UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

Tema

DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL EN VACAS LECHERAS, COMO BIOMARCADOR SANGUÍNEO PARA MEDIR NIVEL DE ESTRÉS

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.

Autores

Martin Adrian Hidalgo Aguirre

Marlon Jardel Chuquirima Rodríguez

Tutor

Dr. Luis Xavier Salas Mujica. MSc.

Guaranda – Ecuador

2025

DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL EN VACAS LECHERAS, COMO BIOMARCADOR SANGUÍNEO PARA MEDIR NIVEL DE ESTRÉS

REVISADO Y APROBADO POR

Dr. Luis Xavier Salas Mujica. MSc.

TUTOR

Dra. Jenny Marcela Martínez Moreira. MSc.

PAR LECTOR

Dr. Jorge Jagger Segura Ochoa. PhD.

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, Martin Adrian Hidalgo Aguirre, con CI. 175037703-6, y Marlon Jardel Chuquirima Rodríguez, con CI. 160056776-0, declaramos 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.

Sr. Martin Adrian Hidalgo Aguirre
CI. 175037703-6
Autor

Sr. Marlon Jardel Chuquirima Rodríguez
CI. 160056776-0
Autor

Dr. Luis Xavier Salas Mujica MSc.
CI. 080123936-9
Tutor

NOTARIA PRIMERA DEL CANTON CHIMBO

DECLARACION JURAMENTADA

OTORGADO POR:

MARTIN ADRIAN HIDALGO AGUIRRE

MARLON JARDEL CHUQUIRIMA RODRIGUEZ

CUANTIA: INDETERMINADA

DI: 2 COPIAS

ESCRITURA Nº 20240203001P00703

En la ciudad de San José de Chimbo, cantón Chimbo, provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día JUEVES CATORCE (14) DE AGOSTO DEL AÑO DOS MIL VEINTICINCO, ante mí, Doctor GUSTAVO ANTONIO CHAVEZ CHIMBO, NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DE ESTE CANTON, comparece por sus propios derechos los señores: MARTIN ADRIAN HIDALGO AGUIRRE, soltero, con cédula de ciudadanía número uno siete cinco cero tres siete siete cero tres seis, domiciliado en el cantón Quito, provincia de Pichincha y de paso por este lugar; y, MARLON JARDEL CHUQUIRIMA RODRIGUEZ, soltero, con cédula de ciudadanía número uno seis cero cero cinco seis siete siete seis cero, domiciliado en el cantón Pastaza, provincia de Pastaza y de paso por este lugar. Los comparecientes son ecuatorianos, mayores de edad, legalmente capaces para obligarse y contratar, a quienes por haberme presentado sus cédulas de ciudadanía de conocerlos Doy Fe: Que instruidos de la naturaleza, objeto y resultados legales de este instrumento y de una forma libre y voluntaria manifiestan que tienen a bien otorgar la presente **DECLARACION JURAMENTADA**. Al efecto, juramentados que fue en legal y debida forma previa las explicaciones de la gravedad del juramento, de las penas de perjurio y de la obligación que tienen de decir la verdad exponen: Nosotros, Martin Adrián Hidalgo Aguirre, con cédula número uno siete cinco cero tres siete siete cero tres seis y Marlon Jardel Chuquirima Rodríguez, con cédula número uno seis cero cero cinco seis siete siete seis cero, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe titulado DETERMINACIÓN DE NIVELES DE CORTISOL EN VACAS LECHERAS, COMO BIOMARCADOR SANGUÍNEO PARA MEDIR NIVEL DE ESTRÉS, 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.- Leída que les fue esta su Declaración a los comparecientes, quienes se afirman y se ratifican en la misma; suscribiéndola libre y voluntariamente juntamente con el infrascrito Notario en unidad de acto. De todo lo cual Doy Fe.

MARTIN ADRIAN HIDALGO AGUIRRE
C.C. 1750377036

MARLON JARDEL CHUQUIRIMA RODRIGUEZ
C.C. 1600567760

DR. ANTONIO CHAVEZ CHIMBO. MSc.
NOTARIO PRIMERO DEL CANTÓN CHIMBO

DR. ANTONIO CHÁVEZ CHIMBO MSc.
NOTARIO PÚBLICO PRIMERO
Cantón Chimbo

MARTIN HIDALGO Y MARLON CHUQUI MARTIN HI...

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

My Files

My Files

Universidad Estatal de Bolivar

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::3117:483881483

Fecha de entrega
15 ago 2025, 8:51 p.m. GMT-5

Fecha de descarga
15 ago 2025, 9:06 p.m. GMT-5

Nombre de archivo
TESIS FINAL MARTIN HIDALGO & MARLON CHUQUIRIMA.pdf

Tamaño de archivo
2.0 MB

69 Páginas

14.951 Palabras

79.238 Caracteres

6% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 50 palabras)
- Trabajos entregados
- Base de datos de Crossref
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

6% Fuentes de Internet
0% Publicaciones
0% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



DEDICATORIA

Dedico este logro a todas las personas que han sido parte de mi crecimiento personal y profesional. A mi familia, que siempre ha estado a mi lado, brindándome su apoyo incondicional, amor y sabiduría. A mis padres, quienes con su ejemplo y dedicación me han enseñado el verdadero valor del esfuerzo y la perseverancia. A mis amigos, por su constante aliento, por hacerme sentir acompañado en los momentos difíciles. A mis profesores, por compartir sus conocimientos, que me han formado como el profesional que soy hoy.

A todas aquellas personas que, aunque no mencionadas, han tenido un impacto significativo en mi vida. Gracias a todos por ser parte de este viaje.

Martin Adrian Hidalgo Aguirre

A pocos pasos de culminar una etapa significativa de mi vida y al borde de comenzar mi camino profesional, dedico este logro a quienes han sido parte fundamental de este recorrido.

A Dios, por brindarme la fuerza y determinación necesarias para continuar en los momentos difíciles.

A mis padres, Rodrigo Chuquirima y Elsa Rodríguez, por su apoyo incondicional en cada aspecto de mi vida, tanto en lo moral como en lo ético y económico.

A mis amigos y personas especiales: Daniel, Mayerly, Joel, Thays, Daniela, Alex y Martin, por su compañía, ayuda y motivación constante, tanto en lo académico como en lo personal.

A mis familiares, por su constante aliento, por animarme a no rendirme y mantenerme en el camino correcto; A los docentes, por compartir generosamente sus conocimientos, dejando en mí una huella que ha contribuido a que me convierta no solo en un mejor médico veterinario, sino también en un mejor ser humano.

Marlon Jardel Chuquirima Rodríguez

AGRADECIMIENTO

Agradecemos profundamente a todas las personas que nos han acompañado y apoyado a lo largo de este proceso. A nuestras familias, por su amor incondicional, paciencia y por habernos brindado el respaldo necesario en cada paso de este camino.

A nuestros padres, quienes nos han guiado con sus enseñanzas y valores, mostrándonos la importancia del esfuerzo, la dedicación y la constancia.

A nuestros amigos, por su apoyo emocional, por ser un refugio en los momentos de estrés y por motivarnos a seguir adelante. A los docentes, por compartir su conocimiento, sabiduría y experiencia, contribuyendo significativamente a nuestra formación académica y profesional.

Y, por supuesto, a Dios, por darnos la fuerza, la determinación y la guía necesaria para superar los retos y alcanzar este importante logro.

Este trabajo es el reflejo de los esfuerzos y el apoyo de todos ustedes.

INDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO		PAG.
CAPÍTULO I		
1.1.	INTRODUCCIÓN	1
1.2.	PROBLEMA	3
1.3.	OBJETIVOS	4
1.4.	HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II		
2	MARCO TEÓRICO	6
2.1.	Cortisol	6
2.1.1.	Transporte de cortisol en la sangre	6
2.2.	Transporte del cortisol	6
2.2.1.	Ritmo circadiano y ritmo ultradiano del cortisol	7
2.3.	Efectos metabólicos	7
2.3.1.	Secreción de los glucocorticoides	8
2.4.	Glándulas Suprarrenales	8
2.4.1.	Fisiología de la CRH	9
2.4.2.	Fisiología de la ACTH	9
2.5.	Factores que producen estrés	10
2.6.	Fisiopatología del estrés	10
2.6.1.	Estrés en bovinos	11
2.6.2.	Medición del estrés	11
2.6.3.	Indicadores del estrés	12
2.6.4.	Sistema inmune glucocorticoides	12
2.6.5.	Bienestar en vacas lecheras	12
2.7.	Ordeño	13
2.7.1.	Ordeño manual	13
2.7.2.	Ventajas y desventajas del ordeño manual	14
2.7.3.	Ordeño mecánico	14
2.7.4.	Funcionamiento del sistema del ordeño mecánico	14
2.7.5.	Ventajas y desventajas del ordeño mecánico	15
2.7.6.	Medidas de higiene y sanitarias	15
2.8.	Técnicas para determinar el cortisol	15
2.8.1.	Técnica de ELISA	15
2.8.2.	ELISA tipo sándwich	16
2.8.3.	ELISA indirecto	16
2.8.4.	Principios ELISA cuantitativo	17
2.9.	Factores clave en el desarrollo de ELISA	17
2.9.1.	Adsorción	17
2.9.2.	Unión y lavados	18
2.9.3.	Tiempos de incubación y temperaturas	18
2.9.4.	Enzimas y sustratos	18
2.9.5.	Anticuerpos y antígenos empleados	19
2.9.6.	Detectores	19
2.10.	Condición Corporal del ganado lechero	19
2.10.1.	Técnica para evaluar la Condición Corporal	20
2.10.2.	Procedimiento	21
2.11.	Constantes Fisiológicas	21
CAPÍTULO III		
3	MARCO METODOLÓGICO	26
3.1.	Ubicación y características de la investigación	26

3.2. Metodología 26
3.2.1. Material en estudio 26
3.2.2. Factor en estudio 27
3.2.3. Tratamientos 27
3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico 27
3.2.5. Manejo de la investigación 27
3.2.6. Método de evaluación *(variable repuestas)* 29
3.2.7. Análisis de datos 30
CAPÍTULO IV
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 31
4.1 Interpretación de resultados 31
4.1.1. Raza *(R)* 31
4.1.2. Edad *(E)* 32
4.1.3. Condición Corporal *(C/C)* 33
4.1.4. Constantes Fisiológicas *(C/F)* 34
4.1.5. Concentración Plasmática de Cortisol *(CPC)* 36
4.1.6. Análisis Económico *(A/E)* 37
4.2. Comprobación de la hipótesis 38
CAPÍTULO V
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 39
5.1. Conclusiones 39
5.2. Recomendaciones 40
BIBLIOGRAFÍA
ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS
DETALLES

No		Pág.
1.	Variable Raza	31
2	Variable Edad	32
3.	Variable Condición Corporal	33
4.	Variable Constantes Fisiológicas	34
5.	Variable Concentración Plasmática de Cortisol	36
6.	Variable Análisis Económico	37

ÍNDICE DE FIGURAS
DETALLES

No		Pág.
1.	Escala de referencia	20
2.	Área de evaluación del animal	21
3.	Variable Raza	31
4.	Variable Edad	32
5.	Variable Condición Corporal	34
6.	Variable Constantes Fisiológicas	35
7.	Variable Concentración Plasmática de Cortisol	36
8.	Variable Análisis Económico	37

ÍNDICE DE ANEXOS

DETALLES

No

1. Mapa de ubicación de la Investigación
2. Resultados de análisis
3. Base de datos
4. Fotografías
5. Glosario de términos técnicos

RESUMEN

En la comunidad Francisco de Orellana del cantón Puyo, provincia de Pastaza a 950 msnm; se determinó los niveles de cortisol en vacas lecheras como biomarcador sanguíneo para medir los niveles de estrés; Se aplicó un modelo estadístico analítico descriptivo en 40 vacas en producción, distribuidos en cuatro unidades productivas; Se calculó porcentajes, medias, frecuencia y gráfico; Los objetivos planteados fueron: 1) Diagnosticar el nivel de cortisol sanguíneo mediante el método ELISA cuantitativo. 2) Identificar el manejo del ganado lechero durante el ordeño. y 3) Determinar el análisis económico de la producción de leche; Las variables repuestas y resultados fueron: Raza *(R):* 90% Holstein, Finca Faconda; Edad *(E):* 80% 1-2 años, Finca Paul Carrillo, Finca Sta. Marianita y Finca Bella Vista; Condición Corporal *(C/C):* 70% 3/5 Magra, Finca Paul Carrillo; Constantes Fisiológicas *(C/F):*40% *39.1°C- 68 lpm -31 rpm* y 50% *38.8°C- 69 lpm -32 rpm* Finca Bella Vista, 50% *38.5°C- 68 lpm -29 rpm*, Finca Paul Carrillo y 40% *38.1°C- 70 lpm -26 rpm* Finca Sta. Marianita; Concentración Plasmática de Cortisol *(CPC):*20% *6.19 µg/dl,* Finca Bella Vista, 60% *5.47 µg/dl* Finca Faconda y 70% *4.59 µg/dl* Finca Paul Carrillo y Finca Sta, Marianita Análisis económico *(AE):* litro/leche/día 117 Finca Sta. Marianita $ 46.80 USD, costo total $ 138.10 USD, De acuerdo con los resultados estadísticos obtenidos se comprobó la hipótesis nula; Finalmente, la medición de biomarcadores fisiológicos como el cortisol es una herramienta valiosa, una comprensión y evaluación exhaustivas del bienestar animal deben integrar aspectos conductuales, ambientales y de manejo.

Palabras claves

Cortisol – Bienestar animal - Estrés

SUMMARY

In the Francisco de Orellana community of the Puyo canton, Pastaza province at 950 meters above sea level; cortisol levels were determined in dairy cows as a blood biomarker to measure stress levels; A descriptive analytical statistical model was applied to 40 cows in production, distributed in four productive units; Percentages, means, frequencies and graphs were calculated; The objectives were: 1) Diagnose blood cortisol levels using the quantitative ELISA method. 2) Identify the management of dairy cattle during milking. and 3) Determine the economic analysis of milk production; The responded variables and results were: Breed *(R):* 90% Holstein, Faconda Farm; Age *(E):* 80% 1-2 years, Paul Carrillo Farm, Sta. Marianita Farm and Bella Vista Farm; Body Condition *(B/C):* 70% 3/5 Lean, Paul Carrillo Farm; Physiological Constants *(C/F):*40% *39.1°C- 68 lpm -31 rpm* and 50% *38.8°C- 69 lpm -32 rpm* Finca Bella Vista, 50% *38.5°C- 68 lpm -29 rpm,* Finca Paul Carrillo and 40% *38.1°C- 70 lpm -26 rpm* Finca Sta. Marianita; Plasma Cortisol Concentration *(PCC):* 20% *6.19 µg/dl,* Bella Vista Farm, 60% *5.47 µg/dl,* Faconda Farm, and 70% *4.59 µg/dl,* Paul Carrillo Farm and Sta. Marianita Farm. Economic Analysis *(EA):* $\bar{x}$ liter/milk/day 117 Sta. Marianita Farm $46.80 USD, total cost $138.10 USD. According to the statistical results obtained, the null hypothesis was confirmed. Finally, the measurement of physiological biomarkers such as cortisol is a valuable tool; a thorough understanding and assessment of animal welfare must integrate behavioral, environmental, and management aspects.

Keywords

Cortisol – Animal welfare – Stress

CAPÍTULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

La rentabilidad en la producción lechera se basa en la cantidad de litros de leche producida y de su calidad en términos de grasa y proteínas; Todo lo que afecte la salud del animal afectará su bienestar y directa o indirectamente a la producción.

Los sistemas de producción de ganado lechero se definen como todo sistema comercial de producción de ganado cuyo propósito incluye la crianza, la reproducción y la gestión del ganado con vistas a la producción de leche.

El bienestar animal en la industria lechera es fundamental no solo por consideraciones éticas, sino también por su impacto directo en la salud, la productividad y la sostenibilidad económica de las explotaciones ganaderas; comprender y mitigar el estrés en las vacas lecheras es, por tanto, una prioridad.

El estrés se conceptualiza como una serie coreografiada de reacciones biológicas, reguladas por procesos neuroendocrinos y endocrinos, el animal experimenta amenaza real, con el objetivo de preservar la vida y mantener la homeostasis.

Sin embargo, la exposición prolongada o repetida a altas concentraciones de cortisol, indicativa de estrés, puede acarrear problemas fisiológicos y psicológicos graves. Estos incluyen un catabolismo proteico excesivo, hiperglucemia sostenida y una profunda inmunosupresión, que puede manifestarse como depresión en los animales. En el ganado lechero, los niveles de cortisol elevados se asocian con efectos adversos significativos en la productividad y la salud, como tasas de reproducción reducidas, producción de leche suprimida, crecimiento subóptimo y un sistema inmunitario comprometido, lo que aumenta la susceptibilidad a diversas patologías.

La prueba ELISA *(Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas)* para cortisol en bovinos de leche es una herramienta útil para evaluar el estrés en vacas lecheras, midiendo la concentración de cortisol, una hormona esteroide liberada en respuesta al estrés. Esta prueba permite monitorear el bienestar animal y la respuesta fisiológica al estrés en condiciones de producción.

Con estas referencias, lo expuesto se aprecia la escala de esta investigación considerada como una alteración de la respuesta fisiológica del organismo ante alguna situación adversa o amenazante de gran impacto económico e incitar las áreas de producción y de salud pública. Teniendo en cuenta la importancia, consideramos pertinente y muy necesario determinar los niveles de cortisol en vacas lecheras, como biomarcador sanguíneo para medir nivel de estrés, con el fin de proporcionar datos relevados, despejar incógnitas, suministrar información actualizada y proponer alternativas posibles de solución.

1.2. PROBLEMA

La ganadería de leche en la actualidad se ha convertido en una de las actividades pecuarias de mayor relevancia tanto económica como social por la influencia de los sujetos que intervienen en ella y su íntima relación con la soberanía alimentaria y la salud humana, entregar los conocimientos necesarios con el propósito de reconocer e interpretar trastornos.

En el cantón Pastaza, las ganaderías lecheras no aplican métodos de manejo productivo y reproductivo que afectan al comportamiento y a los niveles de estrés de los animales, de aquí que el análisis de los datos obtenidos.

Los sistemas intensivos de producción lechera actualmente están diseñados para obtener altos niveles productivos y facilitar el manejo de los animales; Existe una variedad de parámetros de comportamiento, fisiológicos, bioquímicos, inmunológicos y patológicos que han sido presentados para evaluar la capacidad de respuesta de los animales ante el estrés.

El estrés en el ganado bovino lechero, medido a través de biomarcadores como el cortisol, puede tener una serie de impactos negativos significativos en su fisiología.

El cortisol, hormona glucocorticoide sintetizada en la corteza suprarrenal, es un efector central y ampliamente reconocido del eje hipotalámico-pituitario-adrenal *(HPA)*, el sistema principal de respuesta al estrés del cuerpo. Su liberación es una respuesta fisiológica directa al estrés. Se considera uno de los biomarcadores más fiables y frecuentemente utilizados para evaluar los niveles de estrés en el ganado vacuno.

1.3. OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar los niveles de cortisol en vacas lecheras, como biomarcador sanguíneo para medir el nivel de estrés.

Objetivos específicos

- Diagnosticar el nivel de cortisol sanguíneo mediante el método ELISA cuantitativo.
- Identificar el manejo del ganado lechero durante el ordeño.
- Determinar el análisis económico de la producción de leche.

1.4. HIPÓTESIS

H0. La determinación de los niveles de cortisol en vacas lecheras como biomarcador sanguíneo no tendrá una relación significativa con la productividad de leche de los animales.

H1. La determinación de los niveles de cortisol en vacas lecheras como biomarcador sanguíneo tendrá una relación significativa con la productividad de leche de los animales.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Cortisol

El cortisol es el glucocorticoide más importante secretado en respuesta a la ACTH, producida por la hipófisis, desde la zona fasciculada y reticular de la corteza adrenal. Sus valores sanguíneos son ampliamente reconocidos como biomarcadores del estrés agudo, a pesar de su variabilidad y corta vida. El aumento de su concentración plasmática solo sería un indicador neuroendocrino primario. El cortisol se sintetiza a partir del colesterol a través de una serie de pasos mediados enzimáticamente por la corteza suprarrenal (Romero, 2021).

2.1.1. Transporte de cortisol en la sangre

Las glándulas adrenales secretan cortisol, que se transporta la sangre principalmente unido a la globulina que une corticosteroides *(CBG)* y, en menor medida, a la albúmina. Aproximadamente el 80 % se une a la CBG, el 10 % a la albúmina y el 10 % permanece libre, siendo esta fracción la biológicamente activa. La CBG presenta alta afinidad, pero baja capacidad de unión; cuando la saturación se alcanza *(400–500 nmol/l),* el cortisol libre o débilmente unido a albúmina aumenta. Estas proteínas no solo protegen el cortisol de la excreción renal y la inactivación hepática, sino que además regulan su solubilidad y disponibilidad para los tejidos. La vida media del cortisol en plasma es de aproximadamente 60–90 minutos, como lo confirman modelos de disposición estudiados en diversas especies. Su metabolismo es irreversible en el hígado, donde se convierte en metabolitos excretables (Dorín & Qualls, 2024).

2.2. Transporte del cortisol

El cortisol producido endógenamente se transporta en la sangre principalmente unido a proteínas plasmáticas: aproximadamente el 80 % se une a la globulina ligante de corticosteroides *(CBG o transcortina),* un 10 % se asocia a la albúmina y el restante 10 % permanece en forma libre, siendo esta última la fracción

biológicamente activa. La CBG actúa como una proteína de reserva, regulando la disponibilidad del cortisol hacia los tejidos, mientras que la fracción libre determina su actividad fisiológica inmediata. Este equilibrio entre cortisol libre y unido es esencial para mantener la homeostasis del eje hipotálamo–hipófisis–adrenal. La vida media del cortisol en plasma es de aproximadamente 60 a 90 minutos, y su metabolismo ocurre principalmente en el hígado, con eliminación predominante por la orina (75 %) y en menor proporción por las heces (25%) (Breuner et al., 2021).

2.2.1. Ritmo circadiano y ritmo ultradiano del cortisol

El cortisol en bovinos presenta tanto un ritmo ultradiano, con fluctuaciones cada aproximadamente 120 minutos, como un ritmo circadiano, con niveles más bajos durante la noche y un pico alrededor de las 6:00 a.m. Estas oscilaciones afectan las concentraciones plasmáticas, que normalmente se encuentran entre 4 y 16 μg/dl. Por ello, el horario de muestreo es un aspecto clave al interpretar clínicamente los niveles de cortisol (Larry, 2022).

2.3. Efectos metabólicos

Los glucocorticoides estimulan la gluconeogénesis hepática y la glucogenólisis, lo que provoca hiperglicemia al aumentar la disponibilidad de glucosa mientras inhiben su captación en músculo y tejido adiposo. Paralelamente, promueven la proteólisis muscular —liberando aminoácidos para la producción de glucosa— y suprimen la síntesis proteica en tejidos periféricos. En el tejido adiposo, los glucocorticoides inducen lipólisis de forma aguda, aunque su acción crónica favorece la redistribución de grasa, estimulando su acumulación en la región abdominal y torácica. Además, retienen sodio, aumentan la excreción de potasio, y elevan la pérdida de calcio renal, lo que contribuye a la pérdida de masa ósea, polidipsia y poliuria. La acción inmunosupresora y antiinflamatoria se acompaña también de una disminución en la síntesis de ADN y en la mitosis celular. En conjunto, estos efectos confirman que una exposición prolongada a glucocorticoides puede desencadenar resistencia a la insulina, pérdida muscular, acumulación de grasa central y osteoporosis (Li & Cummins, 2022).

2.3.1. Secreción de los glucocorticoides

La secreción de glucocorticoides inicia cuando el hipotálamo libera la hormona liberadora de corticotropina *(CRH),* que estimula la hipófisis anterior para producir ACTH. Esta hormona actúa sobre los receptores de la corteza suprarrenal, especialmente en la zona fasciculada, promoviendo la síntesis y liberación de cortisol. El cortisol, a su vez, regula este proceso mediante retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis. Factores como el estrés, la temperatura corporal o lesiones activan este eje neuroendocrino, asegurando una respuesta adaptativa eficiente (Chrousos, 2023).

2.4. Glándulas Suprarrenales

Las glándulas suprarrenales, localizadas en los polos superiores de los riñones, están compuestas por dos regiones con diferente origen embrionario: la corteza, derivada del mesodermo, y la médula, de origen ectodérmico. La corteza secreta hormonas esteroides como glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos, mientras que la médula produce catecolaminas *(adrenalina y noradrenalina).* A pesar de sus diferencias estructurales y funcionales, ambas regiones están estrechamente conectadas mediante una red microvascular que permite la comunicación hormonal directa. Estudios recientes han confirmado esta interacción funcional, destacando que las catecolaminas pueden modular el flujo sanguíneo cortical y, a su vez, los esteroides corticales influyen en la actividad medular (Goldstein & Kopin, 2023).

La corteza adrenal se divide en tres zonas que producen diferentes esteroides:

- Zona glomerular: Produce mineralocorticoides, como la corticosterona y la desoxicorticosterona.
- Zona fascicular: Secreta glucocorticoides, como el cortisol, cortisona y corticosterona.
- Zona reticular: Produce esteroides sexuales, como andrógenos, estrógenos y progesterona.

La glándula suprarrenal está recubierta por una cápsula fibrosa que la protege y delimita. En su estructura interna, la médula se localiza en la porción central, mientras que la corteza ocupa la región periférica, envolviendo completamente a la médula. La corteza representa aproximadamente entre el 80 % y el 90 % del volumen total de la glándula, lo que refleja su papel predominante en la síntesis de hormonas esteroides esenciales para el equilibrio hidroelectrolítico, el metabolismo y la respuesta al estrés (Goldstein & Kopin, 2023).

2.4.1. Fisiología de la CRH

La CRH *(hormona liberadora de corticotropina)* es un neuropéptido de 41 aminoácidos sintetizado en el núcleo paraventricular del hipotálamo, cuya principal función es estimular la secreción de ACTH por parte de la adenohipófisis. Esta hormona, a su vez, activa la producción de cortisol en la corteza suprarrenal. El sistema opera bajo un mecanismo de retroalimentación negativa, donde los glucocorticoides, ya sean endógenos o administrados externamente, inhiben tanto la liberación de CRH como de ACTH. Además, otros factores como la vasopresina *(ADH)*, la hormona liberadora de tirotropina *(TRH)* y la serotonina también pueden intervenir en la modulación de la ACTH, aunque con menor potencia que la CRH (Kageyama, 2023).

2.4.2. Fisiología de la ACTH

La hormona adrenocorticotrópica *(ACTH)* desempeña un papel clave en la activación del eje HPA, estimulando directamente la secreción de cortisol desde la corteza suprarrenal. Su administración puede provocar aumentos rápidos y marcados de cortisol en sangre, como se ha observado en equinos, donde la respuesta al ejercicio activa significativamente esta vía hormonal. Variaciones en la magnitud de la respuesta pueden reflejar estados de hiperfunción o hipofunción suprarrenal. Además, el patrón circadiano de la ACTH, al igual que el del cortisol, es influenciado por la especie y el tipo de estímulo recibido (Weissenböck et al., 2024).

2.5. Factores que producen estrés

El estrés en vacas lecheras es un proceso complejo originado por múltiples factores que comprometen su bienestar. Entre ellos, el manejo inadecuado, como el trato brusco, la falta de interacción social y el confinamiento en espacios reducidos, es una causa principal. La alimentación insuficiente o desequilibrada puede inducir estrés físico, afectando la salud y la producción. Cambios abruptos en la rutina, como la incorporación de nuevos individuos o modificaciones en el ambiente, generan incertidumbre y ansiedad. Condiciones ambientales adversas, como temperaturas extremas, alta humedad, mala ventilación y ausencia de sombra, contribuyen al estrés térmico. Prácticas rutinarias como el ordeño frecuente o el uso de equipos inapropiados también pueden provocar ansiedad, al igual que la exposición a ruidos fuertes o animales agresivos. La interacción de estos factores impacta negativamente la productividad y el bienestar animal, destacando la necesidad de un manejo cuidadoso para su prevención (Gómez & Salazar, 2022).

2.6. Fisiopatología del estrés

El estrés en vacas lecheras desencadena una respuesta neuroendocrina coordinada que involucra principalmente la activación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenocortical *(HPA).* Ante un estímulo estresante, el hipotálamo libera hormona liberadora de corticotropina *(CRH),* que estimula a la hipófisis anterior para secretar hormona adrenocorticotropa *(ACTH).* Esta última actúa sobre la corteza suprarrenal, induciendo la liberación de cortisol, la principal hormona glucocorticoide involucrada en la respuesta al estrés. El cortisol promueve efectos fisiológicos que permiten a la vaca enfrentar el estrés, como la movilización de glucosa para energía rápida, supresión de funciones no esenciales, y modulación del sistema inmunológico. Además, la activación de la médula suprarrenal libera catecolaminas *(adrenalina y noradrenalina),* que aumentan la frecuencia cardíaca y la presión arterial para preparar al organismo para una respuesta rápida. Este complejo mecanismo hormonal es fundamental para la adaptación, el estrés es crónico, puede conducir a disfunciones metabólicas, inmunosupresión y reducción en la producción lechera (Rodríguez et al., 2023).

2.6.1. Estrés en bovinos

La medición de cortisol en sangre es un método ampliamente utilizado para evaluar el estrés y la percepción del dolor en bovinos. Aunque no cuantifica directamente la intensidad del dolor, los niveles de cortisol reflejan la magnitud de los estímulos estresantes a los que están expuestos los animales. El aumento de cortisol cumple una función adaptativa, facilitando la movilización de reservas energéticas y modulando la respuesta inflamatoria en caso de daño tisular. Sin embargo, niveles elevados y prolongados de cortisol pueden tener efectos negativos, como la reducción del crecimiento, disminución en la producción de leche, supresión del sistema inmunológico y atrofia de tejidos, comprometiendo el bienestar y productividad del hato (Morrow, 2022).

La respuesta de los glucocorticoides al estrés es rápida, con concentraciones de cortisol que aumentan en minutos, alcanzando valores mucho más altos que los normales y siendo proporcionales a la intensidad del estrés. En los manejos de animales de granja, se observa un aumento en las concentraciones sanguíneas de cortisol a medida que el nivel de estrés se incrementa. En casos de laminitis crónica en vacas, se ha registrado que los niveles de cortisol son significativamente mayores en comparación con vacas sanas (Belge, 2022).

2.6.2. Medición del estrés

El estrés agudo en bovinos durante procedimientos de manejo se puede evaluar mediante indicadores fisiológicos y conductuales. Respuestas conductuales destacan la vocalización, movimientos bruscos y resistencia física, indicadores fisiológicos incluyen niveles de cortisol, frecuencia cardíaca y beta-endorfina. El cortisol, requiere un lapso de 10 a 20 minutos para alcanzar su pico tras un estímulo estresante, la temporalidad de la medición permite su interpretación. Niveles elevados de cortisol, superiores a 70 ng/ml, generalmente reflejan manejo rudo o situaciones de alto estrés, valores cercanos indican procedimientos más rápidos y menos agresivos. Estudios han evidenciado diferencias según el sexo y la madurez sexual, observándose niveles bajos en toros maduros comparados con hembras y novillos. Estas mediciones permiten adaptar las prácticas de manejo para minimizar el estrés y mejorar el bienestar animal (González & Vega, 2023).

2.6.3. Indicadores de estrés

El estrés en bovinos puede ser evaluado a través de biomarcadores sanguíneos y parámetros fisiológicos. Entre los más utilizados se encuentran el cortisol, las catecolaminas, la glucosa y el lactato, que reflejan respuestas del eje HHA y el metabolismo energético ante estímulos estresantes. Para una valoración más completa, estos indicadores suelen combinarse con variables como la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, la temperatura corporal y la relación neutrófilos/linfocitos. Esta integración permite una interpretación más precisa del estado fisiológico y emocional del animal frente al estrés (Rivera et al., 2021).

2.6.4. Sistema inmune glucocorticoides

Los glucocorticoides cumplen un papel crucial en la regulación de la glucosa al aumentar su disponibilidad en el cuerpo. Esto lo logran mediante la destrucción de proteínas, glucógeno y grasa, facilitando la gluconeogénesis, y suprimiendo el uso de glucosa en tejidos periféricos. Además, tienen un efecto inmunosupresor, ya que inhiben la producción de casi todas las citoquinas y alteran el crecimiento y la diferenciación de las células del sistema inmune (Lay, 2021).

2.6.5. Bienestar en vacas lecheras

La lista de problemas innatos en los sistemas de producción incluye un elemento importante que no se encuentra contemplado en las cinco libertades del bienestar animal: el cansancio, ya que los animales deben seguir produciendo incluso cuando están físicamente agotados. Entre estos problemas se destacan alteraciones en el apetito o la aparición de enfermedades metabólicas agudas, incomodidad crónica debida a malas condiciones de alojamiento *(como camas inadecuadas)* o pérdida de condición corporal, un aumento de enfermedades por sobreexposición a patógenos o inmunosupresión, ansiedad crónica, frustración, establos o pesebreras inapropiadas, y cansancio metabólico y/o físico debido a producciones prolongadas y excesivas. Asimismo, el dolor crónico o la restricción del movimiento, como resultado de alteraciones físicas o funcionales, también son comunes. Un ejemplo de esto son las enfermedades podales en vacas lecheras (Webster, 2021).

El término estrés fue introducido por Hans Selye en 1935, quien identificó los estímulos que podían provocarlo, como la activación del Eje Hipotalámico-Hipofisiario-Adrenal *(HHA).* Selye definió el estrés como "la acción de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endocrino, circulatorio y digestivo de un animal, produciendo cambios medibles en los niveles funcionales de estos sistemas" (Lay, 2021).

2.7. Ordeño

Se llama ordeño a la operación mediante la cual se extrae en condiciones higiénicas la totalidad de la leche de la ubre. Puede efectuarse a mano o a máquina, pero en todo caso ha de cumplir los siguientes requisitos fundamentales:

- Conseguir un producto irreprochable desde el punto de vista higiénico.
- Obtener la totalidad de leche existente en la ubre.
- No dañar los pezones del animal.

El ordeño debe efectuarse con las manos secas. Si se hace con las manos húmedas, especialmente cuando se utiliza la misma leche para mojarse las mismas, es una práctica insalubre, ya que no solamente agrega suciedad, sino un gran número de bacterias.

Las manos deben ser lavadas cuidadosamente al momento de iniciar el ordeño y después de cada interrupción en el proceso del mismo.

El empleo de ropa limpia durante el ordeño no sólo ayuda a mantener la leche limpia, sino que da al ordeñador una mejor apreciación del cuidado que requiere su trabajo. La práctica de mantener un overol limpio para ser usado solamente para el proceso de ordeño es buena (Del Amo, 2021).

2.7.1. Ordeño manual

El ordeño se realiza manualmente, extrayendo la leche de la vaca mediante la presión cíclica sobre sus pezones. Es fundamental lavarse las manos con agua y jabón para evitar la contaminación. Además, se recomienda realizar el "despunte",

que consiste en descartar los primeros chorros de leche por pezón, lo que ayuda a detectar mastitis y estimula el reflejo de bajada de leche (Toledo, 2020).

2.7.2. Ventajas y desventajas del ordeño manual

El ordeño manual sigue siendo una práctica común en pequeñas explotaciones lecheras, principalmente por su bajo costo y la facilidad para evaluar el estado de la ubre y la calidad de la leche en cada animal. Esta técnica permite una relación más directa entre el productor y el ganado, favoreciendo la detección temprana de posibles problemas de salud. No obstante, implica una mayor inversión de tiempo, depende de la destreza del ordeñador y puede generar fatiga física, lo que afecta la eficiencia y la constancia del proceso, especialmente en sistemas con mayor número de animales (Sánchez et al., 2022).

2.7.3. Ordeño mecánico

El ordeño mecánico es un sistema automatizado que utiliza presión negativa generada por una bomba de vacío para extraer la leche de manera eficiente y constante, imitando el patrón de succión natural del ternero. Este proceso mejora la velocidad del ordeño y reduce la carga física del personal. Sin embargo, su eficacia depende de un mantenimiento técnico adecuado y de rutinas higiénicas estrictas, como la limpieza de pezones antes y después del ordeño, para prevenir infecciones como la mastitis y asegurar leche de alta calidad (Muñoz et al., 2023).

2.7.4. Funcionamiento del sistema del ordeño mecánico

El ordeño mecánico emplea un sistema automatizado que simula el ritmo natural de succión mediante ciclos alternos de vacío y alivio. Este sistema se compone de una bomba de vacío central, tuberías sanitarias, colectores y unidades de ordeño con pezoneras que se ajustan anatómicamente a la ubre. El vacío intermitente genera una presión controlada que extrae la leche sin causar trauma, mientras que la fase de reposo permite la recuperación del tejido mamario. Este funcionamiento cíclico no solo asegura un ordeño eficiente y rápido, sino que también protege la salud de la glándula mamaria, siempre que se mantenga una limpieza y calibración adecuada del equipo (Muñoz et al., 2023).

2.7.5. Ventajas y desventajas del ordeño mecánico

El ordeño mecánico permite optimizar el tiempo y la calidad del proceso lechero, reduciendo la carga física del ordeñador y el riesgo de contaminación, gracias al menor contacto directo con la leche. Además, asegura una extracción uniforme que favorece la salud de la ubre y la estabilidad en la producción. No obstante, este sistema requiere una inversión económica considerable, así como un mantenimiento técnico constante. Si no se ajusta correctamente, puede generar sobreordeño o lesiones en el pezón, afectando la calidad de la leche y el bienestar animal (Muñoz et al., 2023).

2.7.6. Medidas de higiene y sanitarias

La aplicación de prácticas higiénicas durante el ordeño es fundamental para prevenir infecciones intramamarias y asegurar la calidad microbiológica de la leche. Esto incluye la limpieza rigurosa de la ubre antes del ordeño, el lavado de manos del operario y la desinfección de los equipos utilizados. Prácticas como el uso de selladores postordeño y baños desinfectantes de pezones ayudan a reducir la carga bacteriana y prevenir enfermedades como la mastitis. La correcta aplicación de estas medidas no solo mejora la calidad del producto final, sino que también prolonga la vida útil del ganado lechero (Salazar et al., 2022).

2.8. Técnicas para determinar el cortisol

Hay diferentes opciones para medir los niveles de cortisol tales como: radioinmunoanálisis *(RIA)*, enzimoinmunoanálisis *(ELISA)*, electroquimioluminiscencia *(ECQLIA)*, automatizado y cromatografía líquida/espectrmetría de nada en tándem *(LC/TMS)* (Maidana, 2023).

2.8.1. Técnica de Elisa

Esta técnica está relacionada con las enzimas utilizadas como marcadores para cuantificar la formación de complejos antígeno-anticuerpo. Para realizar estas pruebas, se han desarrollado métodos aplicando ELISA, que comparten un marcador enzimático que puede unirse a un anticuerpo o a un antígeno. En todos estos métodos, el procedimiento incluye una separación cuyo objetivo es eliminar

el conjugado enzimático libre antes de que se fije la cantidad de conjugado enzimático enlazado. Esto se logra mediante una reacción catalítica entre el sustrato y la enzima (Guzmán, 2023).

La prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas *(ELISA)* es una de las técnicas serológicas más versátiles para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, siendo altamente sensible y específica para la detección de antígenos y anticuerpos. El principio de esta técnica se basa en la inmovilización de un antígeno en un pocillo de plástico con anticuerpos, el cual luego se detecta con un segundo anticuerpo (Ramsey, 2022).

2.8.2. ELISA tipo sándwich

El método ELISA tipo sándwich es ampliamente utilizado para detectar y cuantificar con alta sensibilidad un antígeno específico en muestras biológicas. El procedimiento inicia con la inmovilización de un anticuerpo de captura en una placa de poliestireno. Luego, se añade la muestra, la cual, si contiene el antígeno objetivo, se unirá a este anticuerpo. Tras lavados para eliminar componentes no específicos, se incorpora un segundo anticuerpo (de detección), dirigido al mismo antígeno, pero que reconoce un epítopo distinto y proviene de otra especie. Este anticuerpo puede estar directamente conjugado con una enzima o requerir una antiglobulina marcada, la cual, al reaccionar con un sustrato cromogénico, genera un cambio de color proporcional a la cantidad de antígeno presente. La especificidad del ensayo depende de la adecuada selección y combinación de los anticuerpos empleados, lo que minimiza resultados falsos positivos o negativos (López et al., 2021).

2.8.3. ELISA indirecto

El ensayo ELISA indirecto se basa en la detección de anticuerpos específicos presentes en una muestra biológica mediante un sistema de reconocimiento en dos pasos. Inicialmente, se fija un antígeno purificado a los pocillos de una placa de microtitulación. Tras un lavado para eliminar el exceso de antígeno no adherido, se añade el suero del animal evaluado; si este contiene anticuerpos específicos, se formará el complejo antígeno-anticuerpo.

Luego, se incorpora un anticuerpo secundario conjugado con una enzima, el cual reconoce regiones constantes del anticuerpo primario. Este anticuerpo secundario, usualmente específico de especie, amplifica la señal al unirse en múltiples sitios. Finalmente, se añade un sustrato cromogénico que, al reaccionar con la enzima, produce un cambio de color cuya intensidad es proporcional a la cantidad de anticuerpo presente. Este método destaca por su alta sensibilidad y versatilidad diagnóstica (Ramírez et al., 2022).

2.8.4. Principios ELISA cuantitativo

Este método se basa en el uso de antígenos marcados con una enzima, de manera que los conjugados resultantes tienen actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes *(antígeno o anticuerpo)* marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte *(inmunoadsorbente),* la reacción entre el antígeno y el anticuerpo se inmoviliza. Esto facilita su revelado mediante la adición de un sustrato específico, el cual, al actuar sobre la enzima, produce un cambio de color observable a simple vista. Este cambio puede ser cuantificado mediante un espectrofotómetro o un colorímetro (Benenaula, 2020).

2.9. Factores clave en el desarrollo de ELISA

Varios factores pueden afectar a la capacidad de un ELISA para detectar proteínas, siendo los más importantes los citados a continuación:

2.9.1. Adsorción

En los ensayos ELISA, la fase sólida en la fijación estable de antígenos o anticuerpos. Actualmente, las microplacas de 96 pocillos de poliestireno son el estándar, gracias a su superficie tratada para mejorar la adsorción de proteínas y su fondo transparente que facilita la lectura espectrofotométrica. Estas placas permiten trabajar con volúmenes reducidos *(generalmente entre 200 y 350 µl por pocillo),* optimizando recursos y permitiendo el procesamiento simultáneo de múltiples muestras, El material busca garantizar estabilidad del reactivo inmovilizado, resistencia a los lavados y almacenamiento prolongado bajo condiciones controladas. Además, su diseño facilita la automatización de procesos y la estandarización de resultados diagnósticos (Fernández et al., 2021).

2.9.2. Unión y lavados

Los pasos de lavado son esenciales para garantizar la especificidad y precisión en los ensayos ELISA. Mediante múltiples ciclos de lavado se eliminan las moléculas no unidas o uniones inespecíficas que podrían interferir en la señal final, asegurando que únicamente los complejos antígeno-anticuerpo permanezcan adheridos a la fase sólida. Esta limpieza cuidadosa contribuye a reducir el ruido de fondo y aumenta la fiabilidad de los resultados. Además, la correcta ejecución de los lavados verifica la solidez de la unión específica entre reactivos, elemento clave para la reproducibilidad y exactitud del ensayo (Martínez & Gómez, 2023).

2.9.3. Tiempos de incubación y temperaturas

Los tiempos y temperaturas de incubación son variables determinantes para el éxito de un ensayo ELISA, ya que cualquier desviación puede afectar la unión específica entre antígenos y anticuerpos y, por ende, la exactitud del resultado. Para garantizar la reproducibilidad, es esencial utilizar equipos calibrados que mantengan condiciones térmicas estables y precisas durante todo el proceso. Asimismo, respetar rigurosamente los tiempos de incubación establecidos evita subreacciones o reacciones excesivas, asegurando una señal clara y confiable (García et al., 2022).

2.9.4. Enzimas y sustratos

Como marcadores en ensayos ELISA se debe a su gran poder catalítico, alta especificidad, amplio rango de sustratos utilizables y la excelente estabilidad de los conjugados formados. Las enzimas utilizadas en ensayos heterogéneos *(todas las modalidades de ELISA)* se encuentran la peroxidasa, la fosfatasa alcalina, la ß-galactosidasa, la glucosa oxidasa, la ureasa, la glucoamilasa, la acetilcolinesterasa, la glutamato descarboxilasa y la anhidrasa carbónica. De estas, las más frecuentemente empleadas son la fosfatasa alcalina, la peroxidasa de rábano picante y la ß-galactosidasa. Existen además otras enzimas, como la microperoxidasa y el citocromo C, que también se usan en ciertos contextos. Cada una de estas enzimas tiene sus propias ventajas y desventajas, y se eligen en función de los sustratos más adecuados para cada tipo de ensayo (Ochoa, 2022).

2.9.5. Anticuerpos y antígenos empleados

En los ensayos ELISA, la selección de anticuerpos *(Abs)* y antígenos *(Ags)* de alta calidad es fundamental para obtener resultados precisos y confiables. Estos reactivos se adquieren de proveedores certificados que garantizan pureza, especificidad y estabilidad mediante certificados de análisis detallados. Dichos documentos incluyen información clave sobre la composición, concentración y número de lote, asegurando así la trazabilidad y consistencia entre lotes, es indispensable para la reproducibilidad de los ensayos (López & Martínez, 2023).

2.9.6. Detectores

Los lectores ELISA son espectrofotómetros diseñados para realizar lecturas en serie de cada uno de los pocillos en una placa ELISA. A diferencia de los espectrofotómetros convencionales, que pueden medir en todas las longitudes de onda dentro de la zona ultravioleta y visible, los lectores ELISA más comunes están equipados con sistemas de filtros que limitan la medición a un conjunto específico de longitudes de onda. Estas longitudes son las necesarias para medir la absorbancia de los cromógenos más comúnmente utilizados en los ensayos ELISA. Además, existen sistemas de detección no solo colorimétricos, sino también fluorescentes y luminiscentes, que ofrecen una mayor variedad en los tipos de medición (Coello, 2020).

2.10. Condición Corporal del ganado lechero

La determinación del estado corporal de los animales representa una práctica de manejo inobjetable para mejorar la eficiencia del sistema lechero ya que el mismo evalúa el balance energético del animal y sus reservas corporales (Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, 2020).

La estimación del estado corporal en vacas lecheras es un indicador de la cantidad de reservas energéticas almacenadas. Su evaluación periódica permite a los productores y asesores prever la producción de leche, y la eficiencia reproductiva, evaluar la formulación y asignación de alimentos y reducir la incidencia de enfermedades metabólicas en el inicio de lactancia.

La correcta estimación de las reservas corporales debe hacerse a través de la medición del estado corporal en forma visual y por palpación, es un es un método subjetivo y cualitativo para medir cómo se extiende la grasa subcutánea sobre el lomo, la pelvis y la cavidad de la cabeza de la cola utilizando una escala de 1 a 5 (1 = flaca, 5 = gorda).

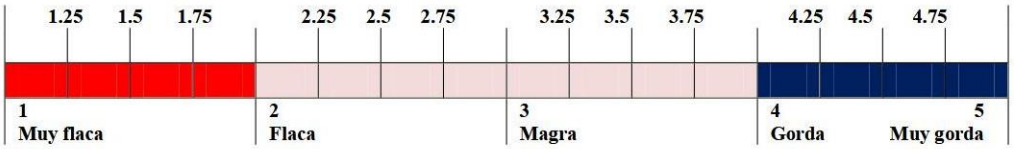
Su determinación es particularmente importante en momentos claves como el secado, el ingreso al preparto, el parto y el pico de producción. El peso vivo no es un buen indicador de las reservas corporales ya que vacas de un mismo peso pero de diferente conformación, pueden presentar diferentes niveles de engrasamiento (Ruiz, 2022).

2.10.1. Técnica para evaluar la Condición Corporal

Los cambios en la condición corporal de una vaca a lo largo del ciclo productivo son muy dinámicos, pero pueden evaluarse en forma confiable mediante la determinación del "score" ó "grado de gordura", a través de la palpación y observación de ciertas áreas anatómicas de las zonas del lomo, la grupa y la base de la cola. De esta manera se determina, empíricamente y según la escala de referencia (grados 1 a 5), la cantidad de tejido graso subcutáneo presente en esas áreas (Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, 2020).

Figura 1

Escala de referencia



ESCALA	REFERENCIA
1	MUY FLACA
2	FLACA
3	MAGRA
4	GORDA
5	MUY GORDA

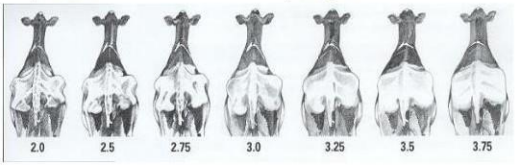
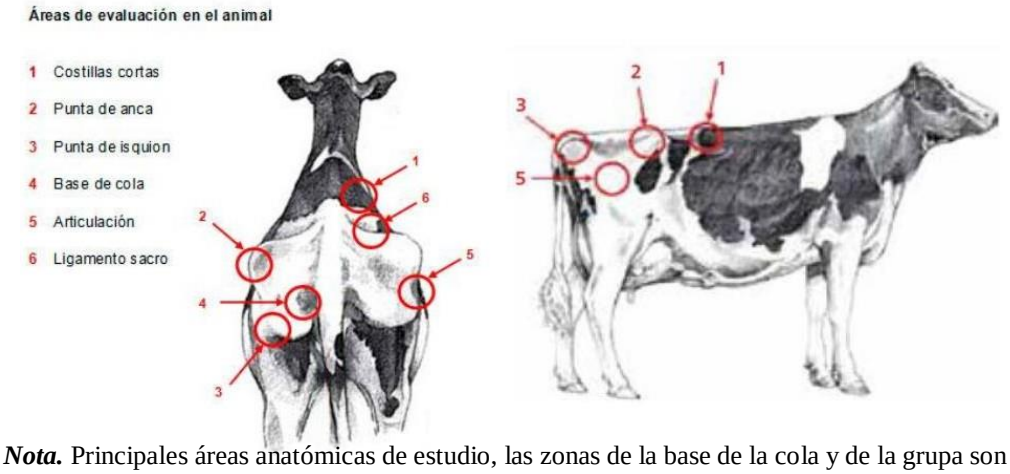


Figura 2

Área de evaluación del animal.



Nota. Principales áreas anatómicas de estudio, las zonas de la base de la cola y de la grupa son las de mayor importancia para la clasificación final del animal**.**

2.10.2. Procedimiento

La rutina debe efectuarse con los animales parados sobre una superficie plana y dura, evitando todo tipo de tensiones que obligan normalmente a que las vacas adopten una postura contraída. El evaluador debería ubicarse detrás del animal en la situación más cómoda para poder palpar, en forma efectiva, todas las regiones anatómicas que el método propone (Bo, 2020).

La palpación se realizará ejerciendo una leve pero consistente presión con la yema de los dedos, en cada uno de los puntos señalados. La primera se realizará a nivel de la región base de la cola, incluidos la grupa, los huesos de la cadera y las últimas costillas. Esta zona es la más importante para asignar el grado de score. Luego se clasifica la zona del lomo que, ante dudas, sirve principalmente para ajustar la puntuación anterior haciendo correcciones de un cuarto (¼) y de medio (½) punto en la escala (Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, 2000).

2.11. Constantes Fisiológicas

Durante el proceso de formación del Médico Veterinario, así como también en su práctica profesional, enfrenta cada día una serie de problemas clínicos que le son planteados en terminas cuanti-cualitativos *(signos y síntomas)* para los cuales no

existen valores universales de normalidad. Por el contrario, existen un sin número de factores como la edad, sexo, peso, clima, alimentación que puede modificar en alguna medida estas cifras.

El Médico Veterinario debe ser capaz de analizar todos estos factores y obtener un valor prom6edio esperable en un paciente determinado y luego compararlo con datos reales y de esta forma determinar el grado de salud o enfermedad del individuo en cuestión.

Los valores mencionados se utilizan como punto de referencia para diagnosticar el grado de normalidad o anormalidad de un individuo y han sido denominadas constantes biológicas, las cuales han sido divididas en constantes bioquímicas, anatómicas, fisiológicas, etc.

Las constantes fisiológicas son parámetros sujetos a variaciones multifactoriales que reflejan mecanismos homeostáticos, sufren variaciones acordes las diferentes etapas de la vida y con las características externas con las que el hombre se encuentra en contacto; el hombre no es un ser aislado, vive dentro de un universo donde se establecen relaciones complejas entre ellos. Así el hombre puede modificar el medio ambiente atendiendo sus necesidades, pero también el medio ambiente puede influir en sus procesos biológicos (Manual de Merck Veterinario, 2022).

CONSTANTES FISIOLÓGICAS VISTAS POR ÓRGANOS Y SISTEMAS	
Sistema Nervioso	Temperatura, sueño, vigilia, reflejos, peso.
Aparato Respiratorio	Frecuencia Respiratoria
Aparato Cardiovascular	Tensión Arterial, Frecuencia Cardiaca, pulso, gasto cardiaco
Aparto Digestivo	Excreción de heces, peristalsis
Aparato Urinario	Diuresis
Sistema Hematológico	Concentración de hemoglobina, hematocrito
Sistema Musculo Esquelético	Tono muscular

FACTORES AMBIENTALES ASOCIADOS CON LAS CONSTANTES FISIOLÓGICAS	
Presión arterial	Estrés
Frecuencia Cardiaca	Temperatura, contaminación ambiental, altitud, actividad
Frecuencia respiratoria	Clima, actividad física
Diuresis	Temperatura del ambiente, disponibilidad de agua
Temperatura	Hacinamiento, temperatura del medio ambiente
Peso	Vida sedentaria, ambiente de trabajo
Sueño y vigilia	Vivienda, altitud
Hemoglobina	Alimentación, altitud

Fuente: *Manual de Merck Veterinario 2022*

- **Temperatura.** - Los animales de gran tamaño *(aves y mamíferos)* son homotermos, pues mantienen su temperatura interna independientemente a la del medio ambiente (Kelly, 2020).

  La temperatura corporal de cualquier ser vivo refleja el equilibrio entre la producción y disipación del calor del cuerpo (Battaglia, 2021).

  La exploración de la temperatura interna del paciente o termometría clínica es lo más importante ya que esto determinará si está sano, empieza con la enfermedad o si está enfermo, por lo general en bovinos se utiliza la termometría rectal, con la cual se puede determinar la temperatura fisiológica normal, hipotermia, hipertermia o fiebre (Ávila, 2018).

  Este es el lugar más conveniente para obtener este dato clínico, además en los rumiantes, es este un parámetro clínico bastante fijo que presenta pocas variaciones fisiológicas (Rimbaud, 2024).

  La determinación de la temperatura se realiza utilizando un termómetro veterinario y siguiendo los siguientes pasos:

  1) Se sujeta al animal de una manera adecuada.
  2) Humedecer el extremo del termómetro con agua o aplicar una capa de vaselina, en caso de no contar con eso, lo recomendable es con las mismas heces del animal u orina; luego insertar cuidadosamente en el recto del animal con un movimiento rotatorio y en las hembras en la vagina, hasta introducirlo tres cuartas partes del mismo y fijarlo sobre la pared del recto por 2 o 3 minutos.
  3) Retirar el termómetro para leer la lectura y registrarla (Battaglia, 2021).

- **Fiebre.** - Elevación de temperatura *(hipertermia)* y a la disminución *(hipotermia).* Su presencia indica que el animal está enfermo se debe descartar el exceso de trabajo, calor estado de gestación (Rimbaud, 2004).

  Los Tipos de fiebre:

  1) Continúa cuando la temperatura varía 1ºC.

2) Intermitente aparición en un día de periodos febriles.
3) Recurrente existen periodos de fiebre espaciados por día.

- **Pulsación. -** El pulso arterial nos permite deducir el estado del aparato circulatorio. El lugar de la palpación se efectúa según la especie: en los bovinos. - maxilar externo.

  Aumento en frecuencia cardiaca= taquicardia
  Disminución= braquicardia.

- **Frecuencia Cardiaca.** - Valor que nos indica el desempeño que tiene el corazón, su valoración es de suma importancia para determinar el estado general en que se encuentra el bovino, ya que una frecuencia cardiaca muy rápida o lenta nos indica algunos padecimientos graves (Kelly, 2020).

- **Frecuencia Respiratoria.** -El aparato respiratorio es el medio por el cual se suministra oxígeno a la sangre, la cual lo lleva después a todo el organismo, el contar el número de respiraciones realizadas por el bovino nos permitirá descartar cualquier anomalía.

  La Frecuencia respiratoria la podemos medir al observar la caja torácica *(costillas)* movimientos normales de la respiración se llama costal arterial, contando los movimientos que realice por minuto. Los cambios en la frecuencia normal son la respiración acelerada y lenta (Frandson, 2021).

  Disnea = respiración dificultosa por obstrucción.

  Polinea = aceleración respiratoria.

  Bradipnea o oligopnea = disminución.

- **Movimientos ruminales.** -En los bovinos el rumen es el compartimiento más grande del sistema digestivo y donde se lleva a cabo la fermentación de los alimentos, por lo cual su actividad *(movimientos)* es muy importante para mantener la salud de la vaca, normalmente tiene de 1 a 2 movimientos por minuto, pero esto varía de acuerdo con la actividad del animal (Belge, 2022).

Algunos enfermedades o intoxicaciones pueden disminuir o cesar estos movimientos, por lo tanto, su valoración será importante para el diagnóstico oportuno. Una vez que se ha hecho el diagnostico se pueden tomar las decisiones necesarias para controlar y prevenir la diseminación de enfermedades (Tilden, 2020).

- **El aparato urinario.** -El aparato urinario está formado por dos riñones, dos uréteres, la vejiga y la uretra. Los riñones son los órganos que filtran el plasma y los constituyentes plasmáticos de la sangre, y de este modo reabsorben de manera selectiva el agua y las sustancias útiles del filtrado y excretan finalmente el exceso y los productos de desecho del plasma.

  El urianálisis es un método diagnóstico básico para todos los animales enfermos, pues no solamente sirve para verificar anomalías en las vías urinarias, sino también es útil para evaluar endocrinopatías.

  Recolección de orina.
  Observación: color, olor, concentración.
  Poliuria: aumento en micciones.
  Oliguria: disminución de micciones.
  Anuria: ausencia de micciones (Frandson, 2021).

CONSTANTES FISIOLÓGICAS DEL BOVINO	
Temperatura	T° Mínima 38°C - T° Máxima 39°C
Temperatura Rectal	T° 38.6°C – 101-5°F
Pulsación por minuto	60 - 80
Frecuencia Respiratoria por minuto	10 - 30
Cantidad de orina eliminada orina/día/litro	6 - 12
Micciones/día	5 - 7
PH orina	7 – 8 Alcalina
Tiempo de coagulación sanguínea/minuto	8 - 10
Leucocitos	7000 - 10000
Eritrocitos	5 – 7 millones
Grupos Sanguíneos	12
Gestación/mes	9
Movimientos Ruminales por minuto	Descanso 1.2 Alimentándose 2 Rumia 1.1

Fuente: *Manual de Merck Veterinario 2022*

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación y características de la investigación

- **Localización del experimento**

El proyecto del experimento se lo realizo en 4 predios de unidades productivas pecuarias; Finca Faconda, Finca Paul Carrillo, Finca Santa Marianita y Finca Bella Vista de la comunidad Francisco de Orellana, kilómetro 2½ vía al Tena, en la ciudad de Puyo, provincia de Pastaza.

- **Situación geográfica y edafoclimática**

COORDENADAS DMS	
Latitud	01°29’00” S
Longitud	77°59’00” O
COORDENADAS GPS	
Latitud	-1.43333
Longitud	-77.9833
CONDICIONES METEOROLÓGICAS	
Altitud	950 m.s.n.m.
Humedad relativa promedio anual	85 %
Precipitación promedio anual	4000 mm/año
Temperatura máxima	27 ºC
Temperatura media	24 ºC
Temperatura mínima	18 ºC

Fuente: GAD 2025.

- **Zona de vida**

De acuerdo con el sistema de clasificación de zonas de vida biogeográfica por Leslie Ransselaer Holdridge. El sitio experimental corresponde a la formación de Bosque Húmedo Tropical (B.h.t.)

3.2. Metodología

3.2.1. Material en estudio

- 40 vacas.

3.2.2. Factor en estudio

- Nivel de cortisol.

3.2.3. Tratamientos

En el experimento se evaluaron 4 unidades de producción láctea, según el siguiente detalle.

- T1. Finca Faconda + nivel de cortisol.
- T2. Finca Paul Carrillo + nivel de cortisol.
- T3. Finca Santa Marianita + nivel de cortisol.
- T4. Finca Bella Vista + nivel de cortisol.

3.2.4. Tipo de diseño experimental o estadístico

Diseño analítico descriptivo.

3.2.5. Manejo de la investigación

- Para determinar los niveles de cortisol en vacas lecheras, a partir del cual se calculó y determino el tamaño de la muestra para cada unidad de producción lechera, se obtuvo aplicando la fórmula de prevalencia límite. Se determinó un tamaño de muestra mínimo de 10 animales por cada Finca. En total se muestrearon 40 animales.

- Los animales se seleccionaron al azar en cada una de las unidades de producción. Para ello se utilizó un formato, adaptado para la investigación; se recopilo y registró toda la información relativa obtenida de la observación individual de cada unidad biológica y datos correspondientes de las variables trazadas del animal.

- Los indicadores seleccionados se reflejan en el comportamiento, lo que se procedió a tomar la frecuencia cardiaca, respiratoria y temperatura corporal.

- Se procedió a la extracción de sangre a las 05:00 horas. en las 4 unidades productivas. Se empleó agujas hipodérmicas estériles de 20 G x 1½ pulgadas,

realizando la venopunción en la vena yugular para recolectar 5 ml de sangre en tubos vacutainer sin anticoagulante *(tapa roja)* debidamente rotulados.

- Las muestras recolectadas fueron almacenadas en cavas con hielo, evitando al máximo la exposición a factores externos que pudieran alterar las muestras, las cuales se transportaron al laboratorio, donde se procedió al análisis de estas.

- Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 minutos para obtener el suero necesario para el análisis.

- Para la prueba de cortisol se utilizaron los reactivos, calibradores y el kit AccuBind® ELISA. Se formatearon los pocillos de las microplacas para las muestras y controles, pipeteando 0.025 ml de suero de referencia en cada pocillo, seguido de 0.05 ml de reactivo enzimático de cortisol, agitándose suavemente. Luego, se añadió 0.05 ml de reactivo biotina, y la microplaca fue incubada a temperatura ambiente durante 60 minutos.

- Posteriormente, se desechó el contenido de los pocillos, se realizaron tres lavados con tampón y se añadió 0.100 ml de solución de sustrato. Tras 15 minutos de incubación, se agregó 0.050 ml de solución de parada, y los pocillos fueron mezclados suavemente. Los resultados fueron leídos a 450 nm en un lector de microplacas dentro de los 30 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

- Los datos obtenidos fueron registrados, procesados y analizados en una base utilizando el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI.I, de las cuales se comparó antecedentes.

- Se priorizo a analizar e interpretar la información, elaborando cuadros de frecuencia, porcentajes, demostrar gráficamente resultados según los objetivos, variables, comprobar la hipótesis y llegar a las conclusiones y recomendaciones de la investigación.

3.2.6. Método de evaluación *(variables repuestas)*

- **Raza *(R):*** Valor que se consideró la estirpe de los animales, mediante la observación macroscópica de acuerdo con las características fenotípicas.

  - Holstein
  - Jersey
  - Jerhol

- **Edad *(E):*** Antecedente que se lo obtuvo en base a las historias clínicas de cada unidad biológica, se lo expresó en años de vida, de acuerdo al siguiente grupo etario.

  - 1-2 años
  - 3-4 años
  - > 5 años

- **Condición Corporal *(C/C):*** Evaluación subjetivo que determinó la masa corporal por medio de la observación macroscópica, se procedió valorar el estado de reservas del bovino y su evolución a lo largo del ciclo productivo, considerando puntos anatómicos claves como las costillas cortas, la base de la cola, la articulación coxofemoral y el ligamento sacro, se lo midió en:

  - 1 = Muy flaca
  - 2 = Flaca
  - 3 = Magra
  - 4 = Gorda
  - 5 = Muy gorda

- **Constantes Fisiológicas *(CF):*** Parámetro cuantitativo especifico sujetas a variaciones multifactoriales que representan los mecanismos fisiológicos del organismo para mantener el equilibrio del medio interno; La frecuencia cardíaca se obtuvo mediante auscultación directa del corazón usando un estetoscopio colocado en el lado izquierdo del tórax, entre el tercer y sexto

espacio intercostal. La frecuencia respiratoria fue determinada por observación del movimiento torácico, y la temperatura corporal mediante un termómetro clínico rectal.

- Temperatura ºC
- Frecuencia cardiaca lpm
- Frecuencia respiratoria rpm

- **Concentración Plasmática de Cortisol *(CPC):*** Las muestras de sangre fueron extraídas por punción yugular, utilizando tubos vacutainer sin anticoagulante *(tapa roja).* Luego de la centrifugación, se obtuvo el suero, el cual fue analizado en laboratorio mediante el método ELISA cuantitativo para determinar los niveles de cortisol, expresados en microgramos por decilitro (µg/d/l).

- **Análisis Económicas *(AE):*** Valor expresada en dólares, se registraron datos sobre la producción láctea diaria de cada unidad productiva. Esta información fue proporcionada por los productores mediante entrevistas dirigidas y observación directa, permitiendo estimar la rentabilidad.

3.2.7. Análisis de datos

Se procedió a analizar las variables: raza, edad, condición corporal, constantes fisiológicas, concentración plasmática de cortisol y análisis económico. Los datos obtenidos fueron registrados en una base de datos utilizando el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

Posteriormente, las derivaciones fueron sometidas a análisis estadísticos descriptivos, mediante la elaboración de cuadros de frecuencia y porcentajes, los cuales fueron representados gráficamente para facilitar la interpretación de las variables.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Interpretación de resultados

4.1.1. Raza *(R)*

Tabla 1

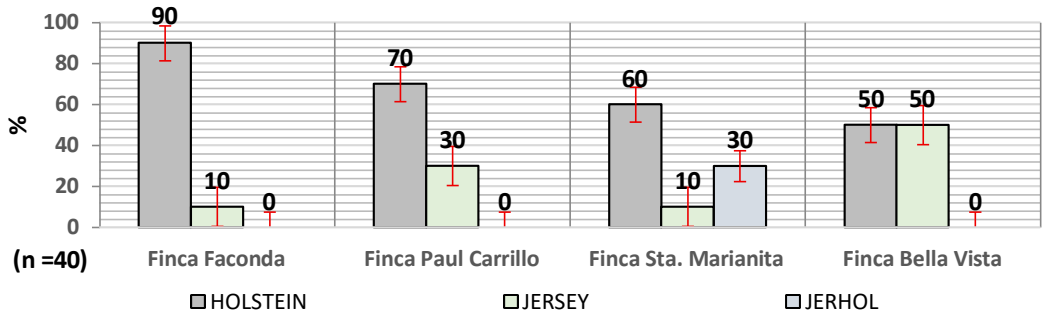
Variable Raza

PORCENTAJE DE FRECUENCIA		
ITEM´S	***Fi***	***Fa***
HOLSTEIN	27	68%
JERSEY	10	25%
JERHOL	3	7%
TOTAL	**40**	**100%**
x̄ 33.3% RAZA		

ITEM´S	***Finca Faconda***		***Finca Paul Carrillo***		***Finca Sta. Marianita***		***Finca Bella Vista***	
	Fi	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***
HOLSTEIN	9	90%	7	70%	6	60%	5	50%
JERSEY	1	10%	3	30%	1	10%	5	50%
JERHOL	0	0%	0	0%	3	30%	0	0%
TOTAL	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**

Figura 3

Variable Raza



Análisis e interpretación

Se determina la raza en la investigación que prescribió 68% Holstein, expresando una media del 33.3%, en correspondencia con estos datos, el 90% la raza Holstein lo estableció la Finca Faconda.

Otteba, W. 2023. Concentración de cortisol en el pelo de vacas lecheras posparto y su asociación con parámetros de producción de leche; de acuerdo con las razas de los animales fluctuaros 41 vacas multíparas de genotipo Holstein Friesian.

En relación con el resultado obtenido por Otteba, W. estipulo un porcentaje superior al tipo de raza Holstein, se establece que la raza de los animales podría estar relacionado con la costumbres o cultura de los productores, alta producción de leche, lo que pueda hacerlas más propensas al estrés si no se manejan adecuadamente, sensibilidad al entorno intensivo, genética, medio geográfico, sistema inmune que altera la salud del animal.

4.1.2. Edad *(E)*

Tabla 2

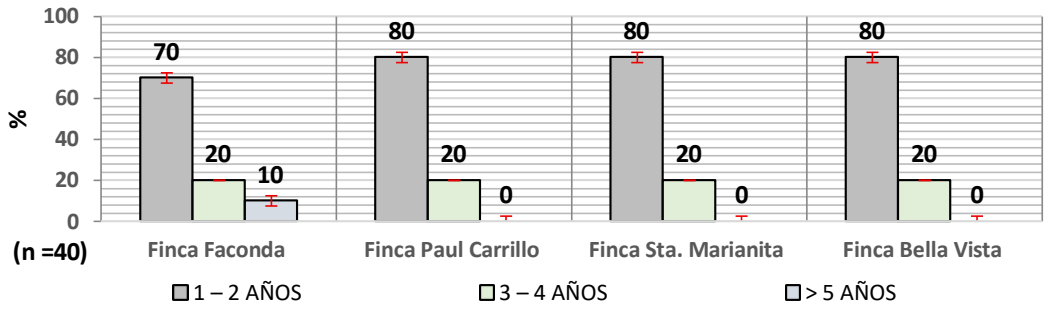
Variable Edad

PORCENTAJE DE FRECUENCIA		
ITEM´S	***Fi***	***Fa***
1 – 2 AÑOS	31	78%
3 – 4 AÑOS	8	20%
> 5 AÑOS	1	2%
TOTAL	**40**	**100%**
x̄ 33.3% EDAD		

ITEM´S	***Finca Faconda***		***Finca Paul Carrillo***		***Finca Sta. Marianita***		***Finca Bella Vista***	
	Fi	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***
1 – 2 AÑOS	7	70%	8	80%	8	80%	8	80%
3 – 4 AÑOS	2	20%	2	20%	2	20%	2	20%
> 5 AÑOS	1	10%	0	0%	0	0%	0	0%
TOTAL	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**

Figura 4

Variable Edad



Análisis e interpretación

Se instituye la edad en la investigación, estableció el 78% 1-2 años, expresando una media del 33.3%; en paridad con estos datos prescribe el 80% 1-2 años lo adquirió la Finca Paul Carrillo, Finca Bella Vista y Finca Sta. Marianita.

Arbaíza, M. 2021. Efectos de estímulos musical sobre los niveles de cortisol, fórmula leucocitaria y producción de leche en bovinos; en cuanto a edad se deriva 30 vacas > 5 años, que representa el 100%.

En dependencia al resultado obtenido por Arbaiza, M. estipulo un porcentaje mayor a la variable, se establece que los niveles de cortisol pueden variar con la edad debido a cambios fisiológicos, etapas de vida *(como el parto o la gestación)* y la respuesta al estrés.

4.1.3. Condición Corporal *(C/C)*

Tabla 3

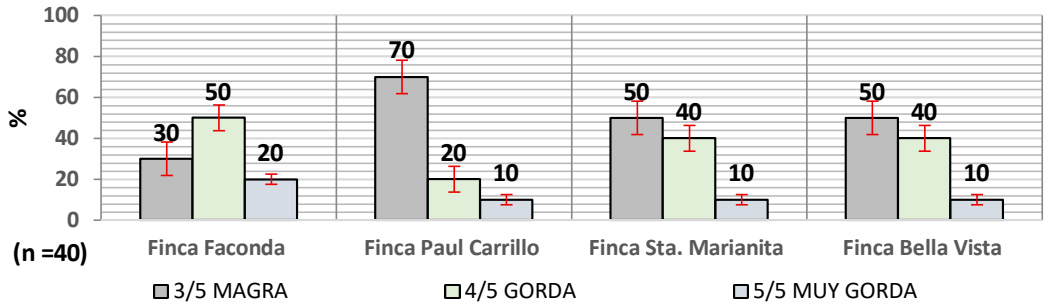
Variable Condición Corporal

PORCENTAJE DE FRECUENCIA		
ITEM´S	***Fi***	***Fa***
3/5 MAGRA	20	50%
4/5 GORDA	15	38%
5/5 MUY GORDA	5	12%
TOTAL	**40**	**100%**
x̄ 33.3% CONDICIÓN CORPORAL		

ITEM´S	***Finca Faconda***		***Finca Paul Carrillo***		***Finca Sta. Marianita***		***Finca Bella Vista***	
	Fi	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***
3/5 MAGRA	3	30%	7	70%	5	50%	5	50%
4/5 GORDA	5	50%	2	20%	4	40%	4	40%
5/5 MUY GORDA	2	20%	1	10%	1	10%	1	10%
TOTAL	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**

Figura 5

Variable Condición Corporal



Análisis e interpretación

Se exponen los niveles de la Condición Corporal, determino el 50% 3/5 magra, expresando una media del 33.3%; en equivalencia con estos datos el 70% magra lo obtuvo la Finca Paul Carrillo.

Grelet, C. 2022. Identificación de biomarcadores de estrés en vacas lecheras; en cuanto a la condición corporal se procede con 15 vacas estresadas que presentaron una condición corporal de 3.2/5 magra durante 4 semanas.

Con relación al resultado obtenido por Grelet, C. estipulo el porcentaje similar a la variable C/C 3 magra, se deriva que la condición corporal es una medida más relacionada con el estado de salud y se asocia con la entidad clínica, nutrición, estrés y un estado higiénico-sanitario deficiente.

4.1.4. Constantes Fisiológicas *(C/F)*

Tabla 4

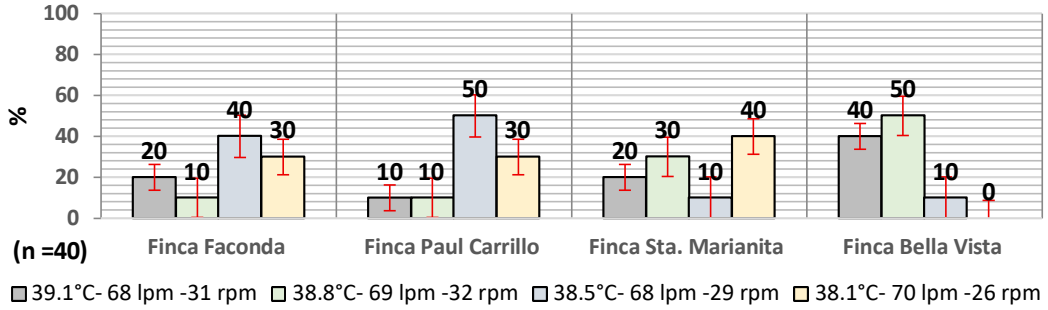
Variable Constantes Fisiológicas

PORCENTAJE DE FRECUENCIA		
ITEM´S	F_i	***Fa***
38.5°C- 68 lpm -29 rpm	11	28%
38.8°C- 69 lpm -32 rpm	10	25%
38.1°C- 70 lpm -26 rpm	10	25%
39.1°C- 68 lpm -31 rpm	9	22%
TOTAL	**40**	**100%**
x̄25% CONSTANTES FISIOLÓGICAS		

ITEM´S	*Finca Faconda*		*Finca Paul Carrillo*		*Finca Sta. Marianita*		*Finca Bella Vista*	
	Fi	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***
39.1°C- 68 lpm -31 rpm	2	20%	1	10%	2	20%	4	40%
38.8°C- 69 lpm -32 rpm	1	10%	1	10%	3	30%	5	50%
38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4	40%	5	50%	1	10%	1	10%
38.1°C- 70 lpm -26 rpm	3	30%	3	30%	4	40%	0	0%
TOTAL	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**

Figura 6

Variable Constantes Fisiológicas



Análisis e interpretación

Se exteriorizan las constantes fisiológicas, prescribió el 28% *(38.5°C- 68 lpm -29 rpm)* expresando una media del 25%; en simetría con estos datos los valores determino 40% *(39.1°C- 68 lpm -31 rpm)* y 50% *(38.8°C- 69 lpm -32 rpm)* Finca Bella Vista; 50% *(38.5°C- 68 lpm -29 rpm)* Finca Paul Carrillo y 40% *(38.1°C- 70 lpm -26 rpm)* Finca Sta. Marianita.

Calle, A. 2023. Evaluación de los niveles de cortisol, glucosa y constantes fisiológicas luego de la aplicación de un protocolo convencional y alternativo de superovulación en bovinos; se deriva que las constantes fisiológicos determino *38°C* – 65.3 lpm – 20.3 rpm, evaluadas en el día 4 en 8 vacas Holstein mestizas.

En semejanza con el resultado obtenido por Calle, A. estableció valores inferiores a la variable, sin embargo, las constantes fisiológicas pueden fluctuar significativamente debido a diversas causas como el estrés, edad y estado fisiológico, que puede afectar la salud y productividad del animal.

4.1.5. Concentración Plasmática de Cortisol *(CPC)*

Tabla 5

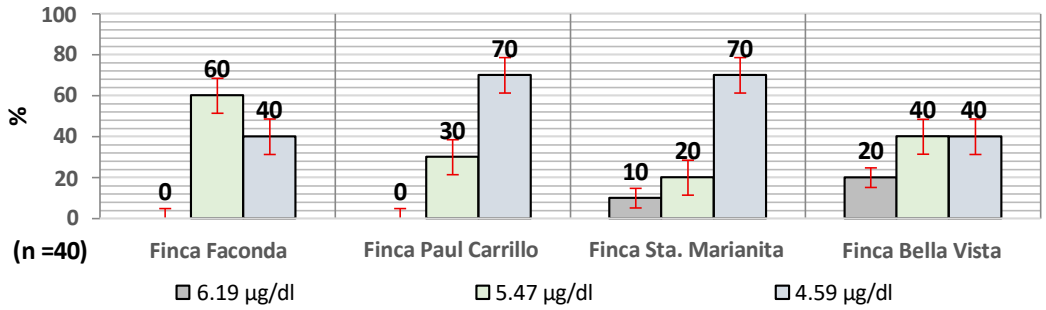
Variable Concentración Plasmática de Cortisol

PORCENTAJE DE FRECUENCIA		
ITEM´S	***Fi***	***Fa***
4.59 µg/dl	22	55%
5.47 µg/dl	15	37%
6.19 µg/dl	3	8%
TOTAL	**40**	**100%**
x̄ 33.3% CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE CORTISOL		

ITEM´S	***Finca Faconda***		***Finca Paul Carrillo***		***Finca Sta. Marianita***		***Finca Bella Vista***	
	Fi	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***	***Fi***	***Fa***
6.19 µg/dl	0	0%	0	0%	1	10%	2	20%
5.47 µg/dl	6	60%	3	30%	2	20%	4	40%
4.59 µg/dl	4	40%	7	70%	7	70%	4	40%
TOTAL	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**	**10**	**100%**

Figura 7

Variable Concentración Plasmática de Cortisol



Análisis e interpretación

Se comprueba una media de concentración de cortisol en plasma sanguíneo en bovinos hembra, estableció 55% *(4.59 µg/dl),* expresando una media del 33.3%, en correspondencia con estos valores se determinó, 20% *(6.19 µg/dl)* Finca Bella Vista; 60% *(5.47 µg/dl)* Finca Faconda y 70% *(4.59 µg/dl)* Finca Paul Carrillo.

López, J. 2021. Valoración de los niveles de cortisol en bovinos aparentemente sanos mediante la técnica de ELISA cuantitativo en condiciones de altitud; obtuvo una media de concentración de cortisol en plasma sanguíneo en 100 hembra bovinos de 8.5 µg/dl, siendo un valor referencial útil en laboratorios clínicos veterinarios ubicados geográficamente en condiciones de altitud.

En relación con el resultado obtenido por López, J. estipulo un porcentaje semejante a la concentración de cortisol en plasma sanguíneo, variable establecida dentro de los rangos normales que suele ser de 1 a 10 µg/dl, que puede variar significativamente.

4.1.6. Análisis Económico *(A/E)*

Tabla 6

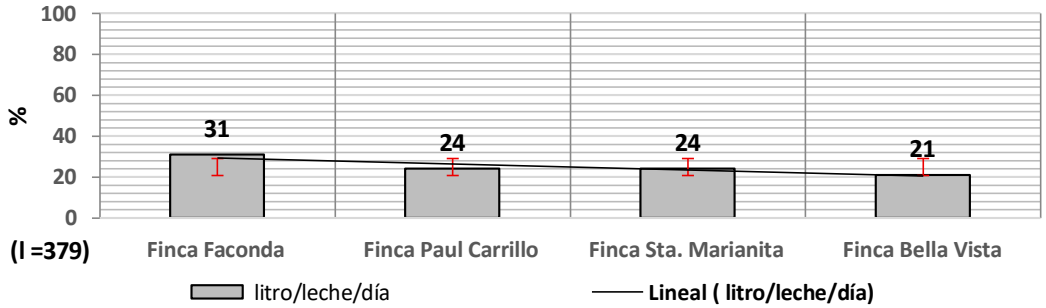
Variable Análisis Económico

PORCENTAJE DE FRECUENCIA		
ITEM´S	***Fi***	***Fa***
Finca Sta. Marianita $\bar{x}$ *litro/leche/día*	117	31%
Finca Paul Carrillo $\bar{x}$ *litro/leche/día*	90	24%
Finca Bella Vista $\bar{x}$ *litro/leche/día*	90	24%
Finca Faconda $\bar{x}$ *litro/leche/día*	82	21%
TOTAL	**379**	**100%**
$\bar{x}$ ***25% ANÁLISIS ECONÓMICO***		

ITEM´S	**PRODUCCIÓN $\bar{x}$ LECHE LITRO/DÍA**			
	$\bar{x}$ ***litro/leche/día***	***Kilogramos/leche***	**Costo/litro**	***Costo Total***
Finca Faconda	82	84.4	0.40	32.80
Finca Paul Carrillo	90	92.7	0.30	27.00
Finca Sta. Marianita	117	120.5	0.40	46.80
Finca Bella Vista	90	92.7	0.35	31.50
TOTAL	**379**	**390.3**	**$\bar{x}$ 0.36**	**138.10**

Figura 8

Variable Análisis Económico



Análisis e interpretación

Se determina el análisis económico por niveles de cortisol en vacas lecheras con relación a la producción $\bar{x}$ litro/leche/día, estos datos prescribe que el 31% lo obtuvo la Finca Sta. Marianita 117 litros/leche/día; una producción$\bar{x}$ total de 379 litros/leche/día, con costo total de $ 138.10/día USD en 390.3 Kg/leche/día.

Solano, B. 2024. Análisis de la producción de leche bovina y su impacto económico en la organización agropecuaria Tucayta del cantón Cañar; A pesar de las fluctuaciones en la producción y la distribución de la leche, los ingresos estimados mostraron un aumento general; Sin embargo, se observó que, el precio pagado por litro de leche a $0,52, la cantidad de leche producida *(litros/dia)* 123,52 en costo total de $247,04.

En correspondencia con el resultado obtenido por Solano, B. estableció valores superiores a la variable, sin embargo, el análisis económico fluctúa elocuentemente incrementando una mejora en la rentabilidad de la actividad lechera a lo largo del tiempo; En Ecuador, los costos de producción de leche difieren según la región y el método de producción empleado. A nivel nacional el costo medio es de $0.38 por litro. Los gastos más significativos en la producción de leche provienen de la alimentación y la mano de obra, los cuales constituyen entre el 75% y el 80% causales especificas en el procedimiento usado para el análisis económico.

4.2. Comprobación de la hipótesis

De acuerdo con los resultados estadísticos obtenidos; se comprobó la hipótesis nula, ya que la determinación de niveles de cortisol en vacas lecheras, como biomarcador sanguíneo para medir nivel de estrés, no influenció estadísticamente sobre las variables evaluadas través del tiempo de la investigación.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

De acuerdo con los resultados y análisis estadísticos, se sintetizan las siguientes conclusiones:

- La concentración plasmática del cortisol es un biomarcador clave para evaluar el nivel de estrés en bovinos lecheros, siendo un indicador útil para monitorear el bienestar animal y optimizar las prácticas de manejo.

- La técnica de ELISA *(Ensayo por Inmunoabsorción ligado a enzimas)* para medir cortisol en vacas lecheras es un método común para evaluar el estrés en estos animales.

- Las constantes fisiológicas registradas muestran valores promedios dentro del rango normal.

- La condición corporal 3/3 presenta balance energético equilibrado, permitiendo que los niveles de cortisol se mantengan dentro de los rangos fisiológicos, minimizando el estrés metabólico y mejorando la eficiencia productiva.

- Los valores de cortisol en sangre bovina, 4.59 μg/dl, 5.47 μg/dl y 6.19 μg/dl, están dentro del rango fisiológico para esta especie, que suele ser de 1 a 10 μg/dl, valores que indican una respuesta orgánica normal al estrés o a la actividad física, y no sugieren ninguna condición patológica y maximiza la producción láctea y las ganancias del productor.

5.2. Recomendaciones

- Implementar programas integrales de evaluación periódica del hato lechero que incluya, el monitoreo regular de las constantes fisiológicas, medición y registros de niveles de cortisol, evaluación de la condición corporal, análisis de factores de estrés ambiental y de manejo, capacitación constante del personal e implementación de planes de bienestar animal, mejorando la salud, aumentando la producción y rentabilidad del hato.

- Utilizar indicadores del cortisol en leche, saliva, pelo, concentración plasmática y otros indicadores como la glucosa y cuerpos cetónicos para monitorear el nivel de estrés o baja producción para tomar medidas correctivas.

- Reducir costos y desarrollar estrategias comerciales específicas para lograr una producción lechera sostenible y rentable.

- Investigar más a fondo la relación entre el cortisol en vacas lecheras y los parámetros de calidad de la leche.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ávila, G. et al. 2018. Manual de prácticas de clínica de los bovinos 1. México. D.F. Págs. 14-20.

2. Battaglia, R. et al. 2021Técnicas de manejo para el ganado y aves de corral. Edit. Talleres de programas educativos México. DF. Págs. 556-558.

3. Belge, F. (2022). *Possible association between chronic laminitis and some biochemical parameters in dairy cattle*. Australian Veterinary Journal, 82(9), 556–557.

4. Benenaula, D. (2020). *Determinación de inmunoglobulina A en suero sanguíneo por los métodos de inmunodifusión radial y Elisa cuantitativo indirecto en niños de edad escolar* (Tesis de Pregrado). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.

5. Bo, G. 2020. Fertilidad en el bovino. IV Simposio Internacional de Reproducción Animal. Archivo de Internet. pdf

6. Breuner, C. W., Boonstra, R., Delehanty, B., Elliott, K. H., Hope, S., MacDougall-Shackleton, S. A., & Romero, L. M. (2021). *Comparison of plasma, salivary, and faecal glucocorticoid measures in vertebrates: Recent developments and future directions*. Integrative and Comparative Biology, 61(2), 586–596. https://doi.org/10.1093/icb/icab043

7. Chrousos, G. P. (2023). *Stress and disorders of the stress system*. Nature Reviews Endocrinology, 19(1), 15–29. https://doi.org/10.1038/s41574-022-00792-z

8. Coello, D. (2020). *Técnica ELISA (Enzyme Linked inmunoabsorvent assay) Método de Elisa y Microelisa*. Escuela Superior Politécnica del Litoral. http://www.slideshare.net/dicoello/metodo-de-elisa-y-microelisa

9. Del Amo GJS, Barí SE, Cuenca SA, García LJ, García RM. Manual SobreCabras. 1ª Ed. España. Mundi-Prensa. 2021

10. Dorín, R. A., & Qualls, J. M. (2024). *Hepatc metabolism of glucocorticoids in livestock: Mechanisms and implications*. Journal of Comparative Veterinary Physiology, 18(1), 41–52. https://doi.org/10.1007/jcvet.2024.0041

11. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA. 2000 agosto la condición corporal de las vacas en producción. Año 9. Nº 106. PP 47.

12. Fernández, L. M., Castro, J. A., & Rodríguez, E. V. (2021). *Optimización de superficies sólidas en ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISA*. Revista de Biotecnología Aplicada, 19(2), 60–68.

13. Frandson, Y. 2021. Exploración Clínica de Ganado Bovino. Edit. Instituto del Libro. Págs. 67-73 y 97.

14. García, F., Mendoza, P., & Ramírez, A. (2022). *Optimización de parámetros críticos en ensayos inmunoenzimáticos para diagnóstico veterinario*. Revista Científica de Diagnóstico y Tecnología, 15(3), 112–119.

15. Goldstein, D. S., & Kopin, I. J. (2023). *Adrenal gland: Functional interactions between cortex and medulla*. Physiological Reviews, 103(1), 247–270. https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2022

16. Gómez, M. E., & Salazar, J. A. (2022). *Factores estresantes en vacas lecheras y su impacto en la producción*. Revista de Medicina Veterinaria, 33(2), 45–57.

17. González, F., & Vega, M. (2023). *Indicadores fisiológicos y conductuales para la evaluación del estrés agudo en bovinos durante el manejo*. Revista de Producción Animal, 29(3), 145–153.

18. González, P., Salazar, D., & Peña, R. (2021). *Análisis situacional de la cadena productiva de leche en la Hacienda SantAna, provincia del Carchi, Ecuador*. Universidad Técnica del Norte. Recuperado de repositorio.utn.edu.ec

19. Guzmán, E. (2023). *Las pruebas de Elisa*. Gaceta Médica de México, 140(3), 48. http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043o.pdf

20. Kageyama, K. (2023). *Regulation of CRH and ACTH secretion under stress*. Frontiers in Endocrinology, 14, 1164095. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1164095

21. Kelly W. 2020. Diagnóstico clínico veterinario. Edit. CECSA. 7ª. México. D.F. Págs. 23-37

22. Klem, T. B., Olsen, J. E., & Heringstad, B. (2021). *Impact of body condition and stress markers on fertility and milk yield in Norwegian dairy cattle*. Livestock Science, 250, 104567. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104567

23. Lagger, J., Schmidt, E., Waran, N., & Otrosky, R. (2021). *Medición de cortisol en leche como indicador de bienestar animal, resultados preliminares*. Ciencia Veterinaria, 6(1), 12-21.

24. Larry, E. (2022). *Metabolic and Endocrine Physiology*. Wyoming, EEUU: by Teton NewMedia.

25. Lay, D. (2021). *Physiological indicators of stress in domestic livestock*. In Symposium on Concentrated Animal Feeding Operations Regarding Animal Behavior, Care, and Well-Being, Indiana, pp. 1–25.

26. Li, Y., & Cummins, M. J. (2022). *Glucocorticoid signaling and metabolic regulation in domestic animals*. Journal of Veterinary Endocrinology, 14(2), 85–97. https://doi.org/10.1016/j.jvetendo.2022.06.004

27. López, E., Albarrán, F., Ramírez, J., Bañuelos, B., & Cruz, A. (2022). *Índice de Temperatura y Humedad (THI) respaldado por el cortisol capilar en ganado lechero para la medición de estrés calórico crónico*. Nova Scientia, 13(27), 21-38.

28. López, J. M., & Martínez, R. A. (2023). *Calidad y certificación de reactivos en inmunodiagnóstico: un análisis actual*. Revista Latinoamericana de Biotecnología y Diagnóstico, 9(1), 27–35.

29. López, M. J., Ramírez, C. A., & Pineda, R. V. (2021). *Fundamentos y aplicaciones del ELISA tipo sándwich en el diagnóstico veterinario*. Revista de Inmunodiagnóstico Animal, 12(2), 88–96.

30. Maidana, P. (2023). *Medición de cortisol y sus fracciones una puesta al día*. MEDICINA (Buenos Aires), 579–584.

31. Manual de Merck Veterinario 2022. 16 edición. Editorial merck &co. Inc. Madrid. España.

32. Martínez, J. L., Ramírez, A. F., & Díaz, P. E. (2022). *Manejo integral de vacas lecheras: efectos sobre la producción de leche y la salud del hato*. Revista de Ciencia y Gestión Lechera, 45(1), 15–27.

33. Martínez, J. R., & Pérez, L. A. (2023). *Impacto del estrés y el cortisol en la salud y productividad de bovinos*. Revista de Ciencias Agropecuarias, 38(2), 112–121.

34. Martínez, P. L., & Gómez, R. F. (2023). *Optimización de protocolos de lavado en ensayos inmunoenzimáticos para mejorar su sensibilidad y especificidad*. Revista Internacional de Diagnóstico Molecular, 8(1), 12–19.

35. Mejía, G. (2023). *Interpretación clínica del laboratorio*. 4ª edición. Bogotá, Colombia: Ed. Médica Panamericana.

36. Morrow, C. (2022). *Fecal glucocorticoid metabolites as a measure of adrenal activity in dairy cattle*. General and Comparative Endocrinology, 126(2), 229–241.

37. Muñoz, P. L., Rodríguez, S. A., & Vega, D. M. (2023). *Buenas prácticas en el uso del ordeño mecánico y su impacto en la calidad de la leche*. Revista de Producción Animal Sustentable, 18(2), 41–50.

38. Ochoa, R. (2022). *Técnicas inmunoenzimáticas ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos*. 1ª Edición. La Habana. ISBN: 978-959-7076-47-6.

39. Quintero, L., Andrade, M., & López, V. (2023). *Evaluación de indicadores fisiológicos y productivos en bovinos sometidos a estrés ambiental en sistemas intensivos*. Revista Colombiana de Producción Animal, 35(1), 45–56. https://doi.org/10.1234/rcpa.v35i1.2023

40. Ramírez, A. M., Torres, J. L., & Cedeño, R. P. (2022). *Aplicación del ELISA indirecto en el diagnóstico de enfermedades infecciosas en medicina veterinaria*. Revista de Ciencias Biomédicas y Diagnóstico, 14(1), 37–45.

41. RIMBAUD, E. 2024. Semiología, semiotecnia y propedéutica de los bovinos. Nicaragua, Managua.Págs.61-68.

42. Rivera, L. M., Jiménez, P. C., & Duarte, A. R. (2021). *Evaluación fisiológica y bioquímica del estrés en ganado bovino: enfoques actuales*. Revista Iberoamericana de Ciencias Veterinarias, 42(2), 78–86.

43. Roche, J. R., Kay, J. K., & Meier, S. (2025). *Body condition score and its relationship with milk production and reproductive efficiency in dairy cows*. New Zealand Veterinary Journal, 73(2), 112–121.

44. Rodríguez, L. M., Fernández, J. P., & Martínez, R. A. (2023). *Mecanismos neuroendocrinos y fisiopatología del estrés en bovinos lecheros*. Revista Latinoamericana de Ciencias Veterinarias, 39(1), 88–101.

45. Romero, M. (2021). *Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne*. Biosalud, 10(1), 71–87.

46. Ruiz. J 2002.Técnico en ganadería pp 77 – 79 Edit. Cultural.

47. Salazar, V. M., Pérez, C. A., & Gómez, D. F. (2022). *Prácticas higiénico-sanitarias en el ordeño y su relación con la calidad de la leche bovina*. Revista Latinoamericana de Producción Animal, 30(1), 45–54.

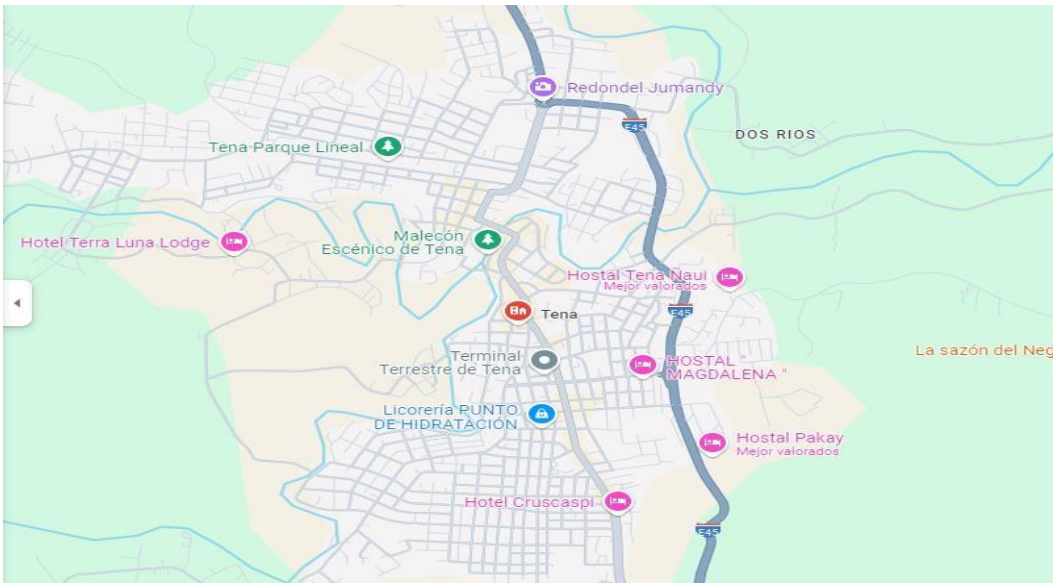
48. Sánchez, R. M., López, J. F., & Cabrera, E. D. (2022). *Evaluación comparativa entre ordeño manual y mecánico en sistemas de producción lechera de pequeña escala*. Revista Agropecuaria Latinoamericana, 34(1), 65–73.

49. Tilden, P- 2020. Alimentación y nutrición del ganado vacuno para carne. Editorial Acriba. Zaragoza, España,

50. Weissenböck, J. L., Mendes, S., & Green, J. (2024). *Acute ACTH and cortisol responses to exercise in performance horses*. Equine Veterinary Journal, 56(2), 123–131. https://doi.org/10.1111/evj.13925

ANEXOS

Anexo 1. *Mapa de ubicación de la investigación.*



COORDENADAS GPS	
Latitud	-1.43333
Longitud	-77.9833

Anexo 2. *Resultados de análisis.*

HELP VET

Help vet

Informe de Resultados

Fecha de toma de muestras: 03/02/2025
Fecha de inicio de análisis: 03/02/2025
Fecha de emisión de análisis: 04/02/2025

Propietario(1)**:** Marlon Chuquirima
Nombre/ Identificación(1)**:** 7670
Provincia(1)**:** Pastaza **Cantón**(1)**:** Puyo **Parroquia**(1)**:** 10 de Agosto
Sector(1)**:** 10 de Agosto **Remite**(1)**:** Marlon Chuquirima **Telf.**(1)**:** 099 273 9307
Especie(1)**:** Bovino
Total de muestras(1)**:** 1 **Tipo de muestra:** Sangre Entera

EXAMEN SOLICITADO: Cortisol basal (bovino)

Técnica: Examen por inmunoensayo fluorecente (IF)

Código	Identificación(1)	Raza(1)	Sexo(1)	Edad (1)	Resultado µg /dl
030225-2	7670	xx	xx	3 a	4.85

(1) Información suministrada por el cliente.

Nomenclatura:

Rangos de referencia a interpretar:

1– 16 µg/dL

Observaciones:
Las muestras se mantuvieron en refrigeración y fueron transportadas en cadena de frío.

Nota

1. Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.
2. HELP VET. No es responsable de la información suministrada por el cliente que pueda afectar la validez de los resultados

Responsable:



Anexo 3. *Base de datos.*

R: Raza; **2**. **E:** Edad; **3. C/C:** Condición Corporal **4. C/F:** Constantes Fisiológicas**; 5. CPC:** Concentración Plasmática de Cortisol**; 6. A/E:** Análisis Económico

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

No	**Procedencia**	Variable **1** **R**	**Variable 2** **E**	**Variable 3** **C/C**	**Variable 4** **C/F**	**Variable 5** **CPC**	**Variable 6** **A/E**
1	Finca Faconda	Holstein	5 años	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	4.59 µg/dl	7 l/día x 0.40 **$ 2.80**
2	Finca Faconda	Holstein	4 años	5/5 *(Muy gorda)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
3	Finca Faconda	Holstein	4 años	4/5 *(Gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4.59 µg/dl	9 l/día x 0.40 **$ 3.60**
4	Finca Faconda	Holstein	2 años	5/5 *(Muy gorda)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	5.47 µg/dl	10 l/día x 0.40 **$ 4.00**
5	Finca Faconda	Holstein	2 años	4/5 *(Gorda)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
6	Finca Faconda	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
7	Finca Faconda	Holstein	1 año	4/5 *(Gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
8	Finca Faconda	Holstein	1 año	4/5 *(Gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
9	Finca Faconda	Holstein	1 año	3/5 *(Magra)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
10	Finca Faconda	Jersey	1 año	4/5 *(Gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.40 **$ 3.20**
11	Finca Paul Carrillo	Holstein	2 años	5/5 *(Muy gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.30 **$ 3.00**
12	Finca Paul Carrillo	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	4.59 µg/dl	9 l/día x 0.30 **$ 2.70**
13	Finca Paul Carrillo	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	9 l/día x 0.30 **$ 2.70**
14	Finca Paul Carrillo	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	9 l/día x 0.30 **$ 2.70**
15	Finca Paul Carrillo	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4.59 µg/dl	9 l/día x 0.30 **$ 2.70**
16	Finca Paul Carrillo	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.30 **$ 3.00**
17	Finca Paul Carrillo	Holstein	1 año	3/5 *(Magra)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4.59 µg/dl	9 l/día x 0.30 **$ 2.70**
18	Finca Paul Carrillo	Jersey	4 años	4/5 *(Gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.30 **$ 2.40**
19	Finca Paul Carrillo	Jersey	3 años	3/5 *(Magra)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	5.47 µg/dl	9 l/día x 0.30 **$ 2.70**
20	Finca Paul Carrillo	Jersey	1 año	4/5 *(Gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.30 **$ 2.00**

21	Finca Santa Marianita	Holstein	3 años	4/5 *(Gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	4.59 µg/dl	13 l/día x 0.40 **$ 5.20**
22	Finca Santa Marianita	Holstein	3 años	3/5 *(Magra)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	4.59 µg/dl	12 l/día x 0.40 **$ 4.80**
23	Finca Santa Marianita	Holstein	2 años	5/5 *(Muy gorda)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	14 l/día x 0.40 **$ 5.60**
24	Finca Santa Marianita	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	5.47 µg/dl	12 l/día x 0.40 **$ 4.80**
25	Finca Santa Marianita	Holstein	1 año	4/5 *(Gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	5.47 µg/dl	12 l/día x 0.40 **$ 4.80**
26	Finca Santa Marianita	Holstein	1 año	3/5 *(Magra)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	12 l/día x 0.40 **$ 4.80**
27	Finca Santa Marianita	Jerhol	2 años	4/5 *(Gorda)*	38.1°C- 70 lpm -26 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.40 **$ 4.00**
28	Finca Santa Marianita	Jerhol	2 años	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	4.59 µg/dl	11 l/día x 0.40 **$ 4.40**
29	Finca Santa Marianita	Jerhol	1 año	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	6.19 µg/dl	11 l/día x 0.40 **$ 4.40**
30	Finca Santa Marianita	Jersey	2 años	4/5 *(Gorda)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.40 **$ 4.00**
31	Finca Bella Vista	Holstein	4 años	4/5 *(Gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.35 **$ 2.80**
32	Finca Bella Vista	Holstein	3 años	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.35 **$ 3.50**
33	Finca Bella Vista	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.5°C- 68 lpm -29 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.35 **$ 3.50**
34	Finca Bella Vista	Holstein	2 años	3/5 *(Magra)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	4.59 µg/dl	10 l/día x 0.35 **$ 3.50**
35	Finca Bella Vista	Holstein	1 año	5/5 *(Muy gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	6.19 µg/dl	8 l/día x 0.35 **$ 2.80**
36	Finca Bella Vista	Jersey	2 años	4/5 *(Gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	5.47 µg/dl	8 l/día x 0.35 **$ 2.80**
37	Finca Bella Vista	Jersey	2 años	4/5 *(Gorda)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	5.47 µg/dl	9 l/día x 0.35 **$ 3.15**
38	Finca Bella Vista	Jersey	2 años	4/5 *(Gorda)*	38.8°C- 69 lpm -32 rpm	5.47 µg/dl	10 l/día x 0.35 **$ 3.50**
39	Finca Bella Vista	Jersey	2 años	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	4.59 µg/dl	8 l/día x 0.35 **$ 2.80**
40	Finca Bella Vista	Jersey	1 año	3/5 *(Magra)*	39.1°C- 68 lpm -31 rpm	6.19 µg/dl	9 l/día x 0.35 **$ 3.15**

Anexo 4. *Fotografías.*



HATO GANADERO



ALIMENTACIÓN



ORDEÑO MECANICO



TOMA DE FRECUENCIA CARDIACA



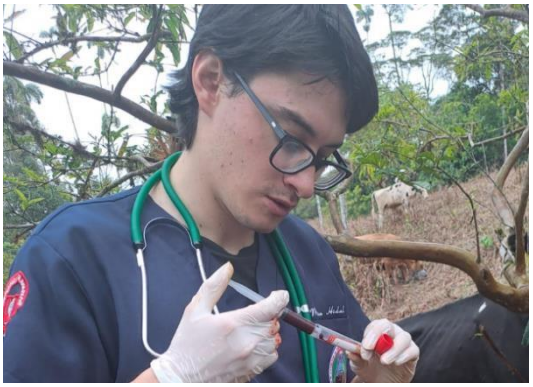
TOMA DE TEMPERATURA RECTAL



UBICACIÓN VENA YUGULAR



PUNCIÓN DE LA VENA YUGULAR



ENVASE DE MUESTRA



ROTULACIÓN DE MUESTRA



ENVÍO DE MUESTRAS



VISITA DE CAMPO



VISITA DEL TRIBUNAL

Anexo 5. *Glosario de términos técnicos.*

ACTH: Hormona Adrenocorticotrópica producida por la hipófisis que estimula la liberación de cortisol por parte de las glándulas suprarrenales. Su secreción está regulada por la hormona liberadora de corticotropina *(CRH).*

ADRENALINA: Hormona y neurotransmisor secretado por la médula suprarrenal que incrementa la presión arterial, la frecuencia cardíaca y moviliza energía durante la respuesta al estrés agudo.

BIENESTAR ANIMAL: Estado físico y emocional en el que el animal se encuentra libre de sufrimiento, con acceso a condiciones que permiten expresar comportamientos naturales y satisfacer sus necesidades fisiológicas y sociales.

CATECOLAMINAS: Grupo de hormonas producidas por la médula suprarrenal *(adrenalina, noradrenalina y dopamina),* que actúan como mediadores del estrés, aumentando la actividad del sistema nervioso simpático y la disponibilidad de energía.

CENTRIFUGACIÓN: Técnica de laboratorio utilizada para separar los componentes de una muestra líquida mediante la aplicación de una fuerza centrífuga. En análisis de cortisol, se usa para separar el suero o plasma de la sangre.

CONFORT TÉRMICO: Estado en el que el animal puede regular su temperatura corporal eficientemente, sin sufrir estrés térmico, lo que favorece su bienestar y productividad.

CONTROL NEGATIVO: Muestra que no contiene el analito objetivo *(por ejemplo, cortisol),* utilizada para verificar la especificidad de la prueba y descartar reacciones inespecíficas.

CONTROL POSITIVO: Muestra conocida que se utiliza en una prueba ELISA para confirmar que el procedimiento funciona correctamente y se pueden detectar los niveles esperados del analito.

CORTISOL: Glucocorticoide producido por la corteza suprarrenal en respuesta al estrés. Participa en la regulación del metabolismo, la función inmune y el equilibrio de la glucosa en sangre. Es un biomarcador clave para evaluar el nivel de estrés.

CRH: Hormona Liberadora de Corticotropina sintetizada por el hipotálamo que estimula la producción de ACTH en la hipófisis, iniciando así la activación del eje HPA.

EJE HPA: Hipotálamo-Pituitaria-Adrenocortical. Sistema neuroendocrino que regula la respuesta al estrés mediante la liberación coordinada de CRH, ACTH y cortisol. Su activación es clave para mantener la homeostasis ante situaciones estresantes.

ELISA: Técnica de laboratorio utilizada para detectar y cuantificar sustancias como hormonas, anticuerpos o proteínas en muestras biológicas. En este caso, se utiliza para medir los niveles de cortisol en sangre. El método se basa en la unión específica antígeno-anticuerpo, seguida de una reacción enzimática que genera un cambio de color proporcional a la concentración del analito.

ESTRÉS: Respuesta adaptativa del organismo frente a estímulos que amenazan su equilibrio interno. Puede ser agudo *(corto plazo)* o crónico *(prolongado)*, dependiendo de la duración y persistencia del estresor.

ESTRÉS AGUDO: Respuesta fisiológica inmediata a un estímulo estresante de corta duración. Puede ser beneficiosa para enfrentar retos puntuales.

ESTRÉS CRÓNICO: Activación prolongada y sostenida del sistema de respuesta al estrés, debido a factores persistentes o repetitivos que superan la capacidad adaptativa del organismo.

ESTRESOR: Cualquier factor físico, químico, biológico o ambiental capaz de inducir una respuesta de estrés en el organismo.

EUTROFIZACIÓN METABÓLICA: Conjunto de alteraciones metabólicas inducidas por el estrés, que afectan negativamente la eficiencia productiva del animal.

GLÁNDULAS SUPRARRENALES: Glándulas endocrinas ubicadas sobre los riñones, responsables de producir hormonas como el cortisol, la adrenalina y la aldosterona.

HIPÓFISIS: Glándula endocrina situada en la base del cerebro que regula múltiples funciones hormonales a través de la secreción de hormonas tróficas, incluyendo la ACTH.

HIPOTÁLAMO: Estructura cerebral que regula funciones vegetativas como la temperatura, el apetito y el sueño. Controla la secreción hormonal de la hipófisis y es esencial en la respuesta al estrés.

HOMEOSTASIS: Capacidad del organismo para mantener condiciones internas estables frente a variaciones externas, asegurando el funcionamiento fisiológico normal.

IMPACTO EN LA PRODUCCIÓN: Disminución en los parámetros productivos del animal (como producción de leche, reproducción o crecimiento), consecuencia del estrés crónico o condiciones adversas.

INMUNOSUPRESIÓN: Disminución de la respuesta del sistema inmunológico, frecuentemente causada por niveles elevados y sostenidos de cortisol, lo cual aumenta el riesgo de enfermedades.

NEUROENDOCRINO: Relativo a la interacción entre el sistema nervioso y el sistema endocrino en la regulación de funciones como el estrés, el metabolismo y la reproducción.

NORADRENALINA: Hormona y neurotransmisor liberado por las neuronas simpáticas y la médula suprarrenal. Participa en la regulación de la presión arterial y la respuesta de lucha o huida.

REACTIVO: Sustancia química utilizada en procedimientos de laboratorio para provocar una reacción específica. En ELISA, los reactivos incluyen anticuerpos, sustratos y enzimas.

RESPUESTA DE LUCHA O HUIDA: Mecanismo de defensa del organismo activado por el sistema nervioso simpático ante una amenaza, preparando al cuerpo para reaccionar rápidamente.

SANGRE TOTAL: Muestra de sangre que no ha sido sometida a centrifugación ni separación de sus componentes. Generalmente se recoge en tubos con o sin anticoagulantes, según el análisis que se vaya a realizar.

SISTEMA SIMPÁTICO-ADRENOMEDULAR: Sistema que responde rápidamente al estrés mediante la activación del sistema simpático y la liberación de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) desde la médula suprarrenal.

SUERO: Parte líquida de la sangre que se obtiene después de la coagulación y centrifugación. Es una de las matrices más utilizadas para medir cortisol mediante ELISA.

TUBO VACUTAINER: Tubo estéril utilizado para recolectar muestras de sangre. Puede contener anticoagulantes *(para obtener plasma)* o no (para obtener suero), dependiendo del análisis a realizar.