, 2008).

En los rumiantes en general, específicamente en bovinos el calostro y la leche contienen predominantemente inmunoglobulina G1, la cual es un anticuerpo proteico cuya cantidad influye en la transferencia pasiva de inmunidad, ya que se ha vinculado los niveles de este con la cantidad sérica en el becerro para obtener inmunidad, la absorción y aprovechamiento de anticuerpos es fácilmente medible, mediante la observación de la concentración total de proteínas plasmáticas utilizando un refractómetro, cuyo valor se correlaciona con los valores absolutos, consideran que valores superiores a 65 g/l se consideran óptimos y las concentraciones inferiores a 50 g/l son inadecuadas (Maier *et al.*, 2019).

2.4. Absorción del calostro

En el calostro existen componentes protectores que le confieren a los anticuerpos la capacidad de resistir a la degradación estomacal para que puedan ser absorbidos de manera eficiente en la luz intestinal, dentro de los principales mecanismos que actúan en la disminución de la degradación digestiva está relacionado con la baja actividad de la proteasa pancreática en el neonato, además el calostro presenta inhibidores de la tripsina, y la capacidad proteolítica de la quimiotripsina, también por su capacidad tamponante amortigua la capacidad metabólica activa de ácido clorhídrico a nivel de abomaso por lo que se propician mayores oportunidades para que se absorban los anticuerpo en mayor cantidad (Lopez *et al.*, 2022).

En el borde de cepillo del lumen intestinal las células que participan de manera activa son los enterocitos, los cuales son altamente especializados en absorber macro y micromoléculas de forma no selectiva, aunque los anticuerpos especialmente las inmunoglobulinas son transportadas por pinocitosis y transporte vesicular necesariamente por ser procesos de absorción rápidos y eficaces (Hue *et al.*, 2021).

2.5. Mecanismos de protección digestivo

El calostro al ser un componente alimenticio altamente nutritivo puede ser utilizado como fuente de crecimiento por parte de bacteriano patógenas, sin embargo, el calostro en su composición posee fuentes antimicrobianas a niveles limitados, una de ellas es la lactoferrina, la cual se ha identificado como una proteína fijadora de hierro, esta actúa disminuyendo la biodisponibilidad de este elemento, inhibiendo

el crecimiento de algunos microorganismos dependientes de hierro para su desarrollo (Suárez *et al.*, 2016).

En el calostro también se encuentra presente el citrato, el cual es un compuesto intermedio del ciclo de Krebs, un compuesto formado por condensación entre el acetil-CoA y oxalacetato, los microorganismos lo utilizan como una fuente alternativa para la producción autóloga de energía su disponibilidad definen al calostro normal como bacteriostático para enterobacteriales que tienen la capacidad de utilizar este compuesto como por ejemplo *E. coli*, metabólicamente, las condiciones en el intestino delgado de los terneros aparentemente favorecen la acción de la lactoferrina ligada al citrato para actuar como un bacteriostático calostrado (Velasquez *et al.*, 2022).

Un componente antibacteriano de importancia biológica encontrado en el calostro es el complejo lactoperoxidasa/tiocianato/hidrógeno peroxidasa, el cual es un potente inhibidor del crecimiento bacteriano por medio de la obtención de un metabolito de oxidación, de forma desarrollada la lactoperoxidasa se metaboliza por las células epiteliales acinares de la glándula mamaria, el anión tiocianato están presentes en la leche, son sales que se secretan en el estómago del ternero y la leche de vaca contiene glucosa y glucosa oxidasa, que proporcionan peróxido de hidrógeno; El peróxido de hidrógeno también es producido por los lactobacilos, que son las bacterias predominantes en la flora del estómago y del intestino delgado de los terneros recién nacidos. Así, todos los componentes de este sistema protector están presentes en el ternero in vivo e impiden que los microorganismos patógenos utilicen el calostro como fuente nutritiva (Wills *et al.*, 2020).

2.6. Diarrea en neonatos

En las áreas de cría de la industria lechera las diarreas neonatales son uno de los problemas de mayor importancia que comprometen el bienestar animal, causa pérdidas económicas y ocasiona aumento en los índices de morbilidad y consecuentemente mortalidad en esta fase del desarrollo, esta condición patológica puede ser causada por una diversidad de factores relacionados con el entorno, la nutrición, condiciones de susceptibilidad del ternero, factores de virulencia de los agentes infecciosos vinculados, etc., (Haagen *et al.*, 2021).

El diagnóstico oportuno de un cuadro diarreico dependerá en gran medida de la capacidad profesional del técnico encargado de la fase de cría, tomando en cuenta los factores involucrados y su correlación entre ellos

El control exitoso de un brote dependerá del reconocimiento de los factores importantes en ese brote y la corrección de los problemas. La identificación de los agentes infecciosos involucrados es importante porque permite un enfoque lógico para el control de la enfermedad. Los consejos apropiados sobre nutrición, suministro de calostro, vacunación, higiene y uso de antibióticos solo se pueden dar si está claro qué agentes infecciosos están presentes y cuál podría ser su contribución al proceso de la enfermedad (Machado & Ballou, 2022).

2.6.1. Mecanismos causales de la diarrea

En los intestinos del becerro, especialmente en el intestino delgado ocurren procesos metabólicos importantes, esta es una sección del tubo digestivo considerado de alto flujo de líquidos, hasta esta porción llega parte del alimento digerido conteniendo secreciones salivares, jugos gástricos, jugos con enzimas pancreáticas, provenientes del hígado, etc., en el intestino delgado generalmente a más de que se secreta líquidos fundamentales para el proceso digestivo en esta parte también se absorbe aproximadamente el 95% de los nutrientes ingeridos, cuando ocurre un desequilibrio entre la secreción y absorción, con ventaja hacia la secreción, se desencadena un importante proceso denominado diarrea, la cual es inducida por pérdida de grandes volúmenes de líquido, y disminución en la función de absorberlos (Maier *et al.*, 2022).

2.6.2. Transporte de iones alterado

Una de las causas de diarrea también es provocada por alteración del transporte de iones, generalmente por procesos inflamatorios que provocan una reducida absorción de sodio por parte de los enterocitos, este proceso patológico también provoca un aumento en la secreción de iones de cloruro por parte de las células enterocíticas ubicadas en las criptas intestinales, la principal etiología de estos procesos inflamatorios son debido a enzimas y sustancias citotóxicas liberadas por algunos enteropatógenos como claro ejemplo las enteritis producidas por la virulencia de *Escherichia coli* enterotoxigénica (Belay & Mekibib, 2022).

En gran parte de los casos y la dependencia de la gravedad de las diarreas se debe a ciertas cepas enteropatógenas muy virulentas, un claro ejemplo es la expresión de componentes adhesivos fimbriales que le confieren a los microorganismos la capacidad de resistir y evadir la fagocitosis, además de que le otorga la facilidad de mantenerse adherida por un largo periodo a la mucosa de los intestinos del huésped, junto con este factor de virulencia suelen expresarse otros factores como por ejemplo la producción de la toxina termolábil, específicamente la subunidad A la cual activa una enzima llamada adenilato ciclasa involucrada en estimular la producción en masa del monofosfato de adenosina cíclico intracelular (AMP cíclico). Este provoca efectos tóxicos en los enterocitos y células de la cripta desencadenando una disminución progresiva de la absorción de ciertos iones especialmente de sodio, provocando una reducida absorción de agua y aumento en las pérdidas hidroelectrolíticas a partir de los componentes a partir del espacio intercelular e intracelular, también la enterotoxina estable, de manera conjunta activa la guanilato ciclasa, que provoca el estímulo para la síntesis intracelular de monofosfato de guanosina cíclico (GMP cíclico), que probablemente estimula la secreción y reduce la absorción (Taylor *et al.*, 2017).

2.6.3. Malabsorción pasiva

Una de las causas de diarrea son los síndromes provocados por la mala absorción de agua, este proceso patológico se debe a un aumento de la presión hidrostática tisular que provoca aumento en la pérdida hidroelectrolítica, la superficie de absorción intestinal es disfuncional propiciando una reducida captación de iones de sodio en el lumen del intestino (Toscano, 2019).

Variaciones morfológicas en la superficie intestinal provocan también un síndrome de malabsorción, en principio porque existe una reducción parcial del área con capacidad absorptiva ocasionando la hiperconcentración iónica en el lumen intestinal la que genera dilución fecal y diarrea, la atrofia y disminución del área de absorción en el intestino delgado es debido principalmente a procesos degenerativos de carácter inflamatorio, en principio los cuadros entéricos ocasionados por patógenos infecciosos son la una de las causas de las variaciones morfológicas (Singh *et al.*, 2019).

Ante posibles situaciones que provoquen una disminución del número de enterocitos presentes en el borde de cepillo intestinal ocurre la pérdida de la capacidad absorbente lo que permite concentrar y diluir el contenido fecal. Algunos agentes infecciosos pueden causar otro tipo de metaplasia celular, un claro ejemplo son las hipertrofias de las criptas originada por agentes virales, lo que puede conducir a una diarrea inducida por desequilibrio osmótico (Chae *et al.*, 2021).

2.6.4. Presión hidrostática tisular y aumento de la permeabilidad

Las diarreas por pérdidas hidroelectrolíticas a causa del aumento en la presión hidrostática tisular también se presentan como cuadros patológicos con una casuística relativamente alta, esta condición patológica propicia un aumento en la permeabilidad de la mucosa intestinal, lo que ocasiona que las pérdidas en gran parte sean por fuga desde el espacio transcelular e intracelular enterocítico (Bilbao *et al.*, 2011).

Cuadros inflamatorios crónicos y severos ocasionan fibrosis del epitelio intestinal impidiendo que exista recambio celular y actividad metabólica constante por parte de los enterocitos, es común observar que ciertas cepas enterotoxigénicas de *Salmonella* ocasionen este cuadro patológico, además existe cierta capacidad virulenta de este tipo de etiología que provoca diarreas hemorrágicas y pérdida de constituyentes sanguíneos (Bilbao *et al.*, 2011).

2.7. Tipos de diarrea

Independientemente de la fisiopatología de las diarreas, estas condiciones se engloban en dos tipos principales.

2.7.1. Diarrea secretora

Es una condición que resultado de la alteración de la permeabilidad intestinal, establecido por la cantidad neta de líquido que se fuga a través del epitelio intestinal hacia el lumen independientemente de las condiciones alimenticias, su característica patológica es que siempre se encontraran heces isotónicas, acuosas y alcalinas ya que el íleon secreta gran cantidad de sodio y bicarbonato, las principales causas se relacionan a los microorganismos bacterianos enteropatógenos como *Salmonella* spp., *E. coli*, etc., (Haagen *et al.*, 2021).

2.7.2. Diarrea osmótica

Esta condición es determinada por que las heces diluidas presentan una alta carga osmolar originada por ciertos componentes no digeridos, su principal responsable son los alimentos que producen intolerancia e inflamación intestinal además de reacciones de hipersensibilidad intestinal que libera citoquinas proinflamatorias, esta diarrea se caracteriza por heces líquidas, con partículas de alimento no digerido el pH de las heces es ácido con variaciones que dependen de la cantidad de lactosa fermentada, además de ácidos grasos volátiles de cadena corta o ácido láctico (Bilbao, 2013).

Los síndromes de malabsorción y maladigestión presentan diarreas de carácter osmótico, el volumen de heces es significativamente menor que el presente en las diarreas secretoras, una alternativa para su control es propiciar nutrición parenteral y ayuno intermitente, los principales agentes etiológicos vinculados a este tipo de diarreas son los agentes virales (Arroyo, 2017).

2.8. Efectos de la diarrea y sus signos clínicos

Las diarreas pueden ocasionar signos localizados de patología así como signos sistémicos de un proceso morbosos que eventualmente podrían llevar a la inanición y consecuentemente a la muerte, es de vital importancia comprender que pérdidas hidroelectrolíticas de aproximadamente el 7% del peso corporal ocasionan signos clínicos de deshidratación con compromiso cardiovascular, cuando las pérdidas hidroelectrolíticas ascienden al 30% del peso corporal provoca fallo multiorgánico, inanición y muerte (Pardo & Oliver, 2012).

Las principales variaciones por los distintos niveles de deshidratación provocados por las diarreas ocurren principalmente a nivel del plasma sanguíneo disminuyendo su volumen y aumento su paquete celular, los signos indicativos son enoftalmia aumento de la turgencia del pliegue cutáneo, hipotensión arterial, aumento del gasto cardíaco, vasoconstricción periférica, la misma que acarrea a una pobre perfusión tisular, isquemia y disminución del metabolismo, por lo tanto es común observar extremidades frías, la temperatura rectal aumenta a valores críticos para la vida hasta que el paciente entra en shock sostenido y fallo orgánico (Umpiérrez, 2016). (Lértora, 2016).

Las diarreas suelen exacerbarse con cuadros de desbalance metabólico, encontrando también acidosis metabólica, para su establecimiento existen factores desencadenantes que agravan su fisiopatología, uno de ellos es la importante pérdida de iones de bicarbonato y sodio en las heces, considerando también la absorción de ácidos producto de la fermentación microbiana de fuentes energéticas no digeridas en el intestino del paciente (Bilbao *et al.*, 2019).

La función renal también se ve afectada por las diarreas y la deshidratación acompañante, ya que como se mencionó anteriormente el compromiso existente en el volumen plasmático también vincula la disminución de la perfusión renal, por lo tanto, la reabsorción de ciertos iones a nivel de los túbulos renales se reduce al mínimo por lo que se intensifica la cronicidad del caso (Bilbao *et al.*, 2019).

2.9. Cambios metabólicos provocados por las diarreas

En los terneros las diarreas afectan de manera importante los mecanismos de regulación metabólica energéticas, generalmente la hipoglicemia es en gran medida lo que conlleva a la inanición y a la muerte, este desbalance energético negativo es producto de la anorexia, limitación en la absorción de nutrientes, inhibición de los mecanismos de gluconeogénesis, consumo oxidativo de las fuentes energéticas por parte de las endotoxinas bacterianas en el hígado, este problema metabólico causa una serie de signos como debilidad, letargo, convulsiones y en última instancia el coma y la muerte (Sosa *et al.*, 2018).

La disminución de los niveles de glucosa en sangre del neonato estimulan la producción y secreción de corticoides, la evidencia demuestra que la corticosterona e hidrocortisona son los esteroides endógenos más elevados en los momentos de hipoglicemia y previos a la inanición y muerte, este evento biológico se da como medida emergente y como estímulo para iniciar con el proceso de gluconeogénesis, sin embargo este propósito puede ser inhibido por otros biológicamente activos (Machado & Ballou, 2022).

Dentro de los disturbios metabólicos mencionados anteriormente, la acidosis, la hiperpotasemia e hiponatremia son en gran parte de los casos factores desencadenantes, esta condición estimula el aumento plasmático de aldosterona como mecanismo compensatorio a fin de retener sodio y agua (Sosa *et al.*, 2018).

2.10. Manejo terapéutico de la diarrea

De manera prioritaria se debe corregir las pérdidas hidroelectrolíticas provocadas por las diarreas, la restauración del volumen plasmático está indicado como método preventivo de shock, acidosis, inanición, etc., en los terneros se debe evaluar el grado de severidad de la deshidratación provocada por las diarreas, una alternativa fiable en los neonatos bovinos es la corrección mediante el suministro oral de soluciones isotónicas, con cantidades suficientes de miliequivalentes de potasio K^+ y bicarbonato HCO_3^- , Sodio Na^+ , y glucosa de cuantificación equimolar (Tiranti *et al.*, 2015).

La reposición se debe formular estimando las pérdidas en función al grado de deshidratación considerando el tiempo que lleva establecido el cuadro diarreico y los signos clínicos presentes, las rutas metabólicas utilizadas son las vías de absorción de la glucosa, los aminoácidos y el citrato, ya que en cada una de las rutas mencionadas utilizan el agua como transportador de moléculas y catalizador de reacciones enzimáticas, tomando en cuenta la inclusión de un aproximado de 80 a 100 mmol/L de HCO_3^- como iniciador (Arroyo, 2017).

La glucosa de maíz es utilizada como la principal fuente de energía en inclusiones para preparación de rehidratantes orales, estas soluciones deben contener al menos 375 mmol/L de glucosa como medida correctiva del déficit calórico provocado por la suspensión de la dieta del ternero a causa de la diarrea (Franco *et al.*, 2015).

En dependencia de la identificación de la etiología de la diarrea se puede prescribir una terapia de soporte a base de antimicrobianos, considerando dos posibles escenarios: colonizaciones por agentes infecciosos como *Salmonella spp.* *Escherichia coli* enteropatógena, el tratamiento debe realizarse en el mejor de los casos con un enfoque primario a partir de la utilización de antibióticos de amplio espectro, y de forma secundaria mediante los ensayos de asilamiento, identificación y antibiograma de los posibles agentes causales de las diarreas en los neonatos bovinos (Hervé *et al.*, 2017).

Aunque en la mayoría de las unidades productivas no se emplean ensayos diagnósticos y medición de la susceptibilidad de los agentes infecciosos causantes de diarrea neonatal en terneros se debe realizar estudios controlados con un número

suficiente de animales que permita tener pautas terapéuticas y consensos de manejo terapéutico de las diarreas en terneros (Zenón, 2019).

Existen diversos puntos contraproducentes que limitan la administración de antimicrobianos en animales jóvenes uno de ellos son las posibles consecuencias en la flora microbiana ruminal e intestinal, disminución del desarrollo y crecimiento etc., (Zenón, 2019).

De manera desventajosa la prescripción y administración de antibióticos, aumenta de manera significativa los costos de producción ya que en la fase de cría generalmente los animales son considerados como improductivos por lo que no es retribuable la administración de medicamentos, además otro punto negativo es la posible aparición de cepas multirresistente que limitaría las tasas de curación y aumentarían los índices de morbilidad y mortalidad (Caffarena, 2017).

2.11. Etiologías de las diarreas

las enteritis en los terneros son causadas por un diverso número de agentes patógenos de distintas índoles, los cuales son diferenciados entre si por las diversas características que poseen y los distintos factores de virulencia que conservan cada uno de estos, su colonización en el epitelio intestinal provoca reducciones del rendimiento, crecimiento y desarrollo, las posibles etiologías se encuentra vinculadas a virus, bacterias, protozoarios y de forma esporádica hongos y endoparásitos, aunque también es posible encontrar dos o más agentes infecciosos de manera conjunta provocando cuadros diarreicos (Moreira, 2022).

Existen factores que influyen de forma directa en la colonización y establecimiento de uno o más agentes etiológicos de forma conjunta, entre los más destacables están; el estrés, protocolos sanitarios inadecuados, ambientes contaminados, el hacinamiento, subnutrición, condiciones ambientales desfavorables, manejo inadecuado de los casos positivos, etc., todos los mencionados representan un riesgo considerable en el desencadenamiento de un posible brote diarreico en una unidad productiva (González *et al.*, 2020).

Los cuadros diarreicos causan de manera consecuente distintos grados de deshidratación. Los microorganismos involucrados pueden ser virales, bacterianos y de origen protozoárico, los cuales se detallan en la siguiente tabla;

Tabla 1.*Causas infecciosas más importantes de diarreas en terneros(as)*

Agentes patógenos más importantes causantes de diarreas en terneros(as)		
Agente	Tipo	Periodo de patencia
<i>Cryptosporidium spp.</i>	Protozooario	3 a 33 días
<i>Eimeria spp.</i>	Protozooario	A partir de 21 días
<i>Salmonella spp.</i>	Bacteria G-	1 a 30 días
<i>Escherichia coli</i>	Bacteria G-	1 a 31 días
<i>Escherichia coli k99</i>	Bacteria G-	1 a 10 días
<i>Clostridium perfringens</i>	Bacteria G+	Hasta 10 días
Coronavirus	Viral	1 a 30 días
Rotavirus	Viral	1 a 32 días
Diarrea viral bovina (DVB)	Viral	2 a 30 días

Fuente: Blanchard, (2012).

2.11.1. *Escherichia coli*

La genómica microbiana ha sido un gran paso en la identificación de 3 subespecies de *E. coli* que poseen como factor de virulencia la expresión de una enterotoxina termolábil y una enterotoxina termoestable, las cuales propician a este microorganismo interactuar de manera patógena en el epitelio intestinal provocando inflamación y por ende cuadros diarreicos, esta enterobacteria se denomina como *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) y puede estar presente tanto en la ración líquida de los terneros como en ambientes contaminados, es altamente contagiosa y zoonótica.

Existe una tercera subespecie de *E. coli* la cual no posee dentro de sus factores de virulencia un factor específico de expresión de enterotoxinas, esta cepas poseen componentes antigénicos específicos los cuales pueden provocar una exacerbada respuesta inflamatoria y daño en el epitelio intestinal a nivel de duodeno, yeyuno e íleon, así como en ciertas porciones del colon, se denomina enteropatógena y es la clásica responsable de los cuadros enterohemorrágicos (Mohammed *et al.*, 2019).

2.11.1.1. Patogenia

La *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) es la responsable de cuadros diarreicos hiperagudos, clásicamente provoca diarreas secretoras de intensidad severa, su patogenicidad provoca en el ternero acidosis metabólica con disminución progresiva del bicarbonato plasmático, también existe una reducción significativa del pH sanguíneo, hiperpotasemia e hipoglicemia, de manera complementaria al evaluar la perfusión renal se puede apreciar una considerable reducción en la reabsorción de potasio K^+ , y de forma inconsistente hiponatremia e hipocloremia (Ngeleka *et al.*, 2019).

Las diarreas provocadas por *E. coli* provocan grados variables de deshidratación que generalmente suele ser superior al 8% lo que provoca eritrocitosis relativa por reducción del volumen sanguíneo de características no celulares, además la inflamación provocada por esta bacteria suele ser evidente en las analíticas realizadas al huésped, aunque, algunos autores mencionan que en este estado existe una deliberada producción de citoquinas proinflamatorias y hormonas emergentes que provocan cambios leucocitarios, ya que la *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) propiamente provoca liberación y activación de células inmunitarias inmaduras que no suelen alcanzar su estado de toxicidad, es más probable que estos hallazgos respalden la septicemia ocasionada (Yadegari *et al.*, 2019).

2.11.1.2. Signos clínicos

Existe una amplia variabilidad en la presentación de los signos provocados por este microorganismo, ocurriendo desde una diarrea leve que en algunos casos suele tener recuperación espontánea, signos de deshidratación, debilidad, diarrea, hipertermia y en algunos casos hipotermia, shock, en algunos casos fallo multiorgánico producto de la endotoxina y muerte dentro de las 4 a 12 horas después de la aparición de los signos graves (He *et al.*, 2022).

2.11.1.3. Diagnóstico

El diagnóstico debe fundamentarse en los hallazgos de la historia clínica, considerando los datos inherentes al paciente, anamnesis referida al tiempo de manifestación de los signos y la exploración física tomando en cuenta la variación de las constantes fisiológicas como indicativo de procesos morbosos causados por

esta bacteria, además los resultados de los análisis laboratoriales ya que esta bacteria predominantemente afecta animales jóvenes con déficits inmunitarios o con algún (Gull, 2022).

Ante las alteraciones hidroelectrolíticas, como medida diagnóstica se puede tomar en cuenta a la respuesta orgánica por parte del ternero a la reposición de líquidos, además, se puede diagnosticar mediante métodos de inmunoensayos con la comprobación de anticuerpos específicos para este tipo de *E. coli*, sin embargo, hay que considerar que el método de mayor sensibilidad y especificidad es el aislamiento e identificación de la bacteria, así como la caracterización de que posea antígenos F los cuales son un factor de virulencia propios de esta cepa bacteriana, además es prescindible la realización de un antibiograma con el reporte de las pruebas de susceptibilidad como medida orientativa de la terapéutica que se aplicará (Yadegari *et al.*, 2019).

2.11.1.4. Tratamiento

De manera inicial se debe proporcionar una terapia de reemplazo hidroelectrolítico en dependencia de la situación del paciente se lo realizará con fluidos isotónicos de forma intravenosa, este enfoque terapéutico permite también reponer la hipoglicemia, hiponatremia, y corregir la acidosis metabólica e hipercalemia, siendo fundamental para reestablecer la homeóstasis del paciente.

La terapia con antibióticos es necesaria para disminuir el impacto de la endotoxemia y la bacteriemia por parte de *E. coli*, se ha evidenciado que la amoxicilina a una dosis de 10 mg/kg P.O. cada 12 horas determina buenas tasas de curación y recuperación, si se sospecha de cepas resistente a este antibiótico se recomienda utilizarlo acompañado de un inhibidor de betalactamasas como el ácido clavulánico considerando un aumento de dosis a 12,5 mg/kg P.O. cada 12 horas, durante al menos 3 días para alcanzar el objetivo terapéutico contra esta bacteria (Gharieb *et al.*, 2019).

2.11.2. *Salmonella* spp.

Salmonella spp. son enterobacterias Gramnegativas que pueden evadir la fagocitosis y los mecanismos de resistencia inmunitaria del huésped mediante invasión intracelular somática, son considerados como aerobios facultativos y

ocasionan una gama amplia de condiciones clínicas desfavorables, las cuales pueden ir desde bacteriemias hiperagudas hasta portadores asintomáticos (Gharieb *et al.*, 2019).

Algunas *Salmonella* spp. se clasifican en función a la presencia del antígeno O, independientemente de su BLAST de diferenciación a estas bacterias se las puede clasificar como A, B, C, D y E, la clasificación B comprende a *S. typhimurium* la cual es una etiología común de diarreas en terneros, además *S. newport*, *S. infantis* y *S. montivideo* pertenecen al grupo C y *S. anatum*, *S. muenster* al grupo E (Whon *et al.*, 2021).

2.11.2.1. Signos clínicos

Los principales signos clínicos observados son fiebre, diarrea, signos de deshidratación, debilidad, signos de anemia por la reducción del volumen de células empaquetadas (PCV) producto de la enteritis hemorrágica como las provocadas por las salmonelas del grupo B, C y E en ternero, la aparición de algunos signos es impredecible y en muchos casos la fiebre suele evidenciarse cuando el caso es severo (Dueñas *et al.*, 2017).

La presencia de sangre aparente en heces además de la presencia de mucosidad en las mismas, pueden ser signos que anteceden a la posible presentación de un cuadro diarreico de origen bacteriano, en dependencia de la cepa infectante y la gravedad del caso en algunos terneros se puede observar signos clínicos de fisitis séptica, artritis, meningitis, neumonía, endocarditis, etc., (Liang *et al.*, 2020).

2.11.2.2. Diagnóstico

El diagnóstico de las enteritis infecciosas causadas por *Salmonella* se basa en métodos de aislamiento e identificación bacteriana rutinarios, como los cultivos en medios específicos y diferenciales de muestras de heces en cepas de tipo B, C y E, aunque se requiere de otros métodos para la detección de otras cepas como *S. Dublin* a partir de muestras de suero sanguíneo para la identificación y tipificación de anticuerpos específicos, así como de lavados transtraqueales, biopsias de tejido pulmonar, muestras de líquido sinovial, sangre para hemocultivo, etc., aunque actualmente los métodos moleculares como la reacción en cadena a la polimerasa

en retrotranscripción o multiplex (PCRrt- PCR multiplex) son de los más específicos y sensibles para el diagnóstico (Aleri *et al.*, 2022).

2.11.2.3. Tratamiento

La primera opción terapéutica son los antibióticos, considerando en primera instancia aquellos de amplio espectro antimicrobiano para reducir el efecto de infecciones secundarias por impacto de la enteritis provocada por la causa primaria (*Salmonella* spp.), es importante mencionar que los antimicrobianos utilizados para salmonelosis deben ser acompañados de una terapia de soporte y reposición hidroelectrolítica de carácter isotónico, además se debe proporcionar una nutrición balanceada que permita mantener las reservas energéticas y el estado de salud con un mínimo de consumo de 0.8% a 1.2% de peso vivo en base a la materia seca de la dieta suministrada (Renaud *et al.*, 2019).

Las salmonelosis en la fase de cría de una explotación bovina debe ser considerada como un problema crítico que requiere la toma de decisiones basada en el grupo de animales, la susceptibilidad de la cepa causante de la patología, la capacidad metabólica de los animales enfermos, la disponibilidad del medicamento, etc, aunque de momento las revisiones y reportes mencionan que las sulfamicinas potenciadas como el sulfametoxazol + trimetoprim a una dosis de 8-10 mg/kg de peso vivo cd 24 horas exhiben buenas tasas de curación y muy buenas para la inhibición del crecimiento bacteriano (Renaud *et al.*, 2019).

2.11.3. *Clostridium perfringens*

Las enfermedades clostridiales son consideradas como mortales debido a que ocasionan de forma esporádica una enterotoxemia hiperaguda, la bacteria más común es el *C. perfringens* tipo C especialmente en trastornos gastrointestinales en terneros recién nacidos, aunque también se ha documentado que esta infección puede afectar significativamente los índices de morbilidad y mortalidad en terneros con edad superior a los 3 meses de vida (Liu *et al.*, 2022).

C. perfringens se identifica como una bacteria anaeróbica estricta de características Gram positiva en la observación microscópica, en los rumiantes este microorganismo se encuentra como saprófito digestivo y un componente desencadenante de sus factores de virulencia generalmente es la ingesta de grandes

cantidades de carbohidratos altamente digeribles y proteínas soluble, creando una superinfección de la luz intestinal con expresión de exotoxinas (Selim *et al.*, 2017).

La endotoxemia en los casos esporádicos con evidencia hiperaguda suele ser difícil de diagnosticar, el principal indicio es el consumo de forma intensiva de fuentes de concentrado altamente energético, en los terneros recién nacido un factor de riesgo la administración de altas cantidades de leche o sustituto de leche con alta densidad energética suministrado de forma copiosa, aunque la alimentación de cereales y concentrados también originan este problema infeccioso (Derix *et al.*, 2023).

2.11.3.1. Signos clínicos

La enterotoxemia se puede manifestar por signos agudos o sobreagudos, los cuales inician con manifestaciones de cólico, abdomen agudo, o distensión ruminal, diarrea con escasa líquides y en algunos casos hemorrágicas, depresión, shock y muerte súbita, la característica principal de las enfermedades digestivas por *clostridium* es que los signos progresan de una forma rápida y súbita, el rumen se distiende en un inicio y junto con los cólicos abdominales anteceden aparición de la diarrea, las cepas de la bacteria mencionada expresan la activación de sus factores de virulencia una vez que han alcanzado el umbral de colonización y población bacteriana necesaria para afectar la salud del ternero (Gull, 2022).

2.11.3.2. Diagnóstico

El diagnóstico absoluto de enterotoxemia causada por organismos de tipo C requiere el cultivo de *C. perfringens* del intestino, la genotipificación para determinar que el aislado es de tipo C, la demostración de lesiones macroscópicas o histológicas y, si está disponible, la prueba para identificar la toxina beta de la bacteria en intestino de casos fatales. En las enterotoxemias tipo B y tipo D menos comunes en el ganado, el diagnóstico absoluto requiere la demostración de la toxina épsilon de tipo D además de la identificación del organismo por cultivo y genotipado (Derix *et al.*, 2023).

2.11.3.3. Tratamiento

El tratamiento de apoyo requiere fluidos intravenosos como cristaloides y coloides entre ellos solución Hetastarch en bolos de 5 a 10 ml/kg con electrolitos y glucosa

apropiados para rehidratar al ternero. Idealmente, se debe administrar penicilina potásica o sódica IV a una dosis de 44 000 UI/kg IV cada 6 horas durante las primeras 24 a 48 horas de tratamiento, pero luego se puede reemplazar con penicilina procaínica a una dosis de soporte de 44 000 UI/kg IM cada 12 horas si el ternero está mejorado (Gull, 2022).

Los terneros que están en shock también pueden recibir dexametasona o flunixin de meglumina a una dosis de 0,5 a 1,1 mg/kg IV como tratamientos de una sola vez, para disminuir el impacto del shock (Derix *et al.*, 2023).

2.11.4. Otras causas infecciosas de diarrea en terneros

Tabla 2.

Agentes poco comunes causantes de diarreas en terneros.

Agente	Tipo	Signos	Tratamiento
<i>Giardia lambia</i>	Protozoario	A menudo no hay señales. Alta morbilidad, baja mortalidad. Diarrea en terneros de 2 a 12 semanas de edad	Fenbendazol 15 mg/kg oral durante 3 días
<i>Campylobacter</i> spp. (<i>jejuni</i> , <i>fecalis</i> , or <i>coli</i>)	Bacteria	Diarrea sanguinolenta y mucosa	Reposición volémica con fluidos intravenosos. Antibióticos como tetraciclinas o eritromicina
<i>Clostridium difficile</i>	Bacteria	Diarrea, debilidad, apatía, anorexia, deshidratación, fiebre, ataxia.	Terapia de soporte en base a la sintología

Fuente: Garcia *et al.*, (2022).

2.12. Identificación bacteriana

2.12.1. Métodos fenotípicos de identificación

Estos métodos están consolidados en los laboratorios de microbiología y en la práctica rutinaria, los mismos que muestran algunas limitaciones que se observan

de manera específica y más evidente para algún tipo de microorganismos. La identificación bacteriana se realiza por medio de métodos convencionales, basados en las características fenotípicas y patrones bioquímicos (Bou *et al.*, 2011).

Estas metodologías se basan en las características observables de las colonias bacterianas, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. El cultivo, cuando es factible, continúa siendo el método diagnóstico de elección; permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación, y el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos (Ramírez & Vélez, 2016).

En el proceso de identificación bacteriana tradicional se establecen tres niveles de procesamiento:

a) Todas las características fenotípicas conocidas son importantes y hay que tenerlas en cuenta cuando se inicia el proceso de identificación, pero en principio se seleccionan aquellas que se consideran pruebas primarias, que son rápidas y sencillas de realizar, como la morfología en la tinción de Gram u otras tinciones, crecimiento en diferentes atmósferas de incubación, crecimiento en varios tipos de medios de cultivo (Gonzales, 2019).

b) El segundo nivel de identificación debe especificar el género al que pertenece el microorganismo. Tanto en este nivel como en el anterior, la hipótesis sobre la probable identidad de un microorganismo se apoya en las características del cultivo (Gobernado & López, 2003).

c) Por último, la conclusión debe hacerse con la identificación a nivel de especie. El empleo de ciertas pruebas bioquímicas permite identificar con un alto grado de precisión la mayoría de las bacterias clínicamente significativas (Gonzales, 2019).

2.12.1.1. Características microscópicas

El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones son el primer paso, y ocasionalmente el inicio para la identificación bacteriana, se considera una herramienta de la que nos servimos para hacer un diagnóstico provisional en el proceso de identificación de la mayoría de las bacterias teniendo en cuenta también

el tipo de muestra y el diagnóstico presuntivo del proceso infeccioso. Estos son algunos de los términos utilizados:

- Tinción: uniforme, irregular, unipolar, bipolar, etc.
- Forma: cocos, bacilos, cocobacilos, filamentosos, bacilos curvos, etc.
- Endosporas: ovales, esféricas, terminales, subterminales
- Tamaño: cortos, largos, etc.
- Bordes laterales: abultados, paralelos, cóncavos, irregulares
- Extremos: redondeados, puntiagudos
- Disposición: parejas, cadenas, tétradas, racimos, etc. (Vázquez *et al.*, 2011)

2.12.1.2. Características macroscópicas

La morfología de las colonias es fundamental en la identificación preliminar y para la diferenciación de los microorganismos. Para la observación morfológica es preferible examinar colonias de cultivos frescos crecidas en medios no selectivos. Las colonias de una única especie, cuando crecen en medios específicos y bajo condiciones idóneas se describen por sus características de tamaño, forma, consistencia, y a veces por su color.

Algunos microorganismos producen una colonia pigmentada, lo que puede ser de ayuda en el proceso de identificación (ejemplo: *Pseudomonas aeruginosa* (pigmento verde), *Serratia marcescens* (pigmento rojo) aunque en una misma especie puede haber cepas no pigmentadas, etc. (Vargas & Kuno, 2014).

En los medios de cultivo las bacterias se multiplican y es necesario esperar al menos 18-24 horas para visualizarlas. Necesitan una fuente de energía, una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, algunas sales, oligoelementos y agua. Todos los medios de cultivo han de cumplir como mínimo con estos requisitos, pero en muchas ocasiones se necesitan además otras sustancias adicionales como vitaminas, factores de crecimiento o aminoácidos esenciales (Montero *et al.*, 2017).

Requisitos de crecimiento; Aerobias estrictas, que crecen solo en atmosferas en donde la presencia de oxígeno predomine, también anaerobias estrictas, que solo crecen en atmosferas en donde la concentración de oxígeno es inferior a la de otros

gases y facultativas, que crecen tanto en aerobiosis como en anaerobiosis. Microaerofílicas, que crecen mejor en una atmósfera con reducida concentración de oxígeno y capnofílicas, que requieren CO₂ adicional para crecer (Montero *et al.*, 2017).

2.12.2. Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias consideradas como objeto de identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía.

- Catalasa: La catalasa es un enzima presente en la mayoría de los microorganismos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas, cuando se añade agua oxigenada a colonias bacterianas positivas a esta prueba (Azcano *et al.*, 2020).
- Oxidasa: Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasas. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo presente en la tirilla requerida para esta prueba (Ema *et al.*, 2022).
- Ureasa: Determina la capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por acción del enzima ureasa. Esta actividad enzimática es característica de todas las especies de *Proteus* y se usa sobre todo para diferenciar este género de otras enterobacterias que dan negativo o positivo retardado (Liu *et al.*, 2017).
- Indol: Mediante esta prueba se detecta la liberación de indol en un cultivo bacteriano. Dicha liberación se debe a la degradación del aminoácido triptófano mediante el enzima triptofanasa (Pringle *et al.*, 2017).
- Rojo de metilo: El rojo de metilo es un indicador de pH. Actúa entre pH 4.2 y 6.3 variando desde rojo (pH 4.2) a amarillo (pH 6,3). Mediante esta prueba se comprueba la capacidad de un microorganismo de producir y mantener estables los productos terminales ácidos de la fermentación de la glucosa por la vía de la fermentación ácidomixta (Arroyo, 2017).

- Voges-Proskauer: Permite observar si el microorganismo fermenta la glucosa por la vía butanodiólica. Si es así, se forma un producto intermedio (acetoína) que forma un complejo de color rojizo con el α -naftol (Arroyo, 2017).
- Utilización de citrato: Esta prueba sirve para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una alcalinización del medio (Lubkowski *et al.*, 2019).
- Hidrólisis de la gelatina: Esta prueba muestra la capacidad de ciertos microorganismos para hidrolizar la gelatina a péptidos y aminoácidos, mediante la acción de enzimas específicas denominadas gelatinasas (Lubkowski *et al.*, 2019).

2.13. Antibiograma

2.13.1. Suspensión Del Inoculo

Existen dos métodos para la preparación de inóculo: suspensión directa de colonias y fase logarítmica de crecimiento, sólo el método de suspensión directa de colonia proveerá resultados precisos para ciertos microorganismos, en los dos métodos la turbidez de la suspensión debe ser estándar. La suspensión de las colonias en solución salina o caldo, luego se debe ajustar el inóculo a una turbidez equivalente al estándar de 0,5 de McFarland el mismo que indica que ese grado de turbidez posee una población bacteriana de 1×10^8 UFC/ml (Montero *et al.*, 2018).

2.13.2. Inoculación De La Placa

El inoculo será sembrado en la placa con agar específico como es el Mueller-Hinton, agite la suspensión del organismo para asegurarse que está bien mezclada, luego, sumerja un hisopo de algodón estéril en la suspensión, remueva el exceso de líquido del hisopo presionándolo contra la pared del tubo, empezando en la parte superior de la placa inocule la superficie con el hisopo, cubra todas las placas frotando de ida y vuelta de un borde a otro. Incube la placa dentro de los 15 minutos siguientes después de haber estandarizado el inóculo (Montero *et al.*, 2018).

2.13.3. Aplicación de los discos de antimicrobiano

Coloque los discos con los agentes antimicrobianos dentro de los 15 minutos siguientes a la inoculación, los discos pueden ser colocados uno a uno o con un

dispensador de discos, típicamente se puede aplicar hasta 12 discos en una placa de 150 mm de diámetro o hasta 5 discos en una placa de 100mm, presione cada disco firmemente para asegurar el contacto completo con la superficie de agar (González & Vidal, 2021)

2.13.4. Medición de la zona de inhibición

Después de retirar la placa de la incubadora se examina detenidamente la placa para verificar que el crecimiento sea uniforme y confluyente de tal modo que pueda identificar zonas sin crecimiento bacteriano. Para medir las zonas de inhibición desde la parte posterior de la placa usando luz reflejada, sostenga la placa con unos pocos centímetros sobre una superficie de color negro que no refleje la luz, mide redondeando al milímetro más cercano con un calibrador (Montero *et al.*, 2018).

CAPÍTULO III.

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación de la investigación

- **Localización de la investigación**

El lugar de la toma de muestras se realizó a vacas de postparto inmediato de unidades productivas ubicadas en el recinto Yagui Chico perteneciente al cantón San Miguel.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio general, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente perteneciente a la Universidad Estatal de Bolívar.

- **Situación geográfica y climática**

Parámetro	San Miguel De Bolívar	Guaranda
Altitud	2444 msnm	2640 msnm
Latitud	1°42'00"S	1°36'41"S
Longitud	79°02'00"O	78°59'44"O
Temperatura Máxima	24° C	21° C
Temperatura Mínima	7° C	7° C
Temperatura Media	17,5° C	14,4° C
Precipitación media anual	250 mm	220 mm
Humedad relativa (%)	78%	70%

Fuente: INAMHI (2019), Gad San Miguel (2021).

- **Zona de vida**

De acuerdo con la sistematización de zonas de vida de Leslie Holdridge, el cantón San Miguel y el cantón Guaranda de la provincia de Bolívar de acuerdo con la biotemperatura se encuentran establecidos a la región latitudinal templado cálido, así mismo corresponde a la denominación de Bosque Húmedo con un piso altitudinal montano bajo respectivamente (Holdridge, 1967).

3.2. Métodos

3.2.1. Material Experimental

- 20 muestras de calostro
- Discos de oxitetraciclina
- Discos de amoxicilina
- Discos de sulfametoxazol más trimetoprim
- Disco de cefalexina

3.2.2. Factores en estudio

3.2.2.1. Factor A

A1= Aislados bacterianos

3.2.2.2. Factor B

B1= Disco de oxitetraciclina

B2= Disco de amoxicilina

B3= Disco de sulfametoxazol + trimetoprim

B4= Disco de cefalexina

3.2.3. Tratamientos

Tabla 3.

Tratamientos planteados en la investigación

Tratamiento	Descripción
1	Aislados bacterianos + discos de oxitetraciclina
2	Aislados bacterianos + discos de amoxicilina
3	Aislados bacterianos + discos de sulfametoxazol + Trimetoprim
4	Aislados bacterianos + disco de cefalexina

Experimental: Sánchez, (2024)

3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico

- Estadística descriptiva
- Diseño de bloques completamente al azar (DBCA)
- Prueba de Tukey al 5%

Tabla 4.

Características del ADEVA

Tratamientos	4
# unidades experimentales	20 (muestras de calostro)
Tamaño de la unidad experimental	10 ml
Número de aislados bacterianos	12
Repeticiones del antibiograma	2
Número total de análisis	96

Experimental: Sánchez, (2024)

3.2.5. Manejo del experimento

- **Toma de la muestra**

Las muestras se adquirieron de una investigación paralela fundamentada en la determinación de la calidad inmunológica y sanitaria del calostro, estas muestras se tomaron de vacas que se encontraban en postparto inmediato, en el momento preciso antes de que el ternero se amamante, el muestreo se realizó bajo condiciones asépticas donde se realizó inicialmente la limpieza y desinfección del pezón, del cual se tomaron de 10-15 ml de calostro, en tubos Corning estériles de tapa rosca.

- **Procesamiento de la muestra**

De forma inicial en el laboratorio se prepararon los medios y agares de cultivo, para este estudio se utilizaron los medios; Agar tripticasa de soja, agar MacConkey, caldo nutritivo a base de extracto de caseína pancreática, agar base sangre con adición del 5% de sangre de oveja, cada uno de los medios se estructuraron bajo las indicaciones del fabricante, y correspondientemente se empaquetaron en 20 cajas

Petri y tubos de ensayo de centrifugación, la alícuota de la muestra de calostros sembrada fue de 1000µL para los primeros procedimientos cultivo los cuales se sometieron a incubación en aerobiosis a 37° C por 24 a 48 horas, luego de la incubación se obtuvieron los crecimientos bacterianos primarios de los cuales se observaron las características de crecimiento y morfología de las colonias bacterianas tanto de los medios específicos para bacterias gram positivas como para gram negativas.

A partir de los crecimientos bacterianos primarios se realizó la separación y resembrado de colonias, discerniendo de las características de crecimiento, forma, color, patrón de hemolisis, etc., tomando en cuenta que se sembraron en los cultivos secundarios colonias diferenciadas entre si, que fueron encontradas en el cultivo inicial, este proceso se realizó mediante siembra por agotamiento con 2 o más estrías, y se repitieron las veces necesarias hasta obtener un cultivo axénico.

- **Identificación de la bacteria**

Para la identificación microbiana inicialmente se tomó en cuenta las características de crecimiento y morfología de la colonia, además las características celulares halladas en la tinción de Gram y el patrón de hemolisis observado en los cultivos bacterianos del agar sangre, este compilado de pruebas contribuyeron para establecer inicialmente una identificación presuntiva de la bacteria.

Inició con la preparación los medios específicos para identificar algunas vías metabólicas de nutrición bacteriana de los microorganismos en proceso de caracterización, el efecto de este procedimiento se fundamentó en los resultados de las pruebas de Indol, Rojo Metilo, Voges Proskauer y la utilización de citrato, además, también se consideraron los patrones de fermentación de azúcares y la producción gas y ácido sulfhídrico, para su proceso y aplicabilidad se usaron medios nutritivos como el agua peptona tamponada, caldo MR-VP y agar citrato de Simmon`s, los que se empacaron en tubos de ensayo de 10 mL en el siguiente orden;

- Tubo con 5 ml de agua peptona (Indol).
- Tubo con 5 ml de caldo MR-vP (Rojo Metilo).
- Tubo con 5 ml de caldo MR-vP (Voges-Proskauer).

- Tubo con 5 ml con agar citrato de Simmons (agar solido inclinado).

Concluida la preparación de estos medios, se inocularon con colonias extraídas de un cultivo axénico previamente obtenido, luego de que se inocularon y sembraron los medios de identificación se introdujeron a la incubadora por un periodo de 24 horas a 37 °C, posterior a este periodo se analizaron las reacciones bioquímicas propiciadas por reacción de algunos metabolitos de la nutrición bacteriana con la utilización de los reactivos del esquema IMViC en el siguiente orden; 1. reactivo de kovacs, 2. Rojo metilo, 3. Alfa-Naftol + hidróxido de potasio (KOH) al 40% y en dependencia del nivel de reacción se le asignó un signo positivo o negativo a la presencia o ausencia de cambios en el caldo de cultivo en cual se les añadió.

Adicionalmente se aplicaron otras pruebas bioquímicas como las pruebas de catalasa y oxidasa, las mismas que pusieron en evidencia la presencia de las enzimas catalasa y citocromo-c-oxidasa, presentes en las membrana de algunos microorganismos aerobios, al igual que las pruebas antes citadas estas en dependencia del tipo de reacción a al peróxido de hidrogeno y a la tetrametil,1-4, fenilendiamina respectivamente se les asignó un signo de positividad o negatividad que contribuyó a su identificación.

Tabla 5.

Perfiles de identificación de bacterias Gram positivas en estudio.

Pruebas	<i>Listeria</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Arcanobacterium</i>
Tinción de Gram	Bacilo +	Bacilo + (agrupamiento en forma de V)	Bacilo +
Catalasa	+	+	-
Oxidasa	-	+	-
Morfología de la colonia	Colonias Blancas grises	Colonias blancas opacas	Grisáceas a amarillentas
Hemolisis	Alfa-hemolisis	sin hemolisis	Beta-hemolisis
Voges-Proskauer	+	+	+
Rojo de metilo	+	-	-
Citrato	+	+	+
Indol	-	-	-

Fuente: (Aristizábal *et al.* 2020; Ogbulie *et al.* 2017; Román & García, 2005).

Tabla 6.

Perfiles de identificación de bacterias Gram negativas en estudio.

Pruebas	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>
Indol	+	-
Rojo de metilo	+	+
Voges-Proskauer	-	-
Citrato	-	+
Fermentación de la lactosa	+	-
TSI	+	-

Fuente: Tiller (2017).

- **Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana**

Este procedimiento se realizó bajo los lineamientos establecidos en el método de difusión de discos de antibióticos de Kirby-Bauer para su efecto se consideraron los siguientes procedimientos:

- **Inoculación en caja Petri:** Inicialmente para el desarrollo de la interacción farmacológica en el cultivo bacteriano, se preparó agar Müller-Hinton bajo las indicaciones del fabricante el mismo que se empacó en cajas Petri de 90 mm x 15 mm, en las cuales se sembró una densidad de población microbiana de 1×10^8 UFC/ml, considerando que para alcanzar este valor de población previamente se suspendió en agua destilada estéril una proporción de colonias bacterianas hasta alcanzar el ajuste de la escala McFarland 0.5, en dicha suspensión se introdujo un hisopo estéril para colectar una alícuota la cual se inoculó en el medio de cultivo preparado, dicha alícuota presente en el hisopo se extendió sobre toda la superficie del medio, de manera continua en todas las direcciones cubriendo toda la superficie.

- **Aplicación de los discos:** Posteriormente a la inoculación de las cajas Petri con las cepas bacterianas, con el uso de una pinza estéril se procedió a colocar los discos de papel filtro de celulosa, los cuales contenían oxitetraciclina a $30\mu\text{g}$, amoxicilina a $10\mu\text{g}$, cefalexina a $30\mu\text{g}$ y sulfametoxazol $23.75\mu\text{g}$ + trimetoprim $1.25\mu\text{g}$, recalando que se colocaron los 4 discos por cada caja cultivada con una cepa en cuestión, su aplicación se determinó con una separación de 20 mm a 30 mm entre fármacos y desde el borde de la caja de 15 mm a 20 mm.

- **Incubación:** Luego de la inoculación de las cajas, estas fueron selladas con papel parafilm, cubriendo todo el borden y considerando como mínimo 2 capas de sellado, posteriormente se incubó el cultivo a 37°C por un tiempo de 24 horas, luego trascurrido este periodo de tiempo se procedió con la medición de los halos de inhibición con la ayuda de un calibrador de Vernier, en donde se tomó el valor del diámetro absoluto del halo presente y se le restó 6 mm que vendría a ser el valor de la medida del disco, de ese modo se obtuvo el valor real de la zona de inhibición.
- **Categorización de la susceptibilidad:** Los resultados del diámetro de la zona de inhibición se compararon con los criterios interpretativos establecidos por el CLSI y EUCAST, lo que determinó si la bacteria en estudio fue sensible o resistente al antibiótico en cuestión, para la categorización de las bacterias gram negativas se utilizó los puntos de corte del CLSI de los documentos VET-01S (2024) y M100-ED33 (2023) correspondientemente, para el caso de las bacterias gram positivas, se consideró los puntos de corte del EUCAST (2014) referenciándose al método de difusión de disco contra *Listeria* spp. y *Corynebacterium* spp, siendo estos también utilizados para categorizar *Arcanobacterium* spp, sin embargo, no existe evidencia publicada de los criterios interpretativos en la interacción de oxitetracilina con *Listeria* spp., y sulfametoxazol más trimetoprim con *Corynebacteria* spp., de tal modo se tomó como referencia las recomendaciones de Barberis *et al.* (2018) quienes utilizaron los puntos de corte de *Staphylococcus* spp como puntos interpretativos para la bacilos gram positivos (Corineformes), encontrados en el CLSI (2024) del documento VET-01S.

Tabla 7.

Criterios interpretativos para la susceptibilidad antimicrobiana para enterobacterias en estudio.

Fármaco	Sensible	Intermedio	Resistente
Tetraciclina	≥ 15	12-14	≤ 11
Amoxicilina	≥ 18	14-17	≤ 13
Cefalexina	≥ 23	20-22	≤ 19
Sulfametoxazol mas trimetoprim	≥ 16	11-15	≤ 10

Fuente: CLSI (2024); CLSI (2023).

Tabla 8.

Criterios interpretativos para la susceptibilidad antimicrobiana para las bacterias gram positivas en estudio.

<i>Listeria</i>	Sensible	Intermedia	Resistente
Sulfametoxazol más trimetoprim	≥ 23	-	≤ 22
Betalactámicos	≥ 15	-	≤ 14
Tetraciclina	≥ 23	18-22	≤ 17
<i>Corynebacterium</i>			
Betalactámicos	≥ 29	-	≤ 28
Tetraciclina	≥ 24	-	≤ 23
Sulfametoxazol más trimetoprim	≥ 16	11-15	≤ 10

Fuente: EUCAST (2014); CLSI (2024).

3.2.6. Métodos de evaluación y datos a tomar

- **Aislamiento bacteriano:** variable cualitativa que se desarrolló mediante procedimientos de cultivo y aislamiento microbiológico de las muestras de calostro obtenidas, cuyo resultado fue estimar la frecuencia y el porcentaje de muestras que lograron determinar crecimiento de bacterias.
- **Identificación bacteriana:** variable que se desarrolló mediante la recopilación de resultados de las pruebas fenotípicas y bioquímicas usadas, las cuales ensamblan un perfil único de identificación designado para cada género bacteriano en cuestión, permitió obtener datos epidemiológicos sobre los géneros bacterianos que causan diarreas en terneros del cantón San Miguel.
- **Prevalencia de bacterias causante de diarreas:** variable que se registró a partir de la ayuda de las pruebas de identificación fenotípicas y bioquímicas, considerándose para la presente investigación solamente aquellos géneros

bacterianos catalogados como causantes de diarreas en terneros, su valor fue registrado a partir de la aplicación de la siguiente fórmula;

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de bacterias de un solo género}}{\text{Población total de bacterias diarreogénicas}} * 100$$

- **Susceptibilidad antimicrobiana:** Variable de tipo independiente considerada como la característica que tienen ciertos patógenos de ser sensible o resistentes a la interacción antagónica de un antibiótico, para el registro de dicha variable se midieron los halos de inhibición (mm), los cuales fueron comparados en los puntos de cortes establecidos por las guías CLSI y EUCAST.

3.2.7. Análisis de datos

Se midió el efecto de la interacción antagónica de los antibióticos enunciados anteriormente, a partir de las medidas de las zonas de inhibición obtenidas en el antibiograma aplicando un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), para ello se utilizó el paquete estadístico SAS 9.4.

CAPÍTULO IV.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1. Aislamiento de bacterias presente en el calostro bovino

Tabla 9.

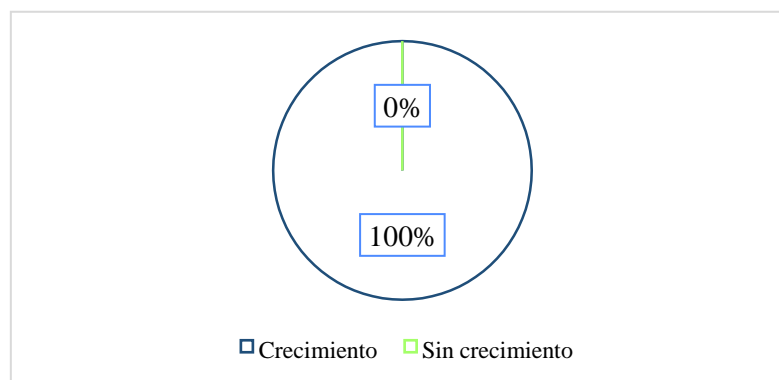
Muestras de calostro bovino con crecimiento bacteriano

Concepto	Fr.	%
Crecimiento	20	100
Sin crecimiento	0	0
Total	20	100

En el 100% de las muestras de calostro bovino, es decir, en las 20 muestras procesadas se observó crecimiento bacteriano a partir de los análisis microbiológicos, estos crecimientos se consideraron como óptimas para la identificación de bacterias causante de diarreas en neonatos bovinos.

Figura 1.

Muestras de calostros bovinos con crecimiento bacteriano



En la investigación de Baltrukova *et al.* (2019) mencionan que la mala calidad del calostro bovino y su déficit en el aprovechamiento se atribuye a altos recuentos de bacterias, los autores citados en su estudio evidenciaron crecimiento de enterobacterias causante de diarreas en terneros en el 100% de las muestras. Comparativamente son resultados similares ya que la totalidad de muestras de calostros en estudio presentaron crecimiento bacteriano.

4.1.2. Identificación de bacterias causante de diarreas en terneros presentes en el calostro bovino.

Tabla 10.

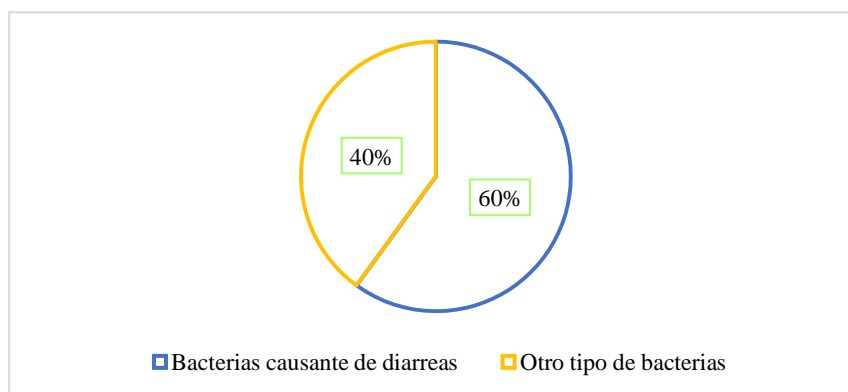
Bacterias aisladas de calostro bovino causante de diarreas en terneros.

Concepto	Fr.	%
Bacterias causantes de diarreas	12	60
Otro tipo de bacterias	8	40
Total	20	100

La identificación bacteriana permitió evidenciar que, de las 20 muestras de calostro bovino analizadas, el 60% (n=12) de las muestras incurrieron como bacterias patógenas que al colonizar el tracto digestivo y pueden provocar cuadros diarreicos en terneros, el 40% (n=8) restante de los análisis permitió la identificación de otros géneros bacterianos las cuales no representan un riesgo etiológico en las diarreas.

Figura 2.

Porcentaje de bacterias aisladas de calostro bovino causante de diarreas en terneros.



Dos Santos *et al.* (2017) mencionan que existen varias causas de diarreas en terneros, interviniendo en gran medida ambientes contaminados, fallas en la obtención y manejo del calostro, poca resistencia del animal, contaminación del calostro con microorganismos, etc., en el artículo citado hacen referencia a lo mencionado por la The National Animal Health Monitoring System (USDA-NAHMS) quienes indican que el 62% de las muertes de terneros en Estados Unidos

es causada por la patología en cuestión, además indican que la prevalencia de calostro con bacterias patógenos que provocan diarreas es de aproximadamente un 77%. Comparativamente podemos expresar concordancia con los hallazgos microbiológicos obtenidos en la presente investigación, debido que a partir del 60% de las muestras de calostro analizadas se identificaron bacterias que provocan diarreas en terneros.

Tabla 11.

Identificación fenotípica y bioquímicamente las bacterias causantes de diarreas en neonatos bovinos presente en el calostro bovino.

Clasificación	# Géneros	Nomenclatura
Gram negativa	2	<i>Salmonella</i> spp.
		<i>Escherichia coli</i>
		<i>Corynebacterium</i> spp.
Gram positivas	3	<i>Listeria</i> spp.
		<i>Arcanobacterium</i> spp.

Mediante el análisis in vitro de identificación bioquímica para las bacterias asiladas de muestras de calostro bovino como posibles causantes de diarreas en terneros, se logró identificar 5 géneros bacterianos, de los cuales, dos géneros se clasificaron como bacteria Gram negativas, las mismas que según sus patrones bioquímicos se identificaron como *Salmonella* spp., y *Escherichia coli*, así mismo dentro de la clasificación de bacterias Gram positivas se logró identificar tres géneros bacterianos correspondientes a *Corynebacterium* spp., *Listeria* spp., *Arcanobacterium* spp., considerando que las bacterias mencionadas e identificadas son responsables de cuadros diarreicos en neonatos bovinos.

González *et al.* (2016) en su investigación sobre la contaminación del calostro bovino, muestrearon 20 unidades productivas con distinto nivel de manejo del calostro y ternero, los autores identificaron a *Shigella* spp., *Samonella* spp., *Mycoplasma* spp., *Mycobacterium* spp., y *Escherichia coli*, adicionalmente relacionaron su hallazgo a la colonización de patógenos en la glándula mamaria o contaminación del calostro antes, durante y después de la primera toma del ternero.

Así mismo Lima *et al.* (2017) en su investigación sobre el microbioma del calostro bovino y su asociación con la mastitis clínica después de 30 días del parto en granjas del estado de Nueva York, encontraron alrededor de 20 taxones bacterianos, destacándose entre ellos *Staphylococcus* spp, *Corynebacterium* spp, *Bacillus* spp, *Clostridiales*, incluyendo Enterobacterias, entre otros géneros bacterianos, los cuales se catalogan como altamente patógenos para los terneros debido a su capacidad diarreogénica, y que son responsables de provocar un aumento en la morbilidad y mortalidad de animales jóvenes.

Asimismo, en la presente investigación se logró identificar mediante métodos rutinarios, bacterias patógenas con potencial diarreogénico a partir de muestras de calostro, sin embargo, la diversidad bacteriana se encuentra sujeta a la trazabilidad de la muestra donde intervienen factores como el manejo, el ambiente y a la susceptibilidad de los animales.

4.1.3. Prevalencia de los géneros bacterianos causante de diarreas en terneros aislados e identificados a partir de muestras de calostro bovino.

Tabla 12.

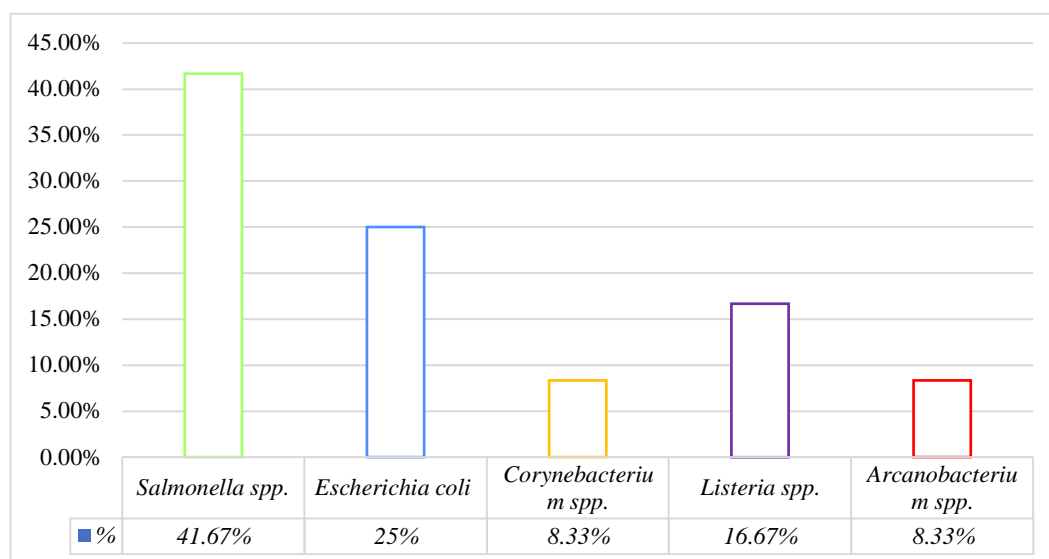
Prevalencia de bacterias aisladas e identificadas del calostro bovino causante de diarreas en terneros.

Bacteria	Frecuencia	Porcentaje
<i>Salmonella</i> spp.	5	41.67
<i>Escherichia coli</i>	3	25.00
<i>Corynebacterium</i> spp.	1	8.33
<i>Listeria</i> spp.	2	16.67
<i>Arcanobacterium</i> spp.	1	8.33
Total	12	100.00

Mediante las pruebas de identificación bioquímicas se logró determinar en un 41.67% a *Salmonella* spp., en un 25% a *Escherichia coli*, posteriormente con un 16.67% *Listeria* spp., y finalmente con un 8.33% *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium* spp., respectivamente.

Figura 3.

Prevalencia de bacterias aisladas e identificadas calostro bovino causante de diarreas en terneros



Šlosárková *et al.* (2020) quienes investigaron la contaminación microbiana del calostro bovino en 26 granja lecheras de Republica Checa, obtuvieron un total de 155 muestras de calostro, de las cuales lograron aislar un total de 44 géneros bacterianos siendo identificados entre los principales a; *Corynebacterium spp.* el cual estuvo presente en 23 muestras lo que representó un 14.8%, *Escherichia coli* en 14 muestras representando un 9% y algunos *Bacillus spp* gram positivos en 27 muestras lo que represento un 17.4% de prevalencia respectivamente.

Asimismo, Hoser *et al.* (2008) en su investigación sobre la calidad bacteriológica y aparición de *Salmonella* en el calostro bovino crudo en la región lechera de Pensilvania, USA, encontraron que de un total de 55 muestras analizadas dicha bacteria se presentaba con una prevalencia del 15%, considerando que este microorganismo puede enfermar tanto a terneras recién nacidas como de mayor edad.

Al comparar los resultados citados con los encontrados en la presente investigación podemos afirmar que la prevalencia de bacterias patógenas causantes de cuadros diarreicos en terneros que pueden estar presentes contaminando el calostro, tiende a diferir entre zonas de producción y dependerá en gran medida del gerenciamiento del calostro.

4.1.4. Análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de los tratamientos propuestos.

4.1.4.1. Estudio del ANOVA del DBCA del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias del calostro bovino

Tabla 13.

Estudio del ANOVA del DBCA del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias aisladas e identificadas del calostro bovino.

F. V	Gl	SC	CM	F-V	Pr-F	Sig
Tratamiento	3	4441.50	1480.50	173.81	<.0001	**
Bloques	1	9.37	9.37	1.10	0.2969	NS
Error	91	775.12	8.51			
Total	95	5226.00			CV: 20.48%	

Nota. **: Diferencias estadísticas altamente significativo, NS: no significativo.

Mediante la prueba de Fisher, en el estudio del ANOVA, se observó diferencias estadísticas altamente significativas (**) entre los tratamientos, es decir que los fármacos planteados inhibieron de forma diferente el crecimiento de *Salmonella* spp., *E. coli*, *Listeria* spp., *Arcanobacterium* spp. y *Corynebacterium* spp., en el caso de los bloques se observó que no existió diferencias estadísticas, encontrando el mismo nivel de inhibición en cada uno de los aislados evaluados, contrastando que el antibiograma se lo realizó por duplicado, el presente análisis estadístico determinó un coeficiente de variación de 20.48% lo que es indicativo de una alta variabilidad en dicho efecto inhibitorio, sin embargo, se pone en manifiesto la confiabilidad y veracidad de los datos obtenidos, ya que dicha variación se debe a la tolerancia y a las diferencias patogénicas que poseen cada uno de los géneros sometidos al antibiograma.

Tabla 14.

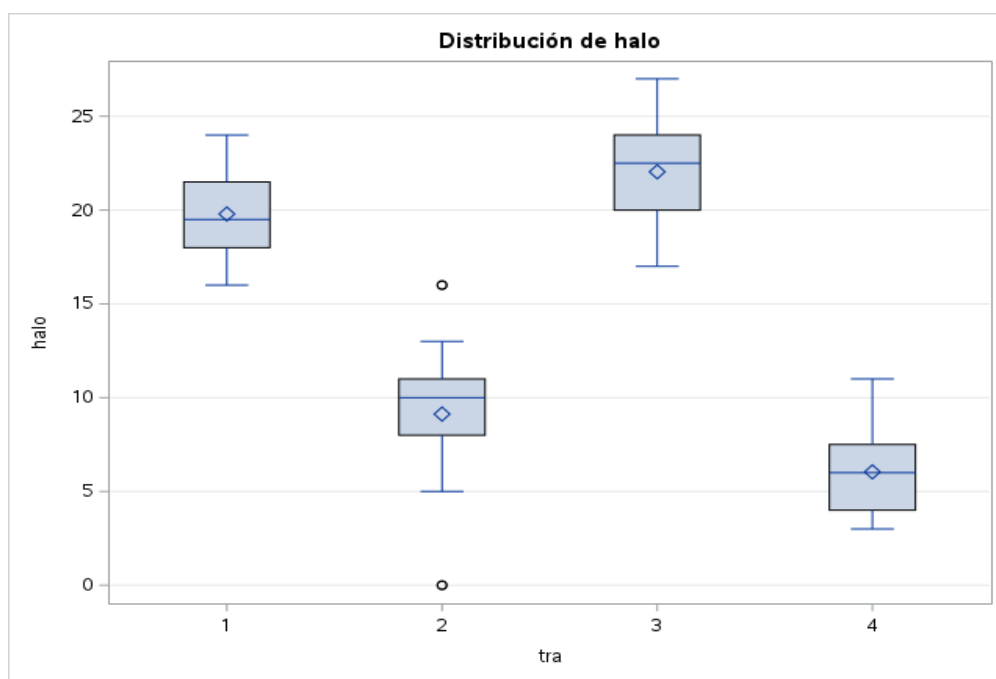
Prueba de Tukey al 5% del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias aisladas e identificadas en estudio

Tratamiento	Media	Agrupación
3 (Sulfametoxazol + Trimetoprim)	22.04	A
1 (Oxitetraciclina)	19.79	B
2 (Amoxicilina)	9.12	C
4 (Cefelexina)	6.04	D

Con el análisis de Tukey al 5% podemos determinar que los promedios de los tratamientos en estudio son estadísticamente diferentes, siendo el T3 el que obtuvo el mayor promedio con 22.04 milímetros en el área de inhibición, siguiéndole el T1 con un promedio de 19.79 milímetros en el área de inhibición, continuándole el T2 con un promedio de 9.12 milímetros en el halo de inhibición y finalmente el promedio con menor área de inhibición lo obtuvo el T4 con un valor de 6.04 milímetros.

Figura 4.

Diagrama de la distribución de los halos de inhibición del antibiograma de los tratamientos propuestos sobre las bacterias aisladas e identificadas en estudio



Astorga *et al.* (2019) investigaron la resistencia de *E. coli* causante de diarreas en terneros frente a betalactámicos, aminoglucósidos, quinolonas, sulfamidas potencadas, fenicoles, tetraciclinas y macrólidos, en donde aislaron un total de 349 cepas, de las cuales solo el 4.58% (n=16) presentaron sensibilidad a la totalidad de los fármacos probados, mientras que el 95.42% (n=333) presentaron resistencia a los 7 antibióticos, además, los autores citados evidenciaron diversos niveles de susceptibilidad ya que del total de resistentes el 43.55% (n=152) de las bacterias aisladas presentaron resistencia a más de 3 o al total de antibióticos, asimismo el 51.20% (n=181) restante presentaron resistencia a uno o dos antibióticos.

En la presente investigación se logró demostrar que los antibióticos betalactámicos (amoxicilina y cefalexina) utilizados, generaron diámetros en la zona de inhibición pequeños lo que está asociado a la resistencia a los antimicrobianos, mientras que, en la interacción con el antibiótico sulfametoxazol más trimetoprim se encontraron diámetros en la zona de inhibición mayores, estas diferencias en el comportamiento de la susceptibilidad entre antibióticos y los diversos géneros bacterianos propiciaron un coeficiente de variación del 20.48%, comparativamente el nivel de susceptibilidad de las bacterias estudiadas difiere de investigación a investigación de forma variada, debido a las condiciones intrínsecas de las bacterias aisladas del calostro bovino de cada localidad.

4.1.4.2. Análisis de susceptibilidad del grupo de las bacterias gram negativas presente en el calostro bovino

Tabla 15.

Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana del grupo de bacterias Gram negativas aisladas e identificadas del calostro bovino.

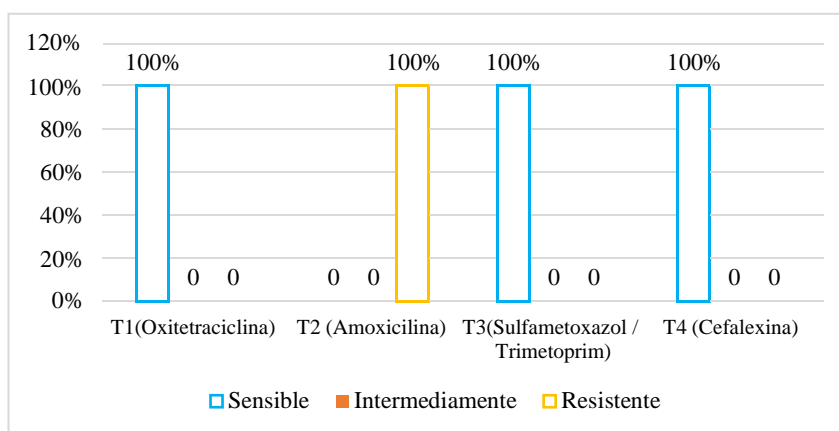
Tratamiento	<i>Salmonella spp</i> (n=5)			<i>Escherichia coli</i> (n=3)		
	S	I	R	S	I	R
T1(Oxitetraciclina)	100%	-	-	100%	-	-
T2 (Amoxicilina)	-	-	100%	-	33.33%	66.67%
T3(Sulfametoxazol / Trimetoprim)	100%	-	-	100%	-	-
T4 (Cefalexina)	100%	-	-	-	-	100%

Nota. S: sensible, I: intermedicamente resistentes, R: resistentes

Por medio del método de difusión de disco se estableció la susceptibilidad de las enterobacterias expuestas a cuatro antibióticos, donde *Salmonella spp.*, expresó un 100% de sensibilidad al T1, T3 y T4 respectivamente, mientras que al T2 expresó 100% de resistencia. En el caso de *Escherichia coli* demostró ser sensible en un 100% al T1 y T3 respectivamente, sin embargo, al T2 exhibió un 33.33% de resistencia intermedia y un 66.67% de resistencia, finalmente el 100% de los aislados de *E. coli* fueron resistentes al T4.

Figura 5.

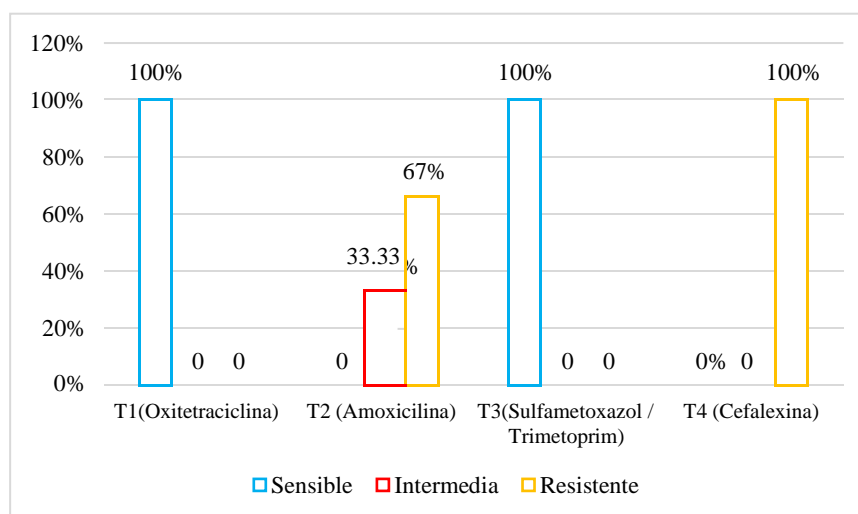
Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Salmonella spp., aisladas e identificada de calostro bovino.



Haque *et al.* (2022) quienes estudiaron la susceptibilidad de *Samonella* spp., multirresistente a partir de muestras fecales de terneros diarreicos, de un total de 12 aislados que fueron sometidos al antibiograma mediante el método de Kirby-Bauer, encontrando que el 100% de los aislados presentaron resistencia a amoxicilina y cefalexina, mientras que el 91.67% (n=11) presentaron resistencia a tetraciclinas. Comparativamente son datos muy diferentes a los encontrados en la presente investigación, ya que los 5 aislados de *Samonella* spp., solo fueron resistente a amoxicilina, mientras que a los demás antibióticos fueron sensibles.

Figura 6.

Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Escherichia coli, aisladas e identificada de calostro bovino.



Haque *et al.* (2022) quienes estudiaron la susceptibilidad de *Escherichia coli* multirresistente a partir de muestras fecales de terneros diarreicos, de un total de 36 aislados que fueron sometidos al antibiograma mediante el metodo de Kirby-Bauer encontraron que el 100% de los aislados presentaron resistencia a amoxicilina, cefalexina y tetraciclina. Comparativamente son datos muy diferentes a los encontrados en la presente investigación, ya que los 3 aislados de *Escherichia coli* solo fueron resistente a amoxicilina y cefalexina, mientras que a oxitetraciclina y sulfametoxazol más trimetoprim fueron sensibles.

4.1.4.3. Análisis de susceptibilidad del grupo de bacterias gram positivas presente en el calostro bovino.

Tabla 16.

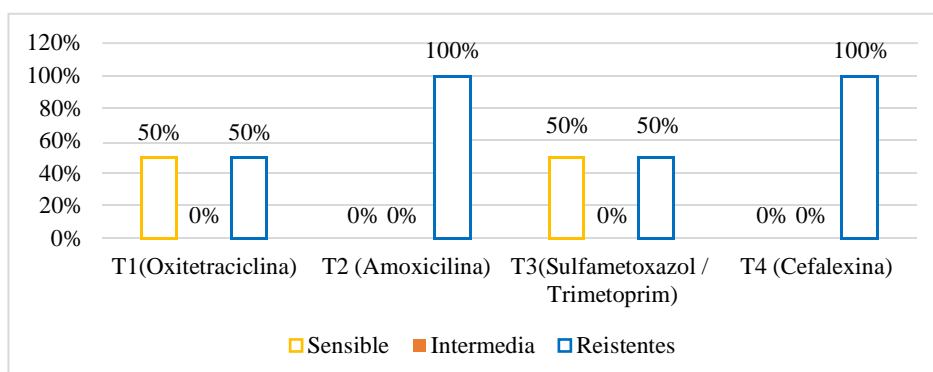
Porcentaje de susceptibilidad del grupo de bacterias gram positivas presente en el calostro bovino.

Tratamiento	<i>Listeria spp</i> (n=2)			<i>Corynebacterium spp</i> (n=1)			<i>Arcanobacterium spp</i> (n=1)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R
T1(Oxitetraciclina)	50	-	50	100	-	-	-	-	100
T2 (Amoxicilina)	-	-	100	-	-	100	-	-	100
T3(Sulfametoxazol / Trimetoprim)	50	-	50	100	-	-	100	-	-
T4 (Cefalexina)	-	-	100	-	-	100	-	-	100

Por medio de las pruebas de susceptibilidad de las bacterias gram positivas identificadas y en interacción con cuatro antibióticos, se evidenció que *Listeria spp.*, exhibió un 100% de resistencia al T2 y T4, mientras que a T1 y T3 exhibió un 50% de resistencia y sensibilidad equitativamente. En el caso de *Corynebacterium spp.*, demostró ser sensible en un 100% a los tratamientos T1 y T3 respectivamente, sin embargo, al T2 y T4 exhibió un 100% de resistencia. El 100% de los aislados de *Arcanobacterium spp.*, fueron resistente a los tratamientos T1, T2 y T4, y sensibles al T3 equitativamente. Expresando que el antibiótico Sulfametoxazol más trimetoprim inhibió el 75% de los aislados en estudio.

Figura 7.

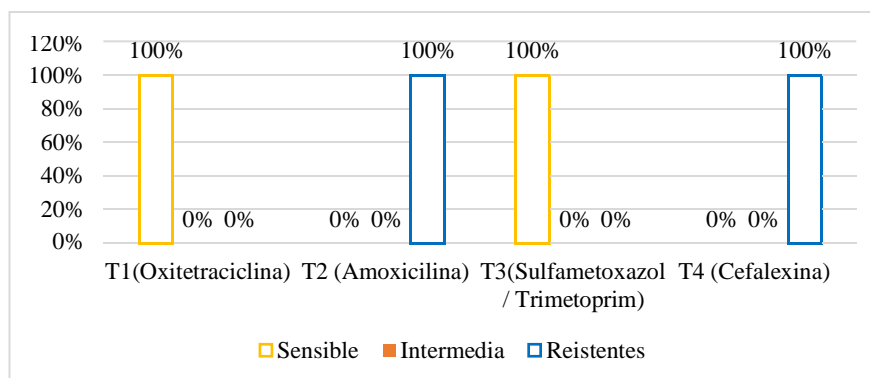
Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Listeria spp., aislada e identificada de calostro bovino



Terentjeva *et al.* (2018) quienes determinaron la prevalencia y resistencia a los antimicrobianos de *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., y los principales patógenos transmitidos por los alimentos en los terneros en Letonia, aislaron *Listeria monocytogenes* en un 0.6% del total de bacterias aisladas en muestras de calostro, la misma que exhibió sensibilidad a todos los antibióticos probados, incluyendo algunos betalactámicos, tetraciclinas, fluoroquinolonas y macrólidos. Se discrepa de los resultados de la investigación citada ya que al compararlos con los hallazgos de la presente investigación, *Listeria* spp., presentó resistencia total a los betalactámicos en estudio, y el 50% de los aislados fueron sensibles a oxitetraciclina y sulfametoxazol más trimetoprim, cabe recalcar que los niveles de resistencia y sensibilidad dependerán del grado de exposición antibiótica de dichos microorganismos y la zona de endemidad de las dichas bacterias.

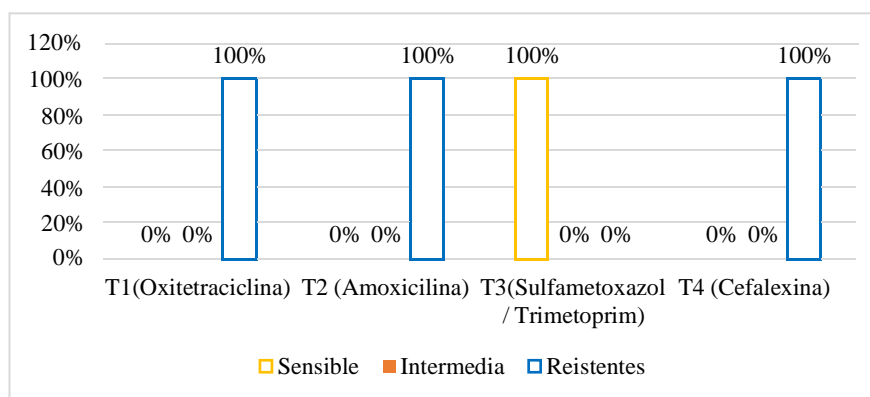
Figura 8.

Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Corynebacterium spp., aislado e identificado de calostro bovino.



Tras una exhaustiva revisión bibliográfica no se encontraron investigaciones sobre la susceptibilidad de *Corynebacterium* spp., aislados de calostro bovino o de diarreas en terneros, sin embargo, el CLSI (2016) en el documento M45 informa que esta bacteria posee resistencia a los betalactámicos, macrólidos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas, estos mecanismos de resistencia están mediados por la expresión de genes o plásmidos. Según este reporte en estudios internos de 500 cepas de *Corynebacterium* spp., aisladas de humanos más del 85% de los aislados eran sensibles a rimfapicina, tetraciclina y sulfamicinas. Concordamos con lo reportado por el CLSI, ya que mediante el antibiograma se pudo determinar la resistencia a los betalactámicos en estudio y la sensibilidad a la tetraciclina y sulfametoxazol más trimetoprim.

Figura 9. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de *Arcanobacterium* spp., aislado e identificado de calostro bovino.



Mekibib *et al.* (2023) quienes midieron la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de ganado bovino, lograron aislar 5 bacterias del género *Arcanobacterium* spp., causante de mastitis en vacas y diarreas en terneras, los autores citados midieron la susceptibilidad antimicrobiana de 2 aislados que se encontraban en la glándula mamaria de vacas parto y que provocaron diarreas en los terneros, encontrando que el 50% fueron sensibles y el otro 50% restante fueron resistente a tetraciclinas, en el caso de amoxicilina se observó que el 50% de los aislados presentaron resistencia intermedia y el otro 50% fueron sensibles a dicho antibiótico. Comparativamente son resultados muy diferentes a los obtenidos en la presente investigación ya que un solo aislado de *Arcanobacterium* spp., fue sensible al antibiótico sulfametoxazol más trimetoprim.

4.2. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS

Mediante el desarrollo de los métodos microbiológicos de aislamiento de bacterias patógenas causante de diarreas en terneros a partir de procedimientos de identificación fenotípica y bioquímica, se pudo evidenciar una prevalencia del 60% de dichos microorganismos, de los cuales se lograron reconocer 5 géneros bacterianos que según la literatura los establece como causantes de diarreas en neonatos bovinos, por lo tanto se optó por rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna, la misma que nos menciona que; Existe una alta prevalencia de bacterias patógenas causante de diarreas neonatal presente en el calostro bovino procedente del cantón San Miguel de Bolívar.

CAPÍTULO V.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- De acuerdo con los procedimientos microbiológicos de aislamiento e identificación mediante pruebas fenotípicas y bioquímicas a partir de las 20 muestras de calostros en estudio, se logró aislar 5 géneros bacterianos causantes de diarreas en neonatos bovinos definidos por; *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Corynebacterium* spp., y *Arcanobacterium* spp.
- La prevalencia de los géneros bacterianos considerados como causantes de diarreas en neonatos fue del 60%, los mismos que fueron aislados e identificados de 12 muestras de calostro, considerando que el 40% restante se identificaron como bacterias que no se catalogan como causantes de diarreas en terneros, del grupo de bacterias de interés clínico en la presente investigación se identificó a *Salmonella* spp., en un 41.67%, *Escherichia coli* en un 25%, posteriormente con un 16.67% *Listeria* spp., y finalmente con un 8.33% *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium* spp., correspondientemente.
- Mediante los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de difusión de disco y en consenso con los criterios interpretativos del CLSI y EUCATS se determinó que todos los aislados fueron resistente a amoxicilina (T2), en el caso de cefalexina (T4) el 100% de las *Salmonella* spp., expresaron sensibilidad, mientras que el resto de bacterias fueron resistentes a dicho fármaco, así mismo la oxitetraciclina inhibió por completo el crecimiento de *Salmonella*, *E. coli* y *Corynebacterium* spp., mientras que el 50% de aislados de *Listeria* spp., fueron resistente y el otro 50% sensibles, posteriormente *Arcanobacterium* resistió el mecanismo de acción de dicho antibiótico, aunque es importante destacar que el sulfametoxazol más trimetoprim (T3) logró inhibir la totalidad de los géneros bacterianos aislados en la presente investigación.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos de biología molecular (PCR-rt y PCR multiplex) de las bacterias aisladas en la presente investigación, identificando genes que confieren la expresión de factores de virulencia y resistencia a los antimicrobianas de uso común para la patología en cuestión.
- Establecer una investigación sobre la dinámica microbiológica de la glándula mamaria en el preparto, parto y postparto correlacionando la presencia de bacterias en el calostro y de casos de diarreas en neonatos.
- Realizar una indagación de la serotipificación de las enterobacterias identificadas en la presente investigación mediante el método de Kauffmann-White para establecer referenciales epidemiológicos de las causantes de diarreas en neonatos.
- Implementar el uso de terapéutico de sulfametoxazol más trimetoprim en casos diarreas en terneros en el canto San Miguel.
- Proponer a los ganaderos del cantón San Miguel optar por mejores protocolos de higiene antes, durante y después del parto, para evitar la contaminación del calostro bovino.

BIBLIOGRAFÍA

Aleri, J., Sahibzada, S., Harb, A., Fisher, A., Waichigo, F., Lee, T., Abraham, S. (2022). Molecular Epidemiology And Antimicrobial Resistance Profiles Of Salmonella Isolates From Dairy Heifer Calves And Adult Lactating Cows In A Mediterranean Pasture-Based System Of Australia. *Journal Of Dairy Science*, 105(2), pag. 1493-1503.

Aristizábal, A., Aguilera, A., Urbano, E., Pedraza, A., & Jaimes, C. (2020). Comparación Teórica Entre Técnicas Genotípicas Y Genotípicas Utilizadas En La Identificación De *Listeria monocytogenes*. *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, 16(2), pag. 7-19.

Armengol, R., & Fraile, L. (2016). Colostrum And Milk Pasteurization Improve Health Status And Decrease Mortality In Neonatal Calves Receiving Appropriate Colostrum Ingestion. *Journal Of Dairy Science*, 99(6), pag. 4718 - 4725.

Arroyo, L. (2017). Medicina De Animales De Reemplazo: Programas De Prevención De La Neumonía Y La Diarrea De Los Terneros Con Énfasis En Los Programas De Vacunación. *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*, 30, pag. 234-236.

Astorga, F., Navarrete, M., Miró, M., Bravo, V., Toro, M., Blondel, C., & Hervé, L. (2019). Antimicrobial Resistance In *E. coli* Isolated From Dairy Calves And Bedding Material. *Heliyon*, 5, pag. E02773.

Azcano, E., Oca, J., & Maden, G. (2020). Nueva Técnica Para Derminar La Catalasa Aplicado A Las Bacteriurias. *Revista Cubana De Medicina*, 23(2), pag. 155-166.

Baltrukova, S., Zagorska, J., & Eihvalde, I. (2019). Evaluation Of Microbiological Quality Of Colostrum. In *Baltic Conference On Food Science And Technology: Conference Proceedings*. LLU.

Barberis, C., Sandoval, E., Rodriguez, C., Ramírez, M., Famiglietti, A., Almuzara, M., & Vay, C. (2018). Comparison Between Disk Diffusion And Agar Dilution Methods To Determine *in vitro* Susceptibility Of *Corynebacterium* spp. *Clinical*

Isolates And Update Of Their Susceptibility. *Journal Of Global Antimicrobial Resistance*, 14, pag. 246-252.

Batista, C., Blagitz, M., Bertagnon, H., Gomes, R., Santos, K., & Della, A. (2015). Evolution Of Phagocytic Function In Monocytes And Neutrophils Blood Cells Of Healthy Calves. *Journal Of Dairy Science*, 98(12), pag. 8882-8888.

Belay, T., & Mekibib, B. (2022). Assessment Of Calf Management And Hygiene Practices Adopted In Large And Small-Scale Dairy Farms In Wondo Genet Area, Southern Ethiopia. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, pag. 329-337

Bilbao, G. (2013). Diarrea En Los Terneros: Pautas De Manejo Para Reducir La Mortandad En La Guachera. *Sitio Argentino De Producción Animal*, pag. 9-11.

Bilbao, G., Melana, R., Passucci, J., Almeida Castro, A., Paolicchi, F., Soto, P., & Monteavaro, C. (2019). Detección De Serovares De *Salmonella* En Terneros De Crianza Artificial De La Región Lechera Mar Y Sierras, Argentina. *Revista Argentina De Microbiología*, 51(3), pag. 241-246.

Bilbao, G., Pinto, A., Badaracco, A., Rodriguez, D., Monteavaro, C., & Parreño, V. (2011). Diarrea Neonatal Del Ternero. *Revista Albéitar*, 142, pag. 142-143.

Borchardt, S., Sutter, F., Heuwieser, W., & Venjakob, P. (2022). Management-Related Factors In Dry Cows And Their Associations With Colostrum Quantity And Quality On A Large Commercial Dairy Farm. *Journal Of Dairy Science*, 105(2), pag. 1589 - 1602.

Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J., & Valdezate, S. (2011). Métodos De Identificación Bacteriana En El Laboratorio De Microbiología. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 29(8), pag. 601-608.

Caffarena, R., Casaux, M., Schild, C., Fraga, M., Castells, M., Colina, R., Giannitti, F. (2021). Causes Of Neonatal Calf Diarrhea And Mortality In Pasture-Based Dairy Herds In Uruguay: A Farm-Matched Case-Control Study. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 52(2), pag. 977-988.

Caffarena. (2017). Aspectos Clínicos Y Epidemiológicos De La Diarrea Neonatal En Terneros De Tambos De Uruguay Y Su Asociación Con Infección Por

Cryptosporidium Spp. Y Escherichia Coli F5 (K99)+. Tesis de postgrado. Universidad De La República.

Calderón, J., & Gallo, C. (2020). Dairy Calf Welfare And Factors Associated With Diarrhea Abd Respiratory Disease Among Chilean Dairy Farms. *Animals: An Open Access Journal From Mdpi*, 10(7), pag. 1115.

Chae, J., Kim, H., Kang, J., Choi, K., Chae, J. S., Yu, D., Park, J. (2021). The Prevalence Of Causative Agents Of Calf Diarrhea In Korean Native Calves. *Journal Of Animal Science And Technology*, 63(4), pag. 864-871.

CLSI. (2016). Methods For Antimicrobial Dilution And Disk Susceptibility Testing Of Infrequently Isolated Or Fastidious Bacteria. *M45-Ed3*.

CLSI. (2023). Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. *M100-Ed33*, pag. 50-70.

CLSI. (2024). Performance Standards For Antimicrobial Disk And Dilution Susceptibility Tests For Bacteria Isolated From Animals, 7th Edition. *CLSI VET01S ED7*, pag. 50-70.

Cuttance, E., & Lavan, R. (2019). Estimación De La Mortalidad Perinatal En Terneros Lecheros: Una Revisión. *The Journal Veterinary*, 252, pag. 105356.

De La Gala, T. M. (2022). Caracterización Bibliográfica De *Escherichia coli* Asociada A Muerte De Terneros En Bovinos Lecheros. Tesis De Pregrado Universidad Técnica De Babahoyo. Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.

Derix, J., Ducatelle, R., Pardon, B., Croes, E., Groot, N., Deurzen-Duineveld, L., Goossens, E. (2023). The In Vitro Effect Of Lactose On *Clostridium perfringens* Alpha Toxin Production And The Implications Of Lactose Consumption For In Vivo Anti-Alpha Toxin Antibody Production. *Journal Of Dairy Science*, 106(1), pag. 733-742.

Dos Santo, G., Da Silva, J., Da Rocha, F., & Machado, M. (2017). Nutritional And Microbiological Quality Of Bovine Colostrum Samples In Brazil. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 46(1), pag. 72-79.

Dueñas, F., Rivera, D., Toledo, V., Tardone, R., Hervé'claudé, L., Hamilton-West, C., & Moreno, A. (2017). Short Communication: Characterization Of *Salmonella* Phages From Dairy Calves On Farms With History Of Diarrhea. *Journal Of Dairy Science*, 100(3), pag. 2196 - 2200.

Ema, F., Shanta, R., Rahman, M., Islam, M., & Khatun, M. (2022). Isolation, Identification, And Antibioqram Studies Of *Escherichia coli* Fron Ready-To-Eat Foods In Mymensingh, Bangladesh. *Veterinary World*, 15(6), pag. 1497-1505.

EUCAST. (2014). European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables For Interpretation Of Mics And Zone Diameters, pag. 1-80.

Franco, S., Signorini, M., & Tarabla, H. (2015). Valor Predictivo Positivo Del Diagnóstico Clínico De Diarrea Neonatal En Terneros. *Ciencia Agropecuaria*, 23, pag. 121-133.

Garcia, J., Pempek, J., Hengy, M., Hinds, A., Diaz-Campos, D., & Habing, G. (2022). Prevalence And Predictors Of Bacteremia In Dairy Calves With Diarrhea. *Journal Of Dairy Science*, 105(1), pag. 807-817.

Gavin, K., Neibergs, H., Hoffman, A., Kiser, J. N., Cornmesser, M. A., Amipour, S., Moore, D. (2018). Low Colostrum Yield In Jersey Cattle And Potential Risk Factors. *Journal Of Dairy Sciences*, 101(7), pag. 6388 - 6398.

Gharieb, R., Fawzi, E., & Elsohaby, I. (2019). Antiogram, Virulotyping And Genetic Diversity Of *Escherichia coli* And *Salmonella* Serovars Isolated From Diarrheic Calves And Calf Handlers. *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases*, 67, pag. 101367.

Gobernado, M., & López, J. (2003). Identificación Bacteriana. *Enferm. Infec. Microbiol. Clín.*, 21, pag. 54-60.

González, R., & Vidal, M. M. (2021). Mastitis Bovina Y Calidad De Leche, Un Desafío Para La Salud Humana. *Universidad Y Sociedad*, 13(1), pag. 50.

González, R., González, J., Peña, B., Nnuñez, L., Pérez, E., Moreno, A., & Reyes, J. (2016). Carga De Bacterias Coliformes En Calostro Bovino Pasteurizado. *Investigación Y Desarrollo En Ciencia Y Tecnología De Alimentos*, 1(1), pag. 157-161.

Gonzales. (2019). Identificación Fenotípica Y Molecular De Bacterias Productoras De Biofilm Presentes En La Formación Del Biofouling En Cultivos De “Concha De Abanico”(Argopecten Purpuratus), En La Bahía De Huaynuma, Casma-Perú.

González, R., Carbone, C., Revilla, Á., Frailer, L., & Elvira, L. (2020). Estudio Comparativo De Dos Vacunas Comerciales Frente A Diarrea Neonatal En Una Granja Lechera. *Boletín De Anembe*, 127, pag. 4.

Gull, T. (2022). Bacterial Causes Of Intestinal Disease In Dairy Calves: Acceptable Control Measures. *The Veterinary Clinics Of North American. Food Animal Practice*, 38(1), pag. 107-119.

Haagen, W., Hardie, L., Heins, B., & Dechow, C. (2021). Parámetros Genéticos De La Morbilidad Y La Permanencia De Los Terneros En Terneros Holstein Orgánicos De Ee. Uu. *Journal Of Dairy Science*, 104(11), pag. 11770-11778.

Haagen, W., Hardie, L., Heins, B., & Dechow, D. (2021). Genetic Parameters Of Calf Morbidity And Stayability For Us Organic Holstein Calves. *Journal Dairy Science*, 104(11), pag. 11770-1178.

Haque, M., Hossain, M., Islam, S., Islam, P., Shaha, S., Sikder, M., & Rafiq, K. (2022). Isolation Of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* And *Salmonella* spp. From Sulfonamide-Treated Diarrheic Calves. *Veterinary World*, 15(1), pag. 2870 - 2876.

He, L., Wang, C., Simujide, H., Aricha, H., Zhang, J., Lui, B., & Aorigele, C. (2022). Effects Of Pathogenic *Escherichia coli* Infection On The Flora Composition, Function, And Content Of Short-Chain Fatty Acids In Calf Feces. *Animals*, 12(8), pag. 959.

Hervé, C., Valwnzuela, H., Rodríguez, M., Herbach, P., & Navarrete, T. (2017). Resistencia A Antimicrobianos En *E. coli* Y *Salmonella* spp. De Terneros Del Sur De Chile. *Revista Mvz Córdoba*, 22(3), pag. 2017.

Hoser, B., Donaldson, S., Kehoe, S., Heinrichs, A., & Jayarao, B. (2008). A Survey Of Bacteriological Quality And The Occurrence Of *Salmonella* In Raw Bovine Colostrum. *Foodborne Pathogens And Disease*, 5(6), pag. 853-858.

- Hue, D., Skirving, R., Chen, T., Williams, J., Bottema, C., & Petrovski, K. (2021). Colostrum Source And Passive Immunity Transfer In Dairy Bull Calves. *Journal Dairy Science*, 104(7), pag. 8164-8176.
- Lértora, W. (2016). Diarrea Viral Bovina: Actualización. *Revista Veterinaria*, 14(1), pag. 42-51.
- Liang, Y., Hudson, R., & Ballou, M. (2020). Supplementing Neonatal Jersey Calves With A Blend Of Probiotics Bacteria Improves The Pathophysiological Response To An Oral *Salmonella* Enterica Serotype *Typhimurium* Challenge. *Journal Of Dairy Science*, 103(8), pag. 7351 - 7363.
- Lima, S., Teixeira, A., Lima, F., Ganda, E., Higgins, C., Oikonomou, G., & Bicalho, R. (2017). The Bovine Colostrum Microbiome And Its Association With Clinical Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 100(4), pag. 3031-3042.
- Liu, G., Kragh, M., Aabo, S., Jensen, A., & Olsen, J. (2022). Inhibition Of Virulence Gene Expression In *Salmonella dublin*, *Escherichia coli* F5 And *Clostridium perfringens* Associated With Neonatal Calf Diarrhea By Factors Produced By Lactic Acid Bacteria During Fermentation Of Cow Milk. *Frontiers In Microbiology*, 13, pag. 828013.
- Lombard, J., Garry, F., Urie, N., McGuirk, S., Godden, S., Sterner, K., Maas, J. (2019). Proposed Dairy Calf Birth Certificate Data And Death Loss Categorization Scheme. *Journal Of Dairy Science*, pag. 4704 - 4712.
- Lopez, A., Yohe, T., Munera, J., Nagorske, M., Renaud, D., & Steele, M. (2022). Effects Of A Low- Or High-Frequency Colostrum Feeding Protocol On Immunoglobulin G Absorption In Newborn Calves. *Journal Dairy Science*, 105(7), pag. 6318-6326.
- Lubkowski, J., Chan, W., & Wlodawer, A. (2019). Opportunistic Complexes Of E. Coli L-Asparaginases With Citrate Anions. *Scientific Reports*, 9(1), pag. 11070.
- Lui, X., Zhang, Q., Zhou, N., & Tian, Y. (2017). Expression Of An Acid Urease With Urethanasase Activity In E. Coli And Analysis Of Urease Gene. *Molecular Biotechnology*, 59(2-3), pag. 84-97.

Machado, V., & Ballou, M. (2022). Descripción General De Las Prácticas Comunes En Las Instalaciones De Cría De Terneros. *Transl. Anim. Sci.*, 6(1).

Madoz, L., Juliodori, M., Migliorisi, A., Jaureguiberry, M., & De La Sota, R. (1 De Enero De 2014). Endometrial Cytology, Biopsy, And Bacteriology For The Diagnosis Of Subclincial Endometritis In Grazing Dairy Cows. *Journal Dairy Science*, 97(1), pag. 195 - 201.

Maier, G., Breitenbuecher, J., Gomez, P., Samah, F., Fausak, E., & Van Noord. (2022). Vaccination For The Prevention Of Neonatal Calf Diarrhea In Cow-Calf Operations: A Scoping Review. *Vet. Anim. Sci.*, 15, 100238.

Maier, G., Rowe, J., Lehenbauer, T., Williams, & Aly, S. (2019). Development Of A Clinical Scoring System For Bovine Respiratory Disease In Weaned Dairy Calves. *Journal Of Dairy Science*, 102(8), pag. 7329-7344.

Mee, J. (2008). Newborn Dairy Calf Management. *Vet. Clin North Am Food Anim. Pract.*, 24(1), pag. 1-17.

Mekibib, B., Belachew, M., Asrade, B., & Abebe, R. (2023). Isolation, Identification, And Antibigram Profiles Of Bacteria From Dairy Cows With Postpartum Uterine Infection In Southern Ethiopia. *Bmc Microbiology*, 24(4), pag. 1-9.

Mohammed, S. A., Marouf, S. A., Erfana, A., El-Jake, J., Hessain, A. M., Dawoud, T., Moussa, I. (2019). Risk Factors Associated With E Coli Causing Neonatal Calf Diarrhea. *Saudi Journal Of Biological Science*, 26(5), pag. 1084 - 1088.

Montero, M., Vayas, L., Avilés, D., Pazmiño, P., & Erazo, V. (2018). Evaluación De Dos Métodos Para Medir La Sesibilidad De Inhibición De Crecimiento De La Cepa Certificada De *Staphylococcus aureus* Subs. *aureus*. *Revista De Investigaciones Veterinaria Del Perú*, 29(4), pag. 1543-1547.

Moreira, T. (2022). Caracterización Bibliográfica De *Escherichia coli* Asociada A Muerte De Terneros En Bovinos Lecheros. Tesis de pregrado. Universidad Técnica de Babayo.

Ngeleka, M., Godson, D., Vanier, G., Desmarais, G., Wojnarowicz, C., Sayi, S., Fairbrother, J. (2019). Frequency Of *Escherichia coli* Virotypes In Calf Diarrhea

And Intestinal Morphologic Changes Associated With These Virotypes Or Other Diarrheogenic Pathogec. *Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31(4), pag. 611-615.

Ogbulie, T., Anuforo, H., Akujobi, C., Nwachukwu, A., & Okika, W. (2017). Potential Exoelectrogenic Bacteria Species Isolated From Piggery Wastewater Used In Generation Of Bioelectricity And Wastewater Treatment. *Analele Universitatii Din Oradea, Fascicula Biologie*, 24(1), pag. 30-39.

Osman, R., Malmuthuge, N., Gonzalez-Cano, P., & Griebel, P. (2018). Development And Function Of The Mucosal Immune System In The Upper Respiratory Tract Of Neonatal Calves. *Annual Review Of Animal Biosciences*, 6, pag. 141-155.

Pardo, D., & Oliver, O. (2012). Identificación De Agentes Infecciosos Asociados Con Diarrea Neonatal Bovina En La Sabana De Bogotá. *Revista Mvz Córdoba*, 17(3), pag. 3162-3168.

Pedroza, Á. (2018). Manejo Técnico De Mastitis Y Calidad De Leche. Sitio Argentino De Producción Animal.

Playford, R., & Weiser, M. (2021). Bovine Colostrum: Its Constituents And Uses. *Nutrients*, 13(1), pag. 265.

Pringle, S., Palmer, K., & Mclean, R. (2017). Indole Production Provides Limited Benefit To *Escherichia coli* During Co-Culture With *Enterococcus faecalis*. *Archives Of Microbiology*, 199(1), pag. 145-153.

Ramírez, C., & Vélez, J. (2016). Aislamiento, Caracterización Y Selección De Bacterias Lácticas Autóctonas De Leche Y Queso Fresco Artesanal De Cabra. *Información Tecnológica*, 27(6).

Renaud, D., Kelton, D., Weese, J., Noble, C., & Duffield, T. (2019). Evaluation Of A Multispecies Probiotic As A Supportive Treatment For Diarrhea In Dairy Calves: A Randomized Clinical Trial. *Journal Of Dairy Science*, 102(5), pag. 4498-4505.

Román, C., & García, P. (2005). Arcanobacterium Haemolyticum. *Rev. Chil. Infect.*, 22(4), pag. 355.

Ruiz, R. A. (2018). Evaluación De Interleucinas Pro Y Antiinflamatorias En Mastitis De Cabras Infechadas Experimentalmente Con *Staphylococcus chromogenes*. Ciudad De México, México. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Autónoma de México.

Selim, A., Elhaig, M., Zakaria, I., & Ali, A. (2017). Bacteriological And Molecular Studies Of Clostridium Perfringens Infections In Newly Born Calves. *Tropical Animal Health And Production*, 49(1), pag. 201-205.

Singh, A., Ahuja, S., & Singh, B. (2019). Individual Variation In The Composition Of Colostrum And Absorption Of Colostral Antibodies By The Precolostral Buffalo Calf. *Journal Of Dairy Science*, 76(4), pag. 1148-1156.

Šlosárková, S., Pechová, A., Staněk, S., Fleischer, P., Zouharová, M., & Nejedlá, E. (2020). (Streeter Et Al., 1995; Pithua Et Al., 2011), And Salmomicrobial Contamination Of Harvested Colostrum On Czech Dairy Farms. *Journal Of Dairy Science*, 104(10), pag. 11047-11058.

Sosa, P., García, Y., & Fernández, L. (2018). Influencia De La Calidad Higiénico-Sanitaria Del Agua Sobre La Morbilidad Por Diarrea, En Recrias De Terneros, Como Problema Social. *Anuario Ciencia En La Unah*, 15(1), pag. 18.

Suárez-Mena, F., Heinrichs, A., Jones, C., Colina, T., & Quigley, J. (2016). Straw Particle Size In Calf Starters: Effects On Digestive System Development And Rumens Fermentation. *Journal Of Dairy Science*, 99(1), pag. 341-353.

Taylor, J., Rodenburd, M., & Snider, T. (2017). Comparison Of A Commercially Available Oral Nutritional Supplement And Intravenous Fluid Therapy For Dehydration In Dairy Calves. *Journal Dairy Science*, 100(6), pag. 4839-4846.

Terentjeva, M., Streikiša, M., Avsejenko, J., Trofimova, J., Kovajenko, K., Eiferts, D., & Berzins, A. (2018). Prevalence And Antimicrobial Resistance Of *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., And The Major Foodborne Pathogens In Calves In Latvia. *Foodborne Pathogens And Disease*, 16(1), pag. 1-7.

Tiranti, K., Vissio, C., & Larriestra, A. (2015). Patrón De Riesgo De La Incidencia De Diarrea Y Mortalidad En Terneros De Lechería En Córdoba, Argentina. *Avances En Ciencias Veterinarias*, 30(1), 1-9.

Toscano, F. D. (2019). Identificación De Marcadores De Células Madre Bovinas Mediante Inmunohistoquímica y/o Inmunofluorescencia En Tejidos De Glándula Mamaria Y Leche. Tesis de pregrado. Universidad ESPE.

Umpiérrez, A. (2016). Identificación Y Caracterización De *Escherichia coli* Asociada A La Diarrea Neonatal De Terneros En Uruguay. Tesis de postgrado. Universidad de la Republica (Uruguay).

Valle, K. (2022). Mastitis Y Calidad De La Leche En Vacas Lecheras. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Vargas, F., & Kuno, V. (2014). Morfología Bacteriana. *Revista De Actualización Clínica Investiga*, 49, pag. 2594.

Velasquez-Munoz, A., Meza-Correa, N., Rao, S., Manríquez, D., Román, N., & Pinedo, P. (2022). Effect Of A 2-Step Probiotic Program On Digestive Health And Performance Of Holstein Heifer Calves. *Journal Dairy Science*, 105(9), pag. 7642-7653.

Whon, T., Kim, H., Shin, N., Sung, H., Kim, M., Kim, J., Bae, J. (2021). Calf Diarrhea Caused By Prolonged Expansion Of Autochthonous Gut Enterobacteriaceae And Their Lytic Bacteriophages. *MSystems*, 6(2), pag. E00816-20.

Wills, F., Campbell, J., Parker, S., Waldner, C., & Uehlinger, F. (2020). Gastrointestinal Nematode Management In Western Canadian Cow-Calf Herds. *The Canadian Veterinary Journal*, 61(4), pag. 382-388.

Wilson, D., Habing, G., Winder, C., & Renaud, D. (2022). A Scoping Review Of Neonatal Calf Diarrhea Case Definitions. *Preventive Veterinary Medicine*, 211, pag. 105818.

Yadegari, Z., Nikbakht Brujeni, G., Gharbanpour, R., Moosakhani, F., & Lotfollahzadeh, S. (2019). Molecular Characterization Of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolated From Neonatal Calves Diarrhea. *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal*, 10(1), pag. 73-78.

Zenón, T. (2019). Cuantificación De Pérdidas Económicas A Causa De Diarreas Neonatales En Un Sistema De Cría Bovina En Confinamiento, Ubicado En La Provincia De Salta. Tesis De Pregrado. Universidad Del Salvador.

ANEXOS

Anexo 1. Lugar de la experimentación.

Laboratorio General de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente de la Universidad Estatal de Bolívar.



Anexo 2. Base de datos.

Antibiograma										
#	código	Bacteria	T1		T2		T3		T4	
1	ES-01	<i>Salmonella</i>	19	20	9	10	20	23	3	5
2	ES-02	<i>Salmonella</i>	18	19	8	5	17	17	4	5
3	ES-03	<i>Salmonella</i>	21	22	10	10	20	23	4	7
4	ES-04	<i>Salmonella</i>	23	22	11	11	25	20	3	4
5	ES-05	<i>Salmonella</i>	20	19	5	5	24	25	5	7
6	ES-06	<i>E. coli</i>	16	17	13	11	20	24	6	8
7	ES-07	<i>E. coli</i>	17	19	16	16	22	24	5	7
8	ES-08	<i>E. coli</i>	18	20	13	11	22	24	6	7
9	ES-09	<i>Corynebacterium</i>	24	24	8	8	25	27	10	11
10	ES-10	<i>Listeria</i>	24	23	12	8	21	25	8	8
11	ES-11	<i>Listeria</i>	17	17	10	9	20	23	9	6
12	ES-12	<i>Arcanobacterim</i>	18	21	0	0	18	20	3	4

Anexo 3. Fotografías de la investigación.

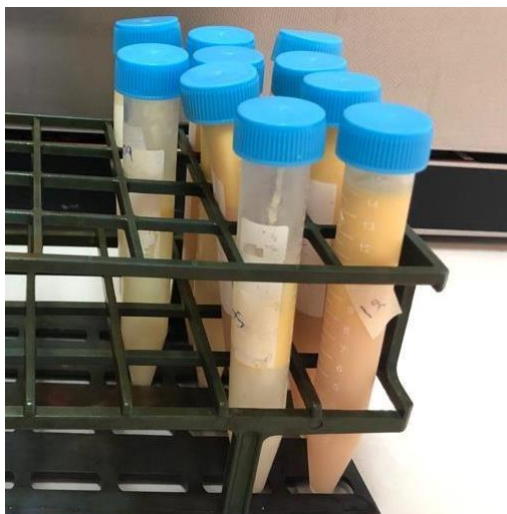


Foto 1: Muestras de calostro bovino procedentes del cantón San Miguel de la provincia Bolívar.



Foto 2: Preparación de medios de cultivo, nutritivos y diferencias (Agua peptonada, Agar MacConkey)

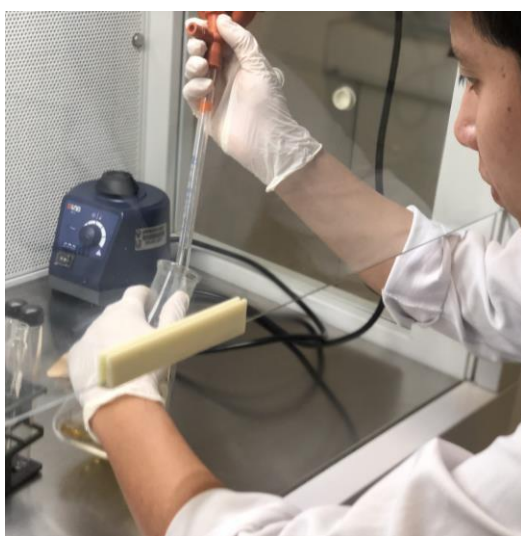


Foto 3: Colocación del medio de cultivo en tubos



Foto 4: Procesamiento de la muestra de calostro.

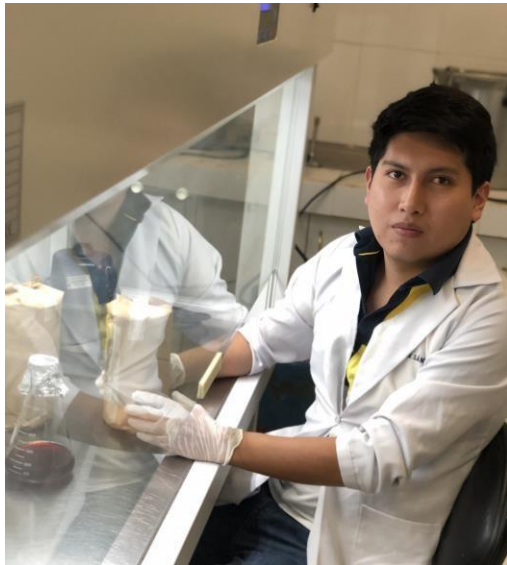


Foto 5: Preparación de medios de cultivos sólidos para el aislamiento de bacterias.



Foto 6: *Escherichia coli*, en agar MacConkey, aislamiento de un cultivo homogéneo.



Foto 7: Pruebas IMViC



Foto 8: Pruebas IMViC.



Foto 9: Resultado de la prueba IMViC

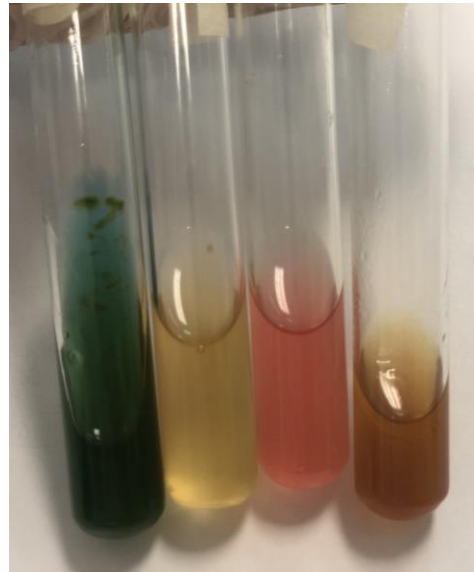


Foto 10: Resultado de IMViC

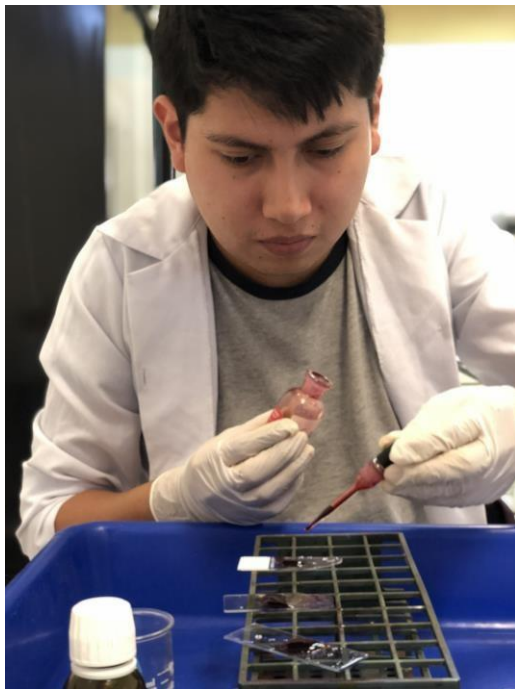


Foto 11: Realización de la tinción de Gram, en la identificación.



Foto 12: Placas teñidas de gram

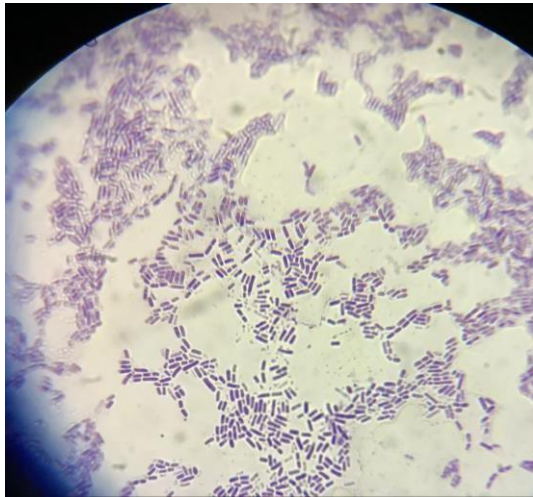


Foto 13: Bacilos Gram positivos, observados con el objetivo 100X

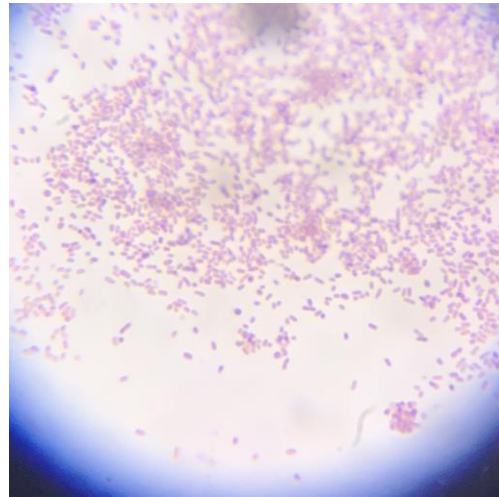


Foto 14: Bacilos Gram negativos, observados con el objetivo 100X



Foto 15: Inoculo bacteriano sometido de la actividad antimicrobiana por el método de difusión de disco.



Foto 16: Ajuste de la escala MacFarland 0.5, para la actividad antimicrobiana por el método de difusión de disco.

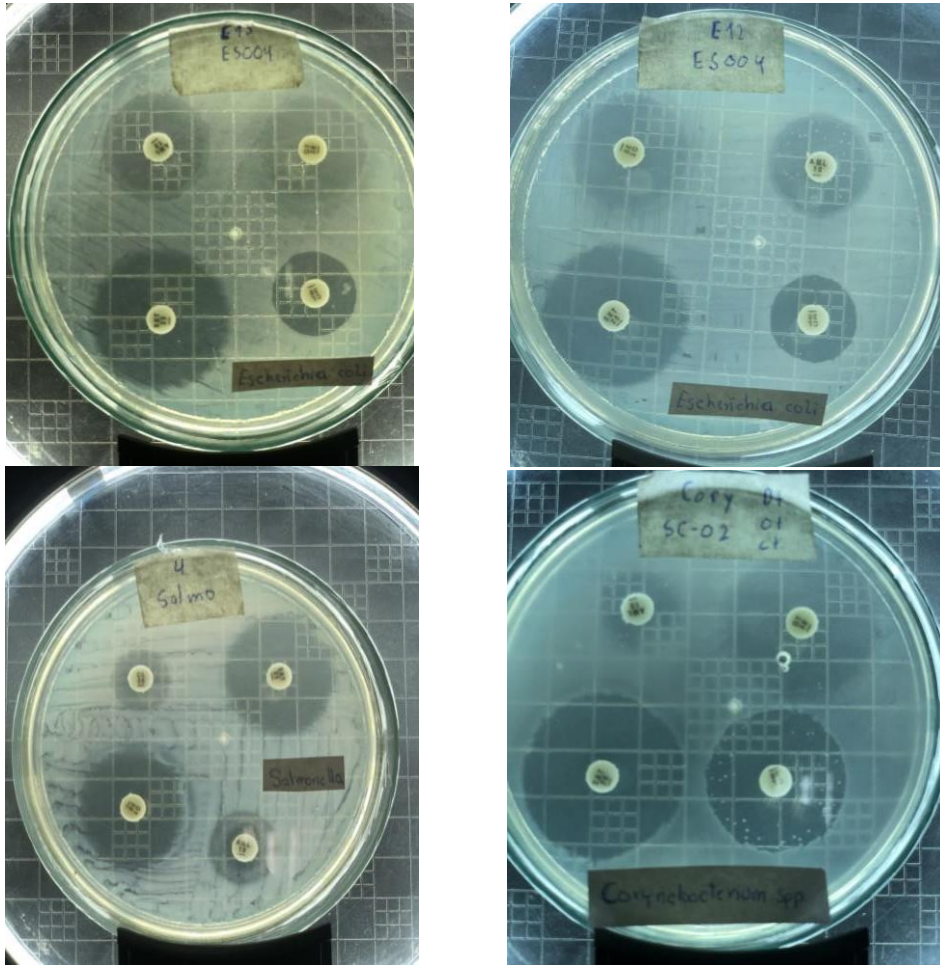


Foto 17: Resultados del antibiograma mediante el método de difusión de disco.

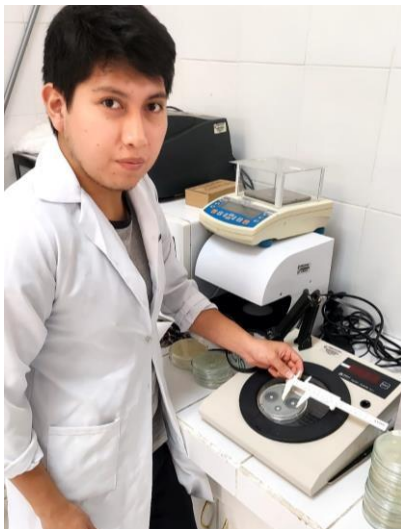


Foto 18: Medición de los halos de inhibición

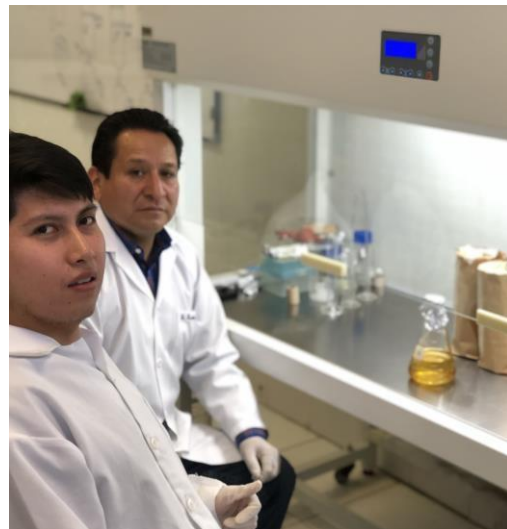


Foto 19: Asesoría técnica por parte del tutor de tesis

Anexo 4. Glosario de términos.

Absorción: Movimiento de sustancias hacia el interior de las células. Transferencia de energía desde las ondas electro-magnéticas a los enlaces químicos.

Anaerobio: Organismo que crece en tanto presencia o como en ausencia de oxígeno.

Antibiograma: El antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos. Las técnicas de antibiograma son las utilizadas en el laboratorio de microbiología para estudiar la actividad de los antimicrobianos frente a los microorganismos responsables de las infecciones.

Anticuerpo: Un anticuerpo, también llamado inmunoglobulina, es una proteína producida por el sistema inmunitario como respuesta a la detección de la presencia de una sustancia percibida como ajena al organismo. Esta sustancia, denominada antígeno, puede ser una bacteria, un parásito, o incluso una molécula, como las proteínas. Los anticuerpos reconocen a los antígenos y se enganchan a ellos a fin de expulsarlos del cuerpo humano. A cada anticuerpo le corresponde un antígeno.

Bacteria: Las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros (por lo general entre 0,5 y 5 μm de longitud) y diversas formas, incluyendo filamentos, esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios) y hélices (espirilos).

Bacteriocinas: Proteínas excretadas por unas bacterias que inhiben o matan a otras especies relacionadas.

Bacteriófago: Virus que infecta células procarióticas.

Bacteriorrodopsina: Proteína que contiene retinal, presente en la membrana de algunas arqueobacterias halófilas extremas.

Bacteriostático: Que inhibe el crecimiento y la multiplicación de las bacterias, sin matarlas.

Calostro: Sustancia que segregan las glándulas mamarias después del parto. Es la primera leche y dura entre 2 y 5 días. Es de color amarillo y ayuda a que el bebé tenga defensas.

Catalasa: Enzima que descompone el peróxido de hidrógeno liberando oxígeno.

Coliformes: Bacterias gram negativas facultativas que fermentan lactosa con producción de gas.

Colonia: Masa de microorganismos visible sobre un medio sólido, proveniente de una sola célula en la mayoría de los casos. / Conjunto de hifas, generalmente con esporas, que puede ser un solo individuo si proviene de una sola espora o célula.

Clostridium: Género que agrupa a bacterias típicamente gram positivas, bacilares, esporuladas y quimiorganotrofas, que habitan en el suelo, en el tracto intestinal humano y en el de otros animales. Los clostridios suelen poseer metabolismo fermentativo y, salvo raras excepciones, son anaerobios estrictos, catalasa-negativos y presentan movilidad mediada por flagelos peritricos.

Disbiosis: También denominada disbacteriosis, hace referencia a un desequilibrio en el número o tipo de colonias microbianas que han colonizado al hombre. Se da más en el tracto digestivo, pero puede producirse en cualquier parte en la que haya una superficie expuesta o una membrana mucosa. La disbiosis puede afectar a la digestión, absorción de nutrientes, producción de vitaminas y control de microorganismos dañinos.

Escherichia Coli: Es una especie bacteriana (familia de las Enterobacteraceae) que vive habitualmente en el intestino de humanos y animales.

Gram Negativa: Célula procariota cuya pared celular contiene relativamente poco péptidoglucano y tiene una membrana externa compuesta de lipopolisacáridos, lipoproteínas y otras macromoléculas complejas.

Gram Positiva: Célula procariota cuya pared celular consiste principalmente de péptidoglucano y no posee membrana externa. Aparece azul o violeta después de la tinción de Gram.