UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# Indicadores de inmunidad pasiva y activa en neonatos bovinos de madres vacunadas y no vacunadas con una bacterina comercial

**María Inés Castrillón Rodríguez**

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Coordinación General de Posgrado

Palmira, Colombia

2020

# Indicadores de inmunidad pasiva y activa en neonatos bovinos de madres vacunadas y no vacunadas con una bacterina comercial

**María Inés Castrillón Rodríguez**

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencias Agrarias**

Director (a):

MV, MSc, DSc Rómulo Campos Gaona

Línea de Investigación:

Producción Animal Tropical

Grupo de Investigación:

Conservación, Mejoramiento y Utilización del Ganado Criollo Hartón del Valle y otros Recursos Genéticos Animales en el Suroccidente Colombiano

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Coordinación General de Posgrados

Palmira, Colombia

2020

*Agradezco a Dios por bendecirme la vida y a la de todos los que están a mí alrededor.*
*A mis padres por su gran ejemplo de unión en familia.*
*A mis tíos y primas que incondicionalmente me han brindado su apoyo.*
*A mi esposo que sin medir distancia y a pesar de las adversidades siempre me ha acompañado dándome aliento.*
*A mi profesor por brindarme sus conocimientos y darme el apoyo necesario para culminar esta etapa de mi maestría.*
*A todos muchas gracias.*

# Agradecimientos

A mi familia y esposo por todo su apoyo y cariño, pero especialmente a mi padre por ser ese ejemplo de perseverancia y lucha de día a día y aunque a pesar de las adversidades nunca ha desfallecido.

Al profesor Rómulo Campos, porque desde pregrado me abrió las puertas y me brindó todos sus conocimientos y además por brindarme el apoyo que necesitaba para culminar esta etapa de mi maestría.

Al grupo de investigación “Conservación, Mejoramiento y Utilización del Ganado Criollo Hartón del Valle y Otros Recursos Genéticos Animales en el Sur Occidente Colombiano” por su confianza y apoyo durante todo mi proceso académico.

A Erika Hernández, por toda su gestión administrativa para la financiación de este proyecto.

A Katherine García, por brindarme apoyo y sus conocimientos durante la etapa de análisis en el laboratorio.

Al administrador y el personal de la finca “Chiquique” por abrirme las puertas y brindarme el apoyo necesario para que la fase experimental del proyecto saliera adelante.

Finalmente, a mis compañeros y amigos de mi maestría.

# Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta inmune y la trasferencia de inmunidad pasiva a través de indicadores serológicos analizados por Inmunodifusión radial (RID) y calidad de calostro en el trópico bajo, luego de la aplicación de tres tratamientos en vacas en el último tercio de la gestación con sus respectivas crías. Se suministraron vacunas bacterianas en las vacas antes del parto y en un grupo de terneros el primer día posparto. Veintiún vacas gestantes fueron distribuidos en tres grupos, T1: control; T2: aplicación de una dosis de vacuna bacteriana comercial 30 días antes del parto, T3: aplicación de vacuna 30 y 15 días antes del parto, más un T4 (n=7) para las crías al cual se les aplicó la vacuna a las 24 horas de vida. El período experimental para las vacas estuvo comprendido 30 días preparto y un día posparto. Para los terneros a las 24±6 y 72 horas de nacimiento. Se obtuvieron variables que permitieron analizar la calidad del calostro y la transferencia de inmunidad pasiva. En las vacas la calidad de calostro, la PT, albúmina, globulina, ALT, cortisol, no presentaron diferencias estadísticas significativas en ninguno de los tratamientos mientras que AST si presentó diferencia en el T3. En los terneros la IgG e IgM, no presentaron diferencias significativas ni en los tratamientos ni en las horas, la IgM y la albúmina presentaron diferencias significativas en los tratamientos mientras globulinas y proteína total presentaron diferencias significativas en las horas. No se encontró falla en la transferencia de inmunidad pasiva.

**Palabras clave**: Inmunidad pasiva, terneros, RID, calostro.

# Abstract

The aim of this study was to evaluate the immune response and passive immunity transfer through serological indicators analyzed by Radial Immunodiffusion (RID) and colostrum quality in the low tropics, after the application of three treatments in cows in the last third of pregnancy with their respective calves. Bacterial vaccines were given in cows before calving and in a group of calves on the first postpartum day. 21 pregnant cows from the low tropic were distributed in three groups, T1: control, T2: application of a dose of commercial bacterial vaccine 30 days before parturition, T3: application of vaccine 30 and 15 days before parturition, plus a T4 (n=7): application of vaccine in calves at 24 hours post birth. The experimental time for cows was 30 days pre-parturition and one day post-parturition, for calves was 24±6 and 72 hours post-birth. The variables allowed to analyze colostrum quality and passive immune transference. In cows the colostrum quality, the TP, albumin, ALT and cortisol did not show statistical differences within treatments, while AST was different at T3. In calves the IgG and IgM did not show statistical differences within treatments nor hours post-birth, the IgM and albumin were statistically different in within treatments, meanwhile globulins and total protein were statistically different at the hours post-birth. There was no failure in passive immune transference.

**Keywords**: passive immune, calves, RID, colostrum.

# Contenido

**Resumen** ..... **VII**

**Lista de figuras** ..... **XI**

**Lista de tablas** ..... **XII**

**Introducción** ..... **1**

**Objetivos** ..... **7**

**1. 1. Marco Referencial** ..... **9**
1.1 Estado actual de la ganadería en el Valle del Cauca ..... 9
1.2 Principales causas de mortalidad en terneros ..... 10
1.3 Cargas patógenas en terneros asociados a las madres ..... 11
1.4 Síntesis de calostro ..... 12
1.4.1 Lactogénesis I. ..... 12
1.5 Propiedades inmunomoduladoras del calostro ..... 14
1.5.1 Las inmunoglobulinas (Igs) ..... 16
1.5.2 La lactoferrina ..... 17
1.5.3 Lisozima ..... 18
1.5.4 La lactoperoxidasa (Lp) ..... 18
1.6 Desarrollo del sistema inmunitario ..... 19
1.6.1 Inmunidad innata ..... 19
1.6.2 Inmunidad pasiva ..... 20
1.6.3 Inmunidad adquirida ..... 22
1.7 Transferencia de inmunidad pasiva ..... 23
1.7.1 Métodos de valoración de la TIP ..... 24
1.8 Retos externos que promueven inmunogenicidad ..... 26
1.9 Vacunas usadas para estimulación del sistema inmune en terneros ..... 27
1.10 Métodos de detección de Igs ..... 30
1.10.1 La inmunodifusión radial ..... 30
1.10.2 Inmunoabsorción enzimática (ELISA) ..... 30

**2. Materiales y Métodos** ..... **33**
2.1 Localización ..... 33
2.2 Sujetos experimentales y tratamientos ..... 33
2.3 Manejo de los animales ..... 34
2.4 Recolección de muestras en campo ..... 34
2.5 Análisis de muestras ..... 35
2.6 Diseño experimental ..... 36

**3. Resultados y discusión** ..... **38**

3.1 Indicadores proteicos en terneros, calidad del calostro y transferencia de Inmunidad pasiva ..... 38
3.1.1 Proteína total ..... 38
3.1.2 Albúmina en terneros ..... 39
3.1.3 Globulina en terneros ..... 40
3.1.4 Calidad del Calostro y calostrometría ..... 42
3.1.5 Transferencia de inmunidad pasiva (TIP) ..... 43
3.2 Respuesta inmunitaria determinada a través de la concentración de inmunoglobulinas ..... 45
3.2.1 Ig A ..... 46
3.2.2 Ig G ..... 47
3.2.3 Ig M ..... 47
3.3 Indicadores de variables metabólicas asociadas a compuestos proteicos en las madres ..... 51
3.3.1 Proteína total en vacas ..... 52
3.3.2 Albúmina en vacas ..... 53
3.3.3 Globulina en vacas ..... 54
3.4 Indicadores bioquímicos de la función hepática y del cortisol en vacas sometidas a procesos vacunales o no. ..... 57
3.4.1 Alanina Aminotransferasa (ALT) ..... 58
3.4.2 Aspartato aminotransferasa (AST) ..... 59
3.4.3 Cortisol ..... 60

**4. Conclusiones y recomendaciones ..... 62**
4.1 Conclusiones ..... 62
4.2 Recomendaciones ..... 63

**A. Anexo: Metabolitos proteicos para cada uno de los tratamientos en las diferentes horas de toma de muestra en los terneros, DE (Desviación estándar) ..... 65**

**Referencias ..... 66**

# Lista de figuras

**Pág.**

**Figura 1-1:** Estructura General de IgG..... 17
**Figura 3-1:** Comportamiento de proteína total, albúmina y globulinas para los terneros en los cuatro tratamientos experimentales a las 24±6, 48 y 72 horas de vida. A. Concentración de Proteína Total (g/L), B. Albúmina (g/L), C. Globulinas (g/L). ..... 41
**Figura 3-2:** Calidad del (calostro mg/ml) determinada por medio de Calostrometría en los tres tratamientos experimentales en madres vacunadas y no vacunadas. ..... 43
**Figura 3-3:** Comportamiento de las inmunoglobulinas, en los tres momentos de muestreo (24±6, 48 y 72 horas) para los terneros evaluados de cuatro tratamientos vacunales en madres o en neonatos. A. IgA (mg/dl), B. IgG (mg/dl), C. IgM (mg/dl). ..... 48
**Figura 3-4:** Comportamiento de los metabolitos proteicos para las vacas en los tres tratamientos a las 24 horas posparto. Concentración en g/L de: A. Proteína total, B. Albúmina y C. Globulinas. ..... 55
**Figura 3-5:** Comportamiento de las enzimas indicadores de función hepática y del cortisol en las vacas sometidas a los tres tratamientos. Determinación única efectuada a las 24 horas posparto. Concentración de A. ALT (U/L), B. AST (U/L), C. cortisol (nmol/L). 61

# Lista de tablas

**Pág.**

**Tabla 1-1:** Concentración de los principales componentes del calostro comparados con la leche. 15
**Tabla 1-2:** Adyuvantes inmunitarios y el tipo de respuesta ..... 27
**Tabla 2-1:** Relación de Metabolitos evaluados, Técnicas analíticas y marca comercial empleada. 35
**Tabla 3-1:** Significancia estadística para el Análisis de varianza (efectos principales e interacción) de metabolitos proteicos en terneros nacidos de madres vacunadas y de no vacunadas. 40
**Tabla 3-2:** Coeficientes de correlación y significancia estadística para indicadores de Transferencias de Inmunidad Pasiva en terneros analizados mediante refractómetro .... 44
**Tabla 3-3:** Significancia estadística del análisis de varianza para los efectos principales (tratamiento, hora) y de la interacción tratamiento*hora para la variables inmunoglobulinas en terneros sometidos a cuatro tratamientos vacunales. ..... 46
**Tabla 3-4:** Medía matemática y significancia estadística para el análisis de varianza del efecto tratamiento sobre indicadores proteicos en las madres vacunadas y no, del proceso experimental..... 51
**Tabla 3-5**: Medía matemática y significancia estadística para el análisis de varianza del efecto tratamiento sobre indicadores de la función hepática y sobre el cortisol en las madres vacunadas y no del proceso experimental..... 58

# Introducción

Los terneros nacen sin anticuerpos y para su protección, dependen de la trasferencia de las inmunoglobulinas (Igs) de la madre presentes en el calostro, este proceso es conocido como transferencia de inmunidad pasiva (TIP) (Elizondo-Salazar, 2015). Debido a esta condición, cuando dicha trasferencia no es adecuada, implica aumento en la incidencia de enfermedades en los terneros recién nacidos, afectando negativamente la rentabilidad de la explotación ganadera, por lo tanto, para disminuir la incidencia de enfermedades, el calostro es necesario para una adecuada TIP (Godden et al., 2019). Como resultado, una adecuada TIP permite al neonato defenderse frente a enfermedades infecciosas mientras que su sistema inmunitario llegué a ser funcional (Elizondo-Salazar, 2015).

Al-Alo, Nikbakht Brujeni, Lotfollahzadeh, Moosakhani, & Gharabaghi, (2018), mencionan que “La TIP de la madre a la descendencia a través del calostro fue mencionada por primera vez por Ehrlich en 1892; y poco después del nacimiento, debido a los cambios inmediatos en el intestino del rumiante, la mayoría de la absorción de anticuerpos del calostro ocurre durante las primeras 24 horas de vida”.

Una adecuada TIP, depende de una buena concentración de Igs en el calostro, de este modo una apropiada concentración de Igs en el calostro se considera > 100 mg/ml (Godden et al, 2019). Las Igs más abundantes son la IgG seguida por la IgA y la IgM, y los terneros son capaces de absorber Igs del calostro por un periodo limitado de tiempo después del nacimiento, siendo más eficaz en las primeras 12 horas de vida, en terneros normales la absorción de IgM se detiene a las 16 h, la de IgA a las 22 h y la de IgG a las 30 h, aproximadamente después del nacimiento (Campos Gaona et al., 2011; Elizondo-Salazar, 2015). La falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP) constituye un problema económico, de salud pública y de bienestar animal porque es responsable de una mayor prevalencia de enfermedad, un período de cría más largo y un mayor uso de antimicrobianos en los terneros (Al-Alo et al., 2018; McGee & Earley, 2019).

Investigaciones realizadas por Belli et al., (2018), indican que el desarrollo del sistema inmunitario en el ternero, para alcanzar su estado funcional es un proceso lento y los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos y la función de los neutrófilos polimorfonucleares alcanzan concentraciones estables en los primeros 6 meses de vida. Por otro lado, las inmunoglobulinas adquiridas del calostro están prácticamente ausentes de la circulación aproximadamente a los 21 días de edad.

Según Hulbert & Moisá, (2016), indican que "Reportes recientes de NAHMS (Sistema nacional de seguimiento zoosanitario de los Estados unidos) revelan que 1 de cada 3 terneros experimentan enfermedades entéricas. El síndrome de diarrea neonatal es la enfermedad más común que se presenta en los terneros de menos de 15 días y es una causa importante de disminución de la productividad y de las pérdidas económicas para la industria ganadera en todo el mundo. La tasa de morbilidad oscila entre el 25 y el 50% y la mortalidad se sitúa entre el 2 y el 10%". En Colombia, las altas tasas de morbimortalidad están asociadas a diarrea neonatal con incidencia del 50,9% en las primeras dos semanas en un estudio en 620 individuos para Cundinamarca (Pardo Mora, 2012), y para el Valle del Cauca se ha reportado que el 61% y el 48% de las muertes en la fase de cría corresponden a diarrea en los sistemas intensivos de producción de leche y doble propósito respectivamente, informados en una encuesta dinámica realizada en 48 hatos ganaderos (Carvajal et al., 2011), lo cual indica que la enfermedad es de gran importancia para el país.

Trabajos realizados por Baquero-Parrado, (2012); Cho & Yoon, (2014), mencionan que es "común que la diarrea neonatal sea más el resultado de una infección combinada de diferentes enteropatógenos que la infección con un solo agente, entre los principales patógenos están la *Escherichia coli* enterotoxigénica cepa F5 (K99) y F41 y la *E. Coli* Veteroxigenica (O157:H7) y otros patógenos tales como *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium muris*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fecalis*, *Giardia spp*., *Salmonella enterica* serovares *dublín* y t*yphimurium"* que infectan las células epiteliales del intestino ocasionando diarrea. Esto, a su vez, disminuye la absorción de nutrientes esenciales y conduce a la pérdida de peso (Tóthová, Nagy, Kováč, & Nagyová, 2016) y deshidratación (Athanasiou, Katsoulos, Ziogas, Kassab, & Polizopoulou, 2019).

Actualmente, existen en el mercado diversidad de vacunas que pueden ayudar a prevenir las diarreas neonatales (Arroyo, 2017), pero la forma en que son utilizadas no es la más adecuada ya que en muchas regiones se vacunan a los terneros en la primera semana de vida, y estos son incapaces de desarrollar anticuerpos debido a que la ingestión de Igs maternas inhiben la capacidad para desarrollar sus propias defensas inmunes en un proceso biológico conocido como anticuerpos en fase materna -IFOMA, de las siglas en inglés de “In face of maternal antibody”-, el cual ocurre cuando al vacunar existen anticuerpos maternos circulantes (Chamorro et al., 2016). Además las vacas antes del parto presentan altas concentraciones de estrógenos y cortisol, los cuales generan efectos inmunosupresores en el ternero después del nacimiento por lo cual dependen únicamente de los anticuerpos que les trasmita el calostro (Chase et al., 2008).

Para asegurar la óptima calidad del calostro producido por las vacas, además de su condición nutricional y el estado sanitario, es recomendable la vacunación durante la gestación; así se aumenta la producción y el paso de anticuerpos de la sangre de las vacas al calostro (Fariñas Guerrero, 2006). Así mismo, se ha demostrado que la protección inmune que producen las vacas mediante la aplicación de vacunas que contienen cepas atenuadas de *Escherischia Coli*, es transmitida eficientemente a los terneros mediante el consumo de calostro en las primeras horas de vida (Rabinovitz et al., 2012).

Finalmente, en el Valle del Cauca, revisando con profesionales de campo, se encontró que la aplicación de biológicos se siguen realizando en el neonato con el fin de disminuir las afecciones respiratorias y digestivas, en algunos casos siguiendo las recomendaciones de los laboratorios productores, sin tener en cuenta el desarrollo del sistema inmune del neonato, ni el tipo de biológico utilizado; lo cual motivo en los profesionales de campo asociados a la Cooperativa de ganaderos del valle COGANCEVALLE, la necesidad de desarrollar un trabajo que permitiera evidenciar si la aplicación de vacunas es o no efectiva como proceso de prevención de afecciones respiratorias y diarreicas que afectan los procesos de cría y levante en núcleos de producción que la cooperativa atiende.

# Planteamiento del problema

Las altas tasas de morbimortalidad en los terneros durante el primer mes de vida están asociadas a fallas en la transferencia de inmunidad pasiva, desnutrición, problemas infecciosos y digestivos. Como consecuencia de la FTIP, se presentan disturbios de salud, siendo la diarrea la principal afección, la cual genera pérdidas económicas considerables en las explotaciones ganaderas durante la fase de cría; la forma de evitar este problema es la prevención y no el tratamiento.

Para prevenir esta situación es necesario mejorar el estatus inmunitario de las madres frente a los principales patógenos causantes de diarreas, y mediante el suministro adecuado de calostro, garantizar que la transferencia de inmunidad pasiva sea adecuada en inmunoglobulinas que puedan ser transmitidos al ternero.

Sin embargo, el manejo que actualmente le dan muchos ganaderos en el Valle del Cauca para prevenir esta situación, es la aplicación de biológicos en el neonato con el fin de disminuir las afecciones respiratorias y digestivas, siguiendo las recomendaciones de los laboratorios productores, sin tener en cuenta la edad de la vacunación y su relación con el desarrollo del sistema inmune, ni consideraciones sobre el tipo de biológico utilizado. Lo cual genera la necesidad de desarrollar estudios que permitan evidenciar si la aplicación de vacunas es o no efectiva como proceso de prevención de afecciones respiratorias y diarreicas en el periodo neonatal.

## Hipótesis

El estado inmunitario del neonato es más eficiente cuando estos provienen de vacas que han sido vacunadas con vacunas neumoentéricas en el tercio final de la gestación en comparación al estado inmunitario de los neonatos que son vacunados en los primeros días de vida y que provienen de madres que no han sido vacunadas con vacunas neumoentéricas en el tercio final de la gestación.

# Objetivos

**Objetivo general**

Evaluar el estado inmunitario en neonatos a través de la determinación de inmunoglobulinas provenientes del consumo de calostro de vacas que fueron vacunadas con vacunas neumoentéricas en el tercio final de la gestación y de la concentración circulante de las inmunoglobulinas, en los terneros vacunados el primer día posparto y nacidos de vacas no vacunadas.

**Objetivos específicos**

- Analizar la calidad del calostro y la Transferencia de inmunidad pasiva (TIP).

- Determinar la concentración de inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA en neonatos a las 24 - 48 y 72 horas de vida.

- Comparar la respuesta inmune mediante la determinación de inmunoglobulinas de vacas sometidas a vacunas con patógenos entéricos con las vacas que no se les realiza vacunación.

# 1. 1. Marco Referencial

## 1.1 Estado actual de la ganadería en el Valle del Cauca

La ganadería colombiana, a pesar de las conocidas dificultades del entorno rural en que se desarrolla, es la principal actividad en el sector agropecuario causando un gran impacto en la economía nacional; se estima que la ganadería participa con el 3,6 % de PIB Nacional, porcentaje apreciable para una actividad individual, y sobre todo para una actividad rural. Ya dentro del sector agropecuario su importancia relativa es indiscutible, con una participación del 27% del PIB agropecuario y del 64 % del PIB pecuario. La ganadería bovina, aun a pesar del crecimiento de otras actividades como la avicultura y la porcicultura, conserva el primer lugar dentro la producción pecuaria y una participación muy importante dentro de la economía rural colombiana (FEDEGAN, 2019).

Así mismo, el Instituto nacional agropecuario (ICA, 2018), menciona que “gracias a la ubicación geográfica, Colombia cuenta con gran variedad de pisos térmicos que van desde el nivel del mar hasta regiones de páramo, ello permite la explotación de diferentes razas bovinas productoras de carne, leche y doble propósito. La Población Bovina en el país está distribuida en 599.953 predios y constituida aproximadamente por 24.4 millones de animales, ubicados principalmente en los departamentos de Antioquia (11,52%), Córdoba (8,12%), Casanare (7,56%), Meta (7,39%), Caquetá (6,86%), Santander (6,05%), Cundinamarca (5,39%), Cesar (5,37%), Magdalena (5,16%) y Boyacá (4,45%) que agrupan el 67,87% de la población total nacional. De acuerdo a su vocación productiva las razas se hacen más susceptibles a una u otra enfermedad, por lo que el análisis de su ubicación, manejo y desplazamiento resulta fundamental para el diseño de estrategias de prevención y control de enfermedades”.

En el inventario ganadero para el Valle del Cauca en el año 2018, se reportaron aproximadamente 530 mil cabezas de las cuales el 10.5 % y 7.5% corresponden a terneras y terneros menores de un año respectivamente, con una participación del 2.17

% del inventario nacional, donde, existen aproximadamente 12 mil fincas ganaderas de las cuales el 80% son predios con menos de 50 animales (ICA, 2018). Según FEDEGAN, (2014) “La orientación productiva de la ganadería bovina del departamento del Valle del Cauca, se encuentra distribuida entre las actividades de doble propósito, cría y ceba (39%, 29%, 28% del hato, respectivamente), mientras que la orientación de leche abarca el 5% del hato”; y de acuerdo a los Indicadores productivos, en la fase de cría el 50% de los establecimientos ganaderos presentan baja adopción tecnológica, cuyas tasas de natalidad están por debajo del 50%, mientras que el 30% tienen tasas de natalidad entre 51% y 55%, lo cual los ubica en un nivel tecnológico medio, y solamente el 20% registra tasas de natalidad mayores a 65% (FEDEGAN, 2014).

## 1.2 Principales causas de mortalidad en terneros

La mortalidad en los terneros neonatos está asociada a varios factores entre ellos: manejo, estado nutricional, condiciones ambientales y estado inmunitario (Klein-Jöbstl et al., 2014), la combinación de estos factores determina el buen éxito de la cría. Sin embargo, la reducción de la mortalidad está orientada a la prevención de enfermedades, centrándose específicamente en la trasferencia de inmunidad pasiva y al control en la exposición a microorganismos patógenos. Una buena transferencia de inmunidad pasiva se logra con una adecuada concentración de Igs en el calostro y un consumo oportuno del mismo en las primeras horas de vida, mientras que la reducción a la exposición de microorganismos patógenos se logra realizando una adecuada desinfección e higiene del ombligo.

No obstante, debido a la incompetencia de su sistema inmunitario los terneros están expuestos a sufrir enfermedades siendo las de mayor incidencia la diarrea neonatal y las infecciones respiratorias, convirtiéndose la diarrea en la causa más importante de morbilidad y mortalidad en terneros neonatales en todo el mundo (Avendaño et al., 2010; Fruscalso, 2018; Pulido-Medellín et al., 2014; Torsein et al., 2011).

Es común que la diarrea neonatal sea más el resultado de una infección combinada de diferentes enteropatógenos que la infección con un solo agente (Baquero-Parrado, 2012),

de esta manera se considera que existen “cinco agentes enteropatógenos principales y más comunes en la diarrea neonatal: *Escherichia coli enterotoxigénica*, rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium sp*., y *Salmonella spp*; Hay otros enteropatógenos menos comunes como *E. coli verotoxigénica* (VTEC), *E.coli necrotoxigénica* (NTEC), *Giardia duodenalis*, Calicivirus y Norovirus”. Azimpour & Pourtaghi, 2016; Bednarski, Kupczyński, & Sobiech, 2015; Pardo M & Oliver E, 2012; Spitalniak, Kupczynski, Piasecki, & Zwyrzykowska, 2016 mencionan que “la transmisión de estos agentes generalmente ocurre por vía oral-oral en los primeros días de vida cuando el neonato consume calostro directamente de la madre infectada o permanece en lugares donde la vaca ha defecado”.

Los terneros son particularmente susceptibles a la diarrea causada por enteropatógenos en el período neonatal, especialmente si presentan falla en la transferencia inmunidad pasiva (Bozukluhan et al., 2017). Así mismo, La prevalencia de cada uno de los patógenos y la incidencia de la enfermedad puede variar según la ubicación geográfica, las prácticas de manejo y el tamaño del hato (Cho & Yoon, 2014; Uetake, 2013).

La incidencia de la diarrea neonatal en Colombia presenta alta variabilidad dependiendo del tipo de estudio, el objetivo de este y el tamaño poblacional estudiado, así, se han hallado tasas del 2,56% en terneros de 0 a 2 meses de vida en el departamento de Nariño, 6,8% en el departamento del Meta y altas tasas de morbimortalidad con incidencia de 37,5% en terneros de 0 a 3 meses de vida en el departamento de Antioquía y para la Sabana de Bogotá 44,9% (Pardo M & Oliver E, 2012), mientras que investigaciones realizadas por Carvajal et al., (2011) indican que en “el Valle del Cauca se ha reportado que el 61% y el 48% de las muertes en la fase de cría corresponden a diarrea en los sistemas intensivos de producción de leche y doble propósito respectivamente”.

## 1.3 Cargas patógenas en terneros asociados a las madres

Los agentes infecciosos que se transmiten de madres a crías están relacionadas principalmente con patógenos como virus, bacterias, parásitos, protozoos y micotoxinas

(Mawatari et al., 2014), dentro de los principales agentes están rotavirus tipo A (RVB-A), coronavirus (CVB), virus de la diarrea viral bovina (VDVB), *Salmonella spp*., *Escherichia coli* (K99), *Clostridium perfringe*ns tipo C, *Cryptosporidium parvum* y *Coccidia sp*. Esta forma de transmisión generalmente puede ocurrir por varias vías como: oro - nasal, a través de ella pueden ingresar bacterias de *Mycoplasma, Pasteurella y Mycobacterium*. Via fecal: se trasmiten bacterias como *E.coli, Salmonella*, protozoos como *Cryptosporidium* y rotavirus. Vía oral: a través del consumo del calostro se pueden trasmitir bacterias de *Brucella, Mycoplasma, Salmonella, Mycobacterium, Leptospira y Listeria*, en los primeros días de vida cuando el ternero ha estado con la madre infectada o permanece en (Cadavid-Betancur et al., 2014; Cho & Yoon, 2014).

## 1.4 Síntesis de calostro

El calostro se forma durante la última etapa de la gestación, cuando las células de glándula mamaria se están proliferando y diferenciándose en preparación para la lactancia; este proceso se llama colostrogénesis (McGee & Earley, 2019) que resulta en la secreción de calostro (Baumrucker et al., 2014; Stark et al., 2015). Se ha descrito que la colostrogénesis inicia por el “aumento de las concentraciones circulantes de progesterona (P4) y estradiol-17b (E2), durante la gestación y finalmente esta etapa termina cuando hay una fuerte caída de P4, un pico de E2 y un aumento en la concentración de glucocorticoides” (Stark et al., 2015). Igualmente, la colostrogénesis sucede durante las etapas posteriores al desarrollo de la glándula mamaria y se denomina como Lactogénesis I.

### 1.4.1 Lactogénesis I.

Según Baumrucker et al., (2014); Stark et al., (2015) indican que la “lactogénesis I está marcada principalmente por la presencia de inmunoglobulinas (Igs), esteroides y un rápido aumento de la prolactina. Así mismo, la concentración de Igs es influenciada por el inicio en la presencia de lactosa ya que esta molécula osmótica comienza a incorporar más agua teniendo efecto en la dilución de las Igs. Este proceso parece poner fin a la

transferencia selectiva de Igs al calostro y la inducción de grandes cantidades de componentes de la leche, este proceso se ha descrito como la transición entre la Lactogénesis I (diferenciación secretora: formación de calostro) y Lactogénesis II (activación secretora: secreción de la leche). Por lo tanto, alrededor del momento del parto y a partir de entonces, la lactosa de la leche se añade rápidamente a la secreción, dando como resultado la inclusión de más agua. El agua aumenta el volumen de calostro disminuyendo las concentraciones de los componentes del mismo".

Se citan más de cien componentes diferentes en el calostro (Godden et al., 2019) clasificados como componentes nutricionales (vitaminas, minerales, carbohidratos y proteínas), factores de transferencia, reguladores enzimáticos y compuestos inmunoprotectores; entre estos últimos resaltan las inmunoglobulinas (Igs), cuyas principales clases presentes en el calostro son tres: Inmunoglobulina G (IgG) (subclases IgG1 e IgG2) que predomina en un 80%, la Inmunoglobulina M (IgM) (12%) y la Inmunoglobulina A (IgA) con un 8 % (McGee & Earley, 2019).

La concentración de IgA, IgG e IgM ocurre durante las últimas cinco semanas de gestación cuando son concentradas por células plasmáticas en la submucosa del epitelio de la glándula mamaria (Araúz et al., 2011; Conneely et al., 2013; Hurley & Theil, 2011).

La IgG es la Igs más abundante en el calostro y se transporta a la glándula mamaria por medio de receptores específicos que se unen selectivamente a la IgG para transportarla por medio de transcapilaridad. "La IgG se mueve a través del lumen de la glándula y se pasa gradualmente al calostro. Después de un tiempo, la concentración de IgG en el calostro alcanza concentraciones 3 a 12 veces mayor que en suero sanguíneo mientras que la concentración de esta Ig se reduce en un 50% en el mismo" (Yilmaz & Kasikci, 2013).

Así mismo, Singh et al., (2011) mencionan que "la inmunoglobulina IgA y IgM también se encuentran en el calostro, aunque en cantidades mucho más pequeñas. La forma secretora de IgA, es un dímero conectado por una cadena J y la IgM es un pentámero que se une al componente secretor; tanto la IgA como IgM son sintetizados localmente por la glándula mamaria para posteriormente concentrarse en el calostro". Finalmente, se ha descrito que la "la captación y el transporte de las Igs a través de la barrera epitelial

mamaria ocurren principalmente a través de un proceso mediado por el receptor Fc. Las inmunoglobulinas se unen a receptores en las superficies basolaterales de la célula epitelial mamaria. Estos receptores son específicos para la porción Fc de la molécula de Igs, esta a su vez es unida al receptor para internalizarse a través de un mecanismo endocítico y ser transportada al extremo apical de la célula, donde se libera en el lumen alveolar de la glándula mamaria" (Hurley & Theil, 2011).

En general, el calostro se define como la primera leche secretada después del parto y contiene diversas sustancias importantes para la salud del recién nacido, principalmente, inmunoglobulinas; además, contiene citoquinas, factores de crecimiento, enzimas, inhibidores de enzimas, nucleótidos, nucleótidos y nutrientes (Godden et al., 2019; Conneely et al., 2013; McGee & Earley, 2019).

La composición del calostro varia en calidad y cantidad según la raza, el número de partos, la temporada, producción al primer ordeño, cantidad de ordeño, y la salud de la glándula mamaria (Singh et al., 2011).

## 1.5 Propiedades inmunomoduladoras del calostro

El calostro contribuye significativamente a la maduración del sistema inmunitario asociado al desarrollo del intestino y a la competencia inmune total en el primer período de la vida (McGrath et al., 2016; Vendrig et al., 2012).

El calostro tiene un papel vital en el suministro de la transferencia de inmunidad pasiva, también ayuda al desarrollo del tracto gastrointestinal puesto que tiene un efecto laxante, lo que ayuda a la eliminación de meconio desde el intestino, del mismo modo, incide en el desarrollo del sistema endocrino y modula diversas vías metabólicas, y además proporciona una fuente de energía importante al ternero para obtener la generación de calor y poder compensar la hipotermia (Reyes-Castañeda et al., 2016; Yilmaz & Kasikci, 2013).

Además de sus componentes nutritivos, el calostro posee componentes bioactivos e inmunitarios (Tabla 1) que desempeñan un papel importante en los primeros días de vida de los terneros (Hromadkova, 2018).

En los últimos años, investigaciones realizadas por Godden y colaboradores, (2019); quienes citan a McGrath et al., (2016); Yilmaz & Kasikci, (2013); Singh et al., (2011); plantean que “el calostro contiene una concentración mayor de factores antimicrobianos en comparación con la leche, por ejemplo el factor de crecimiento similar a la insulina I y II, factor de crecimiento epidérmico, interleukina, tiroxina, insulina, y prolactina se presentan en mayor cantidad en el calostro. Así mismo contiene lisozimas, lactoferrina, componentes de lactoperoxidasa y peróxido de hidrógeno que son sustancias antimicrobianas que proporcionan protección contra la infección mientras el ternero desarrolla el sistema inmune activo además se ha demostrado que los componentes del calostro benefician el desarrollo y la maduración del sistema digestivo”.

**Tabla 1-1:** Concentración de los principales componentes del calostro comparados con la leche.

| **Componente** | **Calostro Bovino (por litro)** | **Leche bovina (por litro)** |
|---|---|---|
| Materia seca | 153 – 245 g | 122 g |
| Proteina cruda | 41 – 140 g | 34 g |
| Lactosa | 27 – 46 g | 46 g |
| Grasa cruda | 39 – 44 g | 37 g |
| Ceniza cruda | 5 – 20 g | 7 g |
| IgG1 | 50 – 90 g | 0.30 – 0.40 g |
| IgG2 | 1.5 – 2 g | 0.03 – 0.08 g |
| IgA | 3.0 – 6.5 g | 0.04 – 0.06 |
| IgM | 3.8 – 6 g | 0.03 – 0.06 g |
| Lactoferrina | 1.5 – 5 g | 0.1 – 0.3 g |
| Lactoperoxidasa | 30 mg | 20 mg |
| Lisozima | 0.14 – 0.7 mg | 0.07 – 0.6 mg |
| Interleukina-1β | 840 µg | 3 µg |
| Interleukina-1ra | 5.2 µg | 27 µg |
| Interleukina-6 | 77µg | 0.15 µg |

| | | |
|---|---|---|
| Factor de necrosis factor-α | 926 µg | 3.3 µg |
| Interferon-γ | 260 µg | 0.21 µg |
| Factor de crecimiento similar a la insulina -1 | 100 – 2000 µg | < 25 µg |
| Factor de crecimiento similar a la insulina -2 | 200 – 600 µg | < 10 µg |
| Hormona del crecimiento | < 1 µg | < 0.03 µg |
| Factor de crecimiento epidérmico | 4 – 8 mg | 2 µg |
| Factor de transformación del crecimiento- β2 | 100 – 300 µg | 1 – 2 µg |

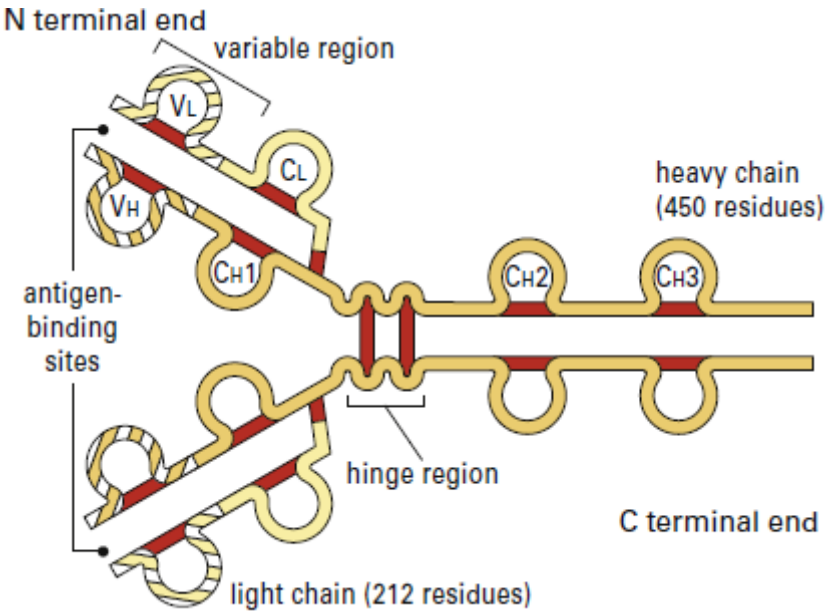
Tomado de (Boudry et al., 2008).

## 1.5.1 Las inmunoglobulinas (Igs)

Borad & Singh, (2018) mencionan que “Las Igs son un grupo de compuestos proteínicos que presentan bioactividades protectoras. Las Igs de calostro, leche y sangre son homólogas. Hay 5 Igs en la secreción de mamíferos clasificadas en base a sus estructuras y actividades biológicas; a saber IgG, IgA, IgM, IgD e IgE; el calostro bovino contiene sólo IgG, IgA e IgM. La estructura básica es idéntica en todas las Igs, la disposición estructural es una molécula en forma de Y que expone dos sitios de unión de antígenos en su región N-terminal (Fig.1). Por lo tanto, el fragmento de unión al antígeno se denomina Fab, mientras que el fragmento de cadena constante pesada restante se denomina Fc. Sin embargo, el fragmento Fc exhibe ciertas actividades biológicas, incluyendo el reconocimiento por proteínas bacterianas de unión a la Ig, la activación del complemento, el transporte a través de células epiteliales, el reconocimiento por receptores Fc en leucocitos y células epiteliales, etc. Su fragmento glicosilado es también responsable de la conformación abierta de las cadenas pesadas, facilitando así la unión de la Fc a los receptores de las estructurales de las Igs. La IgG existe como un monómero en el calostro y la leche, mientras que la IgA está presente como dímero o tetrámero formado por enlaces covalentes. La IgM existe como un pentámero de 1000 kDa formado por enlaces de disulfuro y una cadena en J. Las Igs son el principal factor antimicrobiano del calostro y comprende el 70-80% del total de la proteína del calostro,

en comparación con el 1-2% del total de la proteína de la leche. En el calostro bovino, las IgG representan casi el 80% de las Igs totales mientras que las IgA e IgM contribuyen 10-15% de las Igs totales, y la IgE e IgD están presentes en trazas. La IgG aumenta la inmunidad sistémica, proporcionando protección contra una amplia gama de toxinas bacterianas. La IgM está relacionada principalmente con la inmunidad local, mientras que la IgA tiene un papel importante en la protección contra las infecciones gastrointestinales".

**Figura 1-1:** Estructura General de IgG




El extremo terminal N de la inmunoglobulina G (IgG) se caracteriza por la variabilidad de la secuencia (V) en las cadenas pesada y ligera, denominadas regiones VH y VL, respectivamente. El resto de la molécula tiene una estructura relativamente constante (Tomado de Flaherty, 2014).

## 1.5.2 La lactoferrina

Es una proteína fijadora de hierro que "desempeña un papel importante para el desarrollo del sistema inmune innato, también es una proteína multifuncional con un potencial terapéutico de apoyo contra infecciones bacterianas, fúngicas y virales. Actualmente, la

lactoferrina es el centro de una variedad de áreas de investigación debido a sus propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas, y al potencial terapéutico resultante. Además se ha encontrado que la lactoferrina interactúa con la unión de los lipopolisacáridos, para luego activar el NFκB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) a través de la vía TLR4. Hasta la fecha, se sabe que la lactoferrina afecta la inmunidad innata mediante la activación de eventos específicos en macrófagos a través de la interacción con las vías dependientes de TLR4" (Zemankova et al., 2016).

### 1.5.3 Lisozima

Es una enzima tipo enzima muramidasa, que altera las paredes celulares bacterianas al romper el enlace glucosídico en la capa de peptidoglicano de la pared celular bacteriana lo que conduce a la mortalidad de microorganismos. Está presente en los tejidos animales en altas concentraciones y es esencial en el sistema inmunitario innato (Borad & Singh, 2018).

### 1.5.4 La lactoperoxidasa (Lp)

Es un miembro de las enzimas haem-peroxidasa. Es una glicoproteína que se encuentra naturalmente en el calostro, la leche y muchas otras secreciones. Así mismo, la lactoperoxidasa es la enzima más abundante presente en la leche; puede aislarse en una cantidad apreciable del suero mediante técnicas cromatográficas. El sistema antimicrobiano completo Lp/SCN/H2O2 fue caracterizado originalmente en la leche por Reiter y Oram en 1967 (Borad & Singh, 2018). Lp cataliza la peroxidación de aniones tiocianatos y algunos haluros en presencia de peróxido de hidrógeno, generando hipotiocianato (OSCN-), un producto de oxidación de corta vida del sistema SCN239 que destruye o inhibe el crecimiento de varias especies microbianas. El anión de hipotiocianato causa oxidación de grupos de enzimas microbianas sulfhidrilo (-SH) y otras proteínas unidas a la membrana, causando inhibición intermedia del crecimiento o muerte de microorganismos susceptibles. Por lo tanto, se considera parte importante del sistema natural de defensa del hospedero en los mamíferos (Borad & Singh, 2018).

## 1.6 Desarrollo del sistema inmunitario

### 1.6.1 Inmunidad innata

La inmunidad innata no es específica del antígeno, pero muestra especificidad molecular. Contrariamente a la inmunidad adaptativa, la inmunidad innata no depende del encuentro con un patógeno; no se incrementa por exposiciones repetidas a los mismos patógenos, ya que no tiene memoria. La inmunidad innata tiene dos compontes: el componente celular (se ocupa de cómo percibe la infección el hospedero, está compuesta por neutrófilos, macrófagos, mastocitos, células linfoides, basófilos y eosinófilos) y el componente efector o humoral (trata sobre cómo el hospedero combate la infección, compuesto por el sistema del complemento, anticuerpos naturales, proteínas de la fase aguda, péptidos antimicrobianos y lectinas solubles), mejor descritas como “Innate Immune Responses in Cattle” por Tizard (2018).

El sistema innato funciona a través de una combinación de barreras defensivas naturales principalmente piel, fagocitos y neutrófilos, células asesinas naturales, citoquinas, complementos y péptidos antimicrobianos. Debido a la naturaleza general de estos receptores, las células innatas no tienen "memoria" y no puede distinguir organismos específicos de células extrañas que no están presentes en las células hospedadoras (Gelsinger & Heinrichs, 2017).

Después de la invasión microbiana, las células centinela, como los macrófagos y las células dendríticas, secretan citoquinas, entre ellas la interleuquina-1 (IL-1) y la IL-6, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y la proteína del grupo de alta movilidad B1 (HMGB1). En el caso de una respuesta débil, la reacción inmune es local en el sitio de la infección. Un estímulo más fuerte produce efectos sistémicos en el hígado, el cerebro y la médula ósea. Los resultados incluyen un aumento en la producción de glóbulos blancos para ayudar a combatir la infección.

El sistema inmunitario innato a menudo se conoce como un antiguo sistema de defensa estructurado alrededor de receptores de reconocimiento de patrones celulares (PRRs) que reconocen estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMPs).

Los receptores tipo Toll (TLRs) son la familia más importante de PRR se unen a los patrones moleculares asociados a los microbios (MAMPs) y desencadenan respuestas inmunitarias innatas (Tizard, 2018). El TLR4 fue el primer PRR funcional de mamíferos que se identificó en los macrófagos. Se une al componente lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de las bacterias gram negativas. El estímulo de respuesta de los TLR lleva induce la secreción de citoquinas como IL-1β, IL-6, interferón gamma (IFN-γ) y TNF-α, y quimiocinas como IL-8 (Delves, 2019).

En general, Tizard (2018) describe que “el sistema inmunitario innato consta de muchos subsistemas o mecanismos diferentes, el más importante de estos subsistemas es el proceso denominado inflamación. La inflamación es un proceso por el que las células de defensa y las moléculas antimicrobianas se concentran en un lugar de invasión microbiana y de lesión tisular, estas células defensivas circulan constantemente por la sangre. La inflamación provoca su migración desde la sangre hacia los tejidos donde atacan y destruyen a los invasores”.

## 1.6.2 Inmunidad pasiva

Hailu, Ambaw, Muluneh, Singa, & Woinue, (2019); Tizard, (2009) mencionan que “la placenta del bovino es de tipo epitelocorial, esta circunstancia impide el paso de moléculas grandes como las proteínas inmunitarias de la sangre materna al feto durante la gestación, por lo tanto el feto no recibirá inmunidad pasiva durante la gestación, así, al nacer el ternero presenta una condición agamaglobulinemica” y depende solamente de los anticuerpos presentes en el calostro para recibir inmunidad pasiva (S. M. Godden et al., 2019).

Como consecuencia del tipo placentario de los bovinos, los neonatos nacen sin inmunidad humoral (inmunoglobulinas) dependientes únicamente del traspaso de

anticuerpos presentes en el calostro. De esta manera, la obtención de Igs mediante la absorción intestinal defiende a los terneros de las afecciones infecciosas hasta que su propio sistema inmunitario llegue a ser totalmente funcional (Elizondo-Salazar, 2016).

Al nacer el intestino delgado de los terneros es permeable al paso de sustancias de alto peso molecular hasta las 24 horas de vida, lo cual permite el traspaso de proteínas y anticuerpos de forma intacta desde el epitelio intestinal al torrente sanguíneo; pasado este tiempo empieza a reducir la permeabilidad hasta cerrarse por completo. Por lo tanto, la absorción de anticuerpos debe transcurrir antes de las 24 horas, preferiblemente en las primeras doce horas de vida antes de que ocurra el cierre de la barrera epitelial en el intestino. Por tal motivo, lograr un consumo adecuado consumo de calostro de buena calidad en las primeras doce horas, es el factor de manejo más importante que determina la salud y el bienestar de los terneros durante la fase de cría (Elizondo-Salazar, 2016).

En síntesis, los terneros adquieren inmunidad pasiva únicamente mediante la transferencia de inmunoglobulinas (IgM, IgA e IgG) a través del calostro bovino, en las primeras horas pos nacimiento.

Cada tipo de inmunoglobulina (Ig) tiene una función y un papel específico. La IgM es la más grande, es capaz de unirse a muchos agentes infecciosos de forma simultánea, y es el primer anticuerpo que se produce cuando se activa la respuesta inmune, está restringida al torrente sanguíneo, por lo que es importante en la defensa contra la septicemia. La IgA, está presente en altas concentraciones en las superficies del cuerpo, además, protege contra patógenos invasores al adherirse a las células mucosas que recubren los intestinos, mientras que la IgG es la más pequeña pero la más abundante de las Igs, se mueve de la sangre a los tejidos donde puede interactuar con patógenos invasores y su absorción es la más alta inmediatamente después del consumo de calostro. Estos anticuerpos les proporcionan al ternero una "memoria prestada" para la protección contra patógenos, hasta que su sistema inmunitario esté maduro lo suficiente para generar sus propios anticuerpos, en conceptos asociados a la denominada (Amelia R Woolums, 2008).

## 1.6.3 Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida (adaptativa o específica) no es congénita; se aprende. A medida que el sistema inmunitario se encuentra con sustancias extrañas (antígenos), los componentes de la inmunidad adquirida aprenden la mejor forma de atacar a cada antígeno y comienzan a desarrollar una memoria respecto a ese antígeno. La inmunidad adquirida se denomina también inmunidad específica porque dirige su ataque a un antígeno específico que se ha encontrado con anterioridad. Sus rasgos característicos son la capacidad para aprender, adaptarse y recordar (Delves, 2019).

La inmunidad adquirida necesita tiempo para desarrollarse tras entrar en contacto con un antígeno nuevo. Sin embargo, después el antígeno es recordado, y las respuestas posteriores a ese antígeno son más rápidas y más eficaces que las que se produjeron después de la primera exposición. Sobre este concepto se desarrollan las diferentes vacunas empleadas.

“Los glóbulos blancos (leucocitos) responsables de la inmunidad adquirida son: Linfocitos (células T y células B), por lo general, la respuesta inmunitaria adquirida comienza cuando los anticuerpos, producidos por los linfocitos B (células B), encuentran antígenos. Al igual que en la inmunidad innata existen dos tipos de respuesta adaptativa o específica: la humoral y el celular que se pueden activar según el tipo de microorganismo invasor. En la inmunidad humoral, los componentes principales que participan son los anticuerpos, que son producidos por los linfocitos B. Convirtiéndose así, en el principal mecanismo de defensa frente a los microorganismos extracelulares y sus toxinas. Finalmente, La inmunidad celular es llevada a cabo principalmente por linfocitos T (ayudantes CD4, células Th1 y Th2, citotóxicos CD8, y células T gamma delta (Tγδ)), siendo el principal mecanismo de defensa frente a microorganismos intracelulares, tales como virus y algunas bacterias” (Delves, 2019).

Específicamente para bovinos, Gelsinger & Heinrichs, (2017) mencionan que “el sistema adaptativo del ternero recién nacido, se ve perjudicado por las altas concentraciones de hormonas (cortisol y prostaglandina E2) y citoquinas (IL4 e IL10) producidas durante la gestación y el parto, que suprimen la función de las células T y predisponen la respuesta adaptativa hacia una respuesta $CD4^+$ y T– helper tipo 2. Desafortunadamente, las células

B neonatales, están presentes en un número muy bajo al nacer y no son completamente funcionales hasta las 4 ó 5 semanas de edad. Además del bajo número de células B, las células CD4 + T también son bajas en los terneros recién nacidos, en éstos las células T constituyen sólo el 16% mientras que en el ganado adulto representan el 30% de células T periféricas. En lugar de estas células adaptativas, los terneros neonatos tienen un mayor número de neutrófilos circulantes y células Tγδ$^{+}$".

## 1.7 Transferencia de inmunidad pasiva

Debido a la condición agamaglobulinémica de los terneros recién nacidos a causa del impedimento de paso de Igs a través de la placenta materna, estos, quedan dependientes de los anticuerpos maternos mediante el consumo de calostro. "La adquisición de Igs colostrales a través de la absorción en el intestino se llama transferencia de inmunidad pasiva" (Singh et al., 2011).

Al nacimiento el intestino delgado del ternero posee la capacidad de absorber moléculas grandes intactas, como Igs y otras proteínas, la absorción de las Igs se logra a través del receptor FcRn presente en las células intestinales y por endocitosis usando vacuolas de transporte, esta capacidad de absorción empieza a disminuir de seis a doce horas pos parto, terminando por completo a las 48 horas después del nacimiento (Chase et al., 2008; McGrath et al., 2016; J. Quigley, 2004). Además, la ingesta de calostro influye en el metabolismo, estado nutricional y en la estimulación del desarrollo y la función del tracto gastrointestinal de los terneros recién nacidos (Godden et al., 2019).

En general, un ternero debe recibir aproximadamente el 10% de su peso corporal en calostro y que este contenga al menos 50 mg/mL de IgG (el anticuerpo más prevalente en el calostro bovino) dentro de las primeras doce horas de vida, para asegurar que el neonato absorba suficiente IgG y tenga una adecuada transferencia de inmunidad pasiva. El objetivo en la alimentación con calostro es lograr una concentración de IgG en el suero >10 mg/mL (Godden et al., 2019). Los terneros que no alcanzan los 10 mg/mL experimentan una falta en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP) y están en mayor riesgo de enfermedad y muerte (Gelsinger, 2016; Godden, 2008; Singh et al., 2011). Finalmente, los valores límite de IgG en suero y proteína total (PT) más

comúnmente usados para clasificar los terneros con FTIP son 10 g/l y 5.2 g/dl respectivamente (Todd et al., 2018).

Para prevenir una FTIP se debe asegurar que el calostro suministrado es de buena calidad, para esto entre otros, se usa una herramienta como el Calostrómetro. Este, relaciona la gravedad especifica del calostro y la concentración de IgG (mg/mL), generalmente los valores aceptados como estándares de calidad son: menos de 20 mg/ml, mala calidad (lo que se indica con color Rojo); 20 a 50 mg/ml, calidad moderada (marcado con color Amarillo); y superior a 50 mg/ml (identificado con color verde), de excelente calidad (Elizondo-Salazar, 2016; Singh et al., 2011).

Últimamente, “se describen cuatro factores que contribuyen a una exitosa transferencia de inmunidad pasiva: suministrar calostro con una alta concentración de Igs (>50 g/l), ofrecer un adecuado volumen de calostro, brindarlo en las primeras dos horas de vida, y minimizar la contaminación bacterial del mismo” (Elizondo-Salazar, 2015; Homerosky et al., 2017). Convirtiéndose así en el factor de manejo más importantes en el programa de cría de terneros en cualquier ganadería (Elizondo Salazar, 2007).

### 1.7.1 Métodos de valoración de la TIP

Se han desarrollado muchas pruebas para evaluar el estado de la transferencia de inmunidad pasiva, las cuales se mencionan a continuación:

- Refractometría: Se realiza por medio del refractómetro, éste mide la refracción de la luz debido a las diferencias de densidad en el líquido que se está probando. La refracción de la luz que pasa a través del suero sanguíneo se debe generalmente a diferencias en concentración de proteínas. Los terneros recién nacidos alimentados con calostro generalmente tendrán una concentración de PT en suero mucho más alta (6,0 g de PT por 100 ml de suero) en comparación con los terneros no alimentados calostro (3,5 a 4,0 g/dl) (Quigley, 2016). Determinar la concentración de PT en suero por medio de refractometría, es una de las formas prácticas a nivel de campo para identificar aquellos animales con una FTIP, ya

que los mayores constituyentes de las proteínas séricas totales en los primeros días de vida del animal son las Igs provenientes del calostro (Elizondo-Salazar, 2015).

- Ensayo de turbidez con sulfito sódico: La prueba de turbidez de sulfito sódico es una prueba semicuantitativa de 3 pasos usando soluciones al 18, 16 y 14 % de sulfito sódico. El punto final medido de la prueba es la turbidez de las soluciones que resulta de la precipitación selectiva de las proteínas de alto peso molecular incluyendo inmunoglobulinas. De esta manera, la turbidez resultante de la solución de ensayo al 14% indica una concentración de IgG sérica mayor que la turbidez resultante con concentraciones de 16 y 18%, por lo tanto, entre mayor sea la turbidez mayor será la concentración de PT (Elsohaby, 2015).

- Prueba de turbidez de sulfato de zinc: La prueba funciona sobre el mismo principio básico que la prueba de turbidez del sulfito sódico, sin embargo, se realiza típicamente como un ensayo de dilución simple en el que se añaden 0,1 ml de suero sanguíneo a una solución de 6 ml de sulfato de zinc con una concentración de 20.8%, que luego se incuba durante 30 minutos. Aunque la prueba de turbidez con sulfato de zinc es rápida y económica, tiene limitaciones importantes incluyendo el efecto de hemólisis de la muestra y depende en exceso de la calidad del reactivo en los resultados de las pruebas (Elsohaby, 2015).

- Prueba de coagulación con glutaraldehído en sangre entera: se ha utilizado esta prueba para estimar gamma globulinas en bovinos y para la detección de FTIP en terneros. La prueba se puede realizar en condiciones de campo mediante la adición de 1,5 ml de sangre completa a una solución preparada de glutaraldehído y registrando el tiempo hasta la formación de coágulo. Si el tiempo de formación del coágulo es inferior a 5 minutos, indica adecuada TIP. La prueba de coagulación con glutaraldehído fue desarrollada para abordar los tiempo de respuesta y limitaciones económicas, pero se ha demostrado que el diagnóstico es inadecuado, ya que se han observado reacciones cruzadas con el fibrinógeno, y por lo tanto, los terneros con enfermedades inflamatorias pueden clasificarse erróneamente con una adecuada TIP (Elsohaby, 2015).

## 1.8 Retos externos que promueven inmunogenicidad

La regulación del sistema inmune con algunos agentes administrados a un organismo de forma exógena se define como "Inmunoestimulación" y los agentes utilizados en este proceso se llaman inmunoestimulantes. Los inmunoestimulantes son analizados en dos grupos principales como químico y biológico de acuerdo con su origen. Ambas clases inmunoestimulantes se pueden utilizar para el tratamiento y la protección contra diversas infecciones, también pueden ser adyuvantes que provocan respuestas inmunes más fuertes en los organismos contra las vacunas administradas (Yilmaz & Kasikci, 2013), de igual, forma muchos inmunoestimulantes son nutrientes habituales de la dieta como polisacáridos, lípidos o proteínas que han de ser suministrados en concentraciones superiores para producir efecto estimulante (Rondón Barragan, 2004).

Por su parte, (Salas Riczker, 2001) menciona que “los inmunoestimulantes son capaces de: 1) Aumentar o restablecer los mecanismos efectores o mediadores de defensa del hospedero, 2) Disminuir o restablecer los mecanismos de la reacción inmunitaria, 3) Reemplazar al efector del daño o a sus mecanismos mediadores con derivados biológicos naturales o sintéticos, o 4) Aumentar la respuesta del hospedero a las vacunas y agentes quimioterápicos” (Salas Riczker, 2001).

Los Inmunoestimulantes, son también conocidos como un grupo de compuestos que tienen el potencial de activar la respuesta inmune innata. En los últimos años se ha reconocido que estos son a menudo PAMPs, y por lo tanto activan la respuesta inmune innata de una manera similar a la de las bacterias, virus u otros patógenos, sin posibilidad de infección (Nickell et al., 2016).

Finalmente, se han estudiado y desarrollado adyuvantes para estimular el sistema inmune más rápido y con efectividad, induciendo una respuesta protectora de manera segura. Los adyuvantes ejercen influencia sobre esta respuesta en múltiples formas para activar, potenciar o modular la respuesta inmune humoral y celular (Cárdenas-Vargas et al., 2016).

**Tabla 1-2:** Adyuvantes inmunitarios y el tipo de respuesta

| Tipo de adyuvante | Composición | Respuesta inmune |
|---|---|---|
| Sales minerales | Hidróxido de aluminio Al(OH)3 fosfato de aluminio AlPO4 y el sulfato fosfato de aluminio (AlOHPO4 SO4 ) | Th2 y activación de células B, Anticuerpos. Activación de NLRP3 |
| Emulsión aceite en agua | Nanoemulsión compuesta por aceite biodegradable de escualeno, que no contiene inmunoestimulantes adicionales y está estabilizado por dos surfactantes no iónicos: el polisorbato 80 y el Span 85 | Th1 y Th2 |
| Derivado de LPS no toxico | Se obtiene por hidrólisis y purificación del LPS, derivado de la bacteria Salmonella Minnesota RC-595 (MPL) | Th1 y Th2 |
| Hidróxido de aluminio-MPL | Consiste en la combinación de dos adyuvantes, el MPL y sales de aluminio | Th1, incrementa anticuerpo |
| Emulsión aceite en agua | Combinación de una emulsión aceite en agua con escualeno, vitamina E (DL-α-tocoferol) y polisorbato. | Th1 y Th2, Anticuerpos y células de memoria |
| Particulados | Partículas pseudovirales o virosomas reconstituidos | Th1, Th2, presentación cruzada y respuesta de células B |
| Patrones moleculares asociados a patógenos | Compuesto derivado de la pared celular de las bacterias Gram-negativas | Anticuerpos , células NK, CTL Células NK, Th1 |

## 1.9 Vacunas usadas para estimulación del sistema inmune en terneros

El principio que subyace a la vacunación es exponer el sistema inmunitario del animal a un patógeno sin causar enfermedad. De este modo, una vacuna eficaz debe lograr que el sistema inmune genere anticuerpos y células T apropiados para el antígeno del patógeno.

Algunos principios son comunes a todos los métodos de inmunización activa y su uso temporal puede estar sujeto a calendarios precisos para cada vacuna. Los terneros recién nacidos están protegidos pasivamente por anticuerpos maternos y, en general, no pueden ser vacunados hasta que la inmunidad materna haya disminuido (Tizard &

Payne, 2019). De acuerdo a esto, teóricamente la vacunación en bovinos está dirigida a animales mayores de 2 meses, donde la circulación de los anticuerpos maternos ha disminuido y el ternero ya empieza a producir sus propios anticuerpos, para reducir el riesgo de IFOMA, como se ha descrito (Chamorro et al., 2016).

De acuerdo con Batista Duharte, Lastre, & Pérez, (2014); Inman & Hudson, (2009) “las vacunas se clasifican en función del agente infeccioso a partir del cual se han obtenido y frente a los agentes contra los que protegen (vacunas víricas, bacterianas y protozoarias) y también según el sistema de eliminación o atenuación de la patogenicidad: vacunas inactivadas (en las que los antígenos se combinan típicamente con adyuvantes); vacunas vivas atenuadas; y vacunas de tecnología recombinante, que pueden incluir antígenos y subunidades de organismos genéticamente”.

El intervalo entre las dosis de la vacuna depende de la memoria inmunológica del animal. La duración de esta memoria depende de múltiples factores, como la naturaleza del antígeno, el uso de organismos vivos o muertos, los adyuvantes utilizados y la vía de administración. Algunas vacunas pueden inducir una inmunidad que persiste durante toda la vida del animal. Otras vacunas pueden requerir refuerzo sólo una vez cada 2-3 años. Incluso las vacunas virales atenuadas pueden proteger a algunos animales contra enfermedades durante muchos años. Desafortunadamente, la duración mínima de la inmunidad rara vez se ha medido de manera fiable (Tizard & Payne, 2019).

En las vacunas inactivadas, los organismos muertos o los antígenos purificados pueden ser menos inmunogénicos que los vivos, debido a que son incapaces de crecer y propagarse en el hospedero, es menos probable que estimulen de manera óptima el sistema inmunitario. Los virus vivos de las vacunas, por ejemplo, infectan las células hospederas y crecen. Las células infectadas entonces procesan los antígenos virales, desencadenando una respuesta dominada por las células T citotóxicas, una respuesta Th1. Los organismos muertos y los antígenos purificados, en contraste, comúnmente estimulan una respuesta de tipo Th2. Esta respuesta de anticuerpos puede no generar una protección óptima contra algunos organismos. Como resultado, las vacunas que contienen organismos muertos o antígenos purificados generalmente requieren el uso de adyuvantes para maximizar su eficacia. Sin embargo, los adyuvantes pueden causar

inflamación local, y dosis múltiples o altas de antígeno aumentan los riesgos de producir reacciones de hipersensibilidad (Tizard & Payne, 2019).

Un evento clave que desencadena la respuesta inmunitaria es cuando el sistema inmune "percibe" la vacuna o el patógeno, la información que inicia sobre estos, está integrada por los células dendríticas y se traduce a las células T y B específicas del antígeno, para modular la potencia, la calidad y la persistencia de la respuesta inmunitaria (Pulendran & Ahmed, 2006).

De acuerdo a la clasificación de la vacuna en cuanto al agente infeccioso, y teniendo en cuenta la vacuna usada en esta investigación, el planteamiento teórico se enfoca a vacunas bacterianas muertas específicamente compuestas por *E. coli*, donde sus mecanismos de activación del sistema inmune no se han podido aclarar completamente.

Investigaciones recientes, sugieren que el receptor Toll4 (TLR4), es indispensable para el reconocimiento en vacunas con bacterias gram negativas, así mismo, se ha descrito que el componente lípido A de la pared celular del lipopolisacárido (LPS) es el patrón celular asociado a patógenos (PAMP) más importante de las bacterias gram negativas. Por lo tanto, el TLR-4 combinado con su co-receptor MD2 se une a este importante componente de la pared celular (Petzl et al., 2018).

Con respecto al reconocimiento de vacunas con bacterias gram positivas, se ha identificado que la expresión de TLR2 es indispensable para el reconocimiento y eliminación de estos patógenos, puesto que el principal componente de la pared celular, es el ácido lipoteicoico (LTA) ligando de unión a TLR-2, finalmente, la activación de estos receptores induce respuestas inflamatorias de leucocitos de linaje mieloide, señalando por la vía NF-κB. Los TLRs activados también aumentan la producción de moléculas co-estimuladoras, como la CD80, CD86 y CD40. Estas proteínas, expresadas en la superficie de células presentadoras de antígeno, son necesarias para la activación de linfocitos T por células dendríticas y macrófagos. Otras investigaciones recientes donde se aplican vacunas bacterianas de forma intramamaria expresan mecanismos de protección indefinidos, por lo que no está claro si este enfoque induce inmunidad adaptativa o mejora y entrena el mecanismo inmune innato (Petzl et al., 2018); por su parte, Herry et al., 2017 mencionan que “ las respuestas celulares inducidas por la

vacunación con *E. Coli* son más importantes que la respuesta humoral para mejorar la respuesta de la glándula mamaria", igualmente, existe una dificultad intrínseca para dirigir la respuesta inmunitaria a una especie bacteriana como la *E. coli* que suele formar parte de la microbiota humana y animal (Larzábal et al., 2019).

## 1.10 Métodos de detección de Igs

La Inmunodifusión radial y la prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA) son las únicas pruebas que determinan y cuantifican la concentración de IgG, IgA, e IgM en el suero (McGee & Earley, 2019; Weaver et al., 2000).

### 1.10.1 La inmunodifusión radial

Es específica para la cuantificación de diversas proteínas del suero y otros fluidos, y depende de la reacción de cada proteína con su anticuerpo específico. La inmunodifusión radial (RID) se basa en la precipitación de antígeno y anticuerpo contra un complejo de precipitina insoluble y, por lo tanto, mide directamente la concentración de IgG en suero o plasma. La RID se considera el método de referencia para medir la IgG en suero/plasma, pero se tarda al menos 24 horas en realizarlo y, por lo tanto, más de lo deseable para la mayoría de los fines clínicos (Hampe & Wehrend, 2019).

### 1.10.2 Inmunoabsorción enzimática (ELISA)

La inmunoabsorción enzimática (ELISA, de la sigla en inglés de Enzime Linked Immunoabsorbent Assay), es una prueba que se basa esencialmente en una reacción antígeno-anticuerpo, en la que la concentración de anticuerpos se determina por la reacción de color de un anticuerpo marcado con enzimas fluorescentes. La evaluación se suele realizar fotométricamente.

La prueba ELISA se puede dividir en diferentes variantes: directa, indirecta y competitiva.

Directa: el anticuerpo que reacciona con el antígeno ya está marcado con una enzima indirecta: requiere un nuevo paso de incubación. Después de unir un anticuerpo no identificado a un antígeno, se añade un anticuerpo secundario identificado que se une al anticuerpo primario. El procedimiento permite la amplificación de una señal de color y, por lo tanto, aumenta la sensibilidad, pero requiere más tiempo y trabajo que el ELISA directo.

Competitivo: En este caso, no se utiliza un segundo anticuerpo marcado para la detección, pero un antígeno competidor adicional y determinado como marcador, compite con los anticuerpos para ser detectados en los sitios de unión. La señal de color es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra (Hampe & Wehrend, 2019).

La técnica de ELISA, es en la actualidad una prueba ampliamente empleada en pruebas diagnósticas; en investigación, su precisión es menor que el radioinmunoanálisis, pero más práctica, sencilla y rápida.

# 2. Materiales y Métodos

El experimentó contó con la aprobación del Comité de Ética para Experimentación Animal, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

## 2.1 Localización

La investigación se llevó a cabo en un sistema comercial semi-intensivo de producción lechera localizada en la vereda Buenos Aires del municipio de Yotoco en el departamento del Valle del Cauca, con una ubicación geográfica en latitud N 3°25´17´´ y longitud Oeste 76°10´55´´; con altitud de 950 msnm, temperatura promedio de 26 ºC, y precipitación media anual de 1000 mm, encontrándose según la clasificación de Holdridge en una formación ecológica de Bosque Seco Tropical (BS-T), (Holdridge, 1987).

## 2.2 Sujetos experimentales y tratamientos

Se utilizaron 21 vacas de componente genético F1 (Gyr x Holstein), multíparas entre el tercero y cuarto parto y en estado fisiológico correspondiente al octavo mes de gestación al inicio del experimento; para este se dividieron en tres grupos, cada uno compuesto por siete animales y sus respectivas crías al nacimiento, más un cuarto grupo conformado por crías recién nacidas, cuyas madres no recibían tratamiento experimental. Los tratamientos fueron:

- Tratamiento 1 (T1): grupo control (sin vacuna).
- Tratamiento 2 (T2): aplicación de una dosis de 2 ml de vacuna comercial neumoentérica a los ocho meses de gestación y revacunación 15 días antes del parto.

- Tratamiento 3 (T3): aplicación de una dosis de 2 ml de vacuna comercial neumoentérica en vacas con ocho meses de gestación.
- Tratamiento 4 (T4): aplicación de una dosis de vacuna comercial neumoentérica en terneros con 24 horas de vida, nacidos de madres sin vacunación.

La vacuna comercial suministrada estaba compuesta por *Salmonella dublin* 25%, *Salmonella typhimurium* 25%, *Escherichia coli K99* 25%, *Pasteurella multocida* tipo II 20%, 5% conformado por excipientes; la vacuna fue aplicada por vía parenteral subcutánea en los animales que recibieron el tratamiento.

## 2.3 Manejo de los animales

Las vacas en el periodo de gestación se encontraban en un sistema de pastoreo rotacional con pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) y suplementación con ensilaje de maíz; posterior al parto se dejaban con la cría las primeras 24 horas, en este tiempo los terneros consumieron calostro a voluntad. Al segundo día, los terneros se separaban de sus madres y el suministro de calostro se realizaba dos veces al día por medio de biberón a razón de dos litros en cada toma durante 3 días, luego del calostraje pasaban al sistema de crianza de balde estaca hasta el destete.

## 2.4 Recolección de muestras en campo

Para las vacas: a las 24 horas posparto se recolectaron muestras de calostro (300 ml) en envase estéril y se colectaron muestras de sangre mediante venipunción coccígea. En estas muestras se realizó calostrometría directa por Calostrómetro tipo densiométrico.

Para los terneros: se colectaron muestras de sangre por venipunción de la vena yugular a las 24±6, 48 y 72 horas pos nacimiento. Estas muestras fueron el fluido para la determinación de Igs y metabolitos.

Para la recolección de las muestras sanguíneas se emplearon tubos vacutainer sin anticoagulante que luego fueron trasladadas en refrigeración al laboratorio de Reproducción y Bioquímica Animal de la Universidad Nacional de Colombia (Palmira),

mientras que las calidades de las muestras de calostro fueron analizadas *in situ* mediante calostrómetro teniendo en cuenta que la temperatura de la muestra estuviera a 22ºC.

## 2.5 Análisis de muestras

Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 2500 rpm por 20 minutos para la obtención de suero sanguíneo y este se almacenó en alícuotas a -20ºC hasta la determinación de los diferentes metabolitos de química sanguínea.

Las variables metabólicas que se analizaron en el presente trabajo fueron las siguientes: En las vacas, se analizaron las concentraciones séricas de proteínas totales, globulinas totales, ALT, AST, y cortisol. Adicionalmente, se realizó análisis de calidad de calostro por calostrómetro.

En los terneros, se analizaron Proteínas totales, globulinas totales, IgG, IgA e IgM, unidades de turbidez de Zinc (UTZ) y cortisol.

**Tabla 2-1:** Relación de Metabolitos evaluados, Técnicas analíticas y marca comercial empleada.

| Variable analizada | Técnica | Referencia comercial | Marca Comercial |
|---|---|---|---|
| Proteínas totales | Verde de Bromocresol | PT (PT358) | Randox |
| Albúmina | Verde de Bromocresol | ALB (AB362) | Randox |
| Globulinas | Verde Bromocresol | GLB (GL360) | Randox |
| IgG | RID | 728411 (200 a 3000 mg/dl) | Triple J Farms |
| IgA | RID | 702411 (50 a 400 mg/dl) | Triple J Farms |
| IgM | RID | 703411 (50 a 400 mg/dl) | Triple J Farms |
| Cortisol | ELISA | Cortisol (DNOV001) | NovaTec |
| ALT | LD/α oxoglutarato | ALT (AL2360) | Randox |
| Aspartato aminotransferasa | MDH/LH/α oxoglutarato | AST (AS2359) | Randox |

| | | | |
|---|---|---|---|
| (AST) | | | |

La hormona cortisol, fue cuantificada mediante la técnica de ensayo de inmunoabsorción con enzima ligada (ELISA), en un equipo lector de placas de ELISA marca Rayto® (Shenzhen, China), mientras que la ALT, AST, proteína total, albúmina y globulina, fueron determinadas mediante pruebas enzimáticas colorimétricas con reactivos comerciales, utilizando un equipo Analizador de química semiautomático de lectura óptica RAYTO® (Shenzhen, China). Así mismo, para la cuantificación de inmunoglobulinas se empleó la técnica de inmunodifusión radial (RID), para la cual se utilizó como instrumento de medición estéreoscopio y pie de rey digital teniendo en cuenta incubar en cada placa el suero de referencia contenido en el kit para realizar las respectivas curvas de calibración.

Con el fin de cumplir los tres objetivos específicos, las actividades se dividieron en tres grupos de procedimientos así:

- Para la valoración del TIP, se analizó el calostro, las proteínas totales y sus dos componentes (globulinas y albúmina) en suero de los animales experimentales.
- Las Inmunoglobulinas se determinaron por RID y se analizaron sus concentraciones, de acuerdo al diseño experimental propuesto.
- Se correlacionó la respuesta a la vacunación, a través de las concentraciones de Igs y el tratamiento en el cual se aplicó la vacuna.
- Finalmente, se discutió el valor experimental de las determinaciones analíticas de metabolitos y hormonas en las madres vacunadas, para conocer su capacidad de respuesta inmunitaria y algunos factores que la pudieron afectar.

## 2.6 Diseño experimental

Los datos fueron almacenados en una base de datos de Excel para ser procesados en el paquete estadístico InfoStat, versión 2014 (Di Rienzo et al., 2014).

Se realizó Estadística descriptiva para cada uno de los tratamientos como variables independientes y el análisis de metabolitos e Igs como variables dependientes, así mismo, se analizó la correlación entre algunos de estos y el comportamiento general de las variables dependientes durante todo el experimento.

El diseño estadístico se basó en un modelo completamente al azar en el cual una vez evaluado el comportamiento normal y la heterocedasticidad de las variables se realizó un análisis de varianza de dos vías (tratamientos y horas de respuesta), en el cual la variable dependiente fueron los metabolitos o las Igs, y las variables independientes fueron los tratamientos. Se aceptó significancia estadística cuando $P < 0.05$. Para analizar las diferencias significativas se utilizó la prueba de Duncan con el fin de determinar el grupo específico de variación dentro de las respuestas esperadas, y para evaluar las similitudes entre los resultados de las pruebas se utilizó coeficientes de correlación de momentos según Pearson.

# 3. Resultados y discusión

## 3.1 Indicadores proteicos en terneros, calidad del calostro y transferencia de Inmunidad pasiva

### 3.1.1 Proteína total

La concentración de proteína total (PT) en terneros presentó diferencias significativas entre muestras tomadas en diferentes horas (24, 48 y 72 horas), después del nacimiento (Tabla 3-1). Sin embargo, cuando el análisis se hizo por tratamiento no hubo un efecto significativo, ni para la interacción hora de nacimiento*tratamiento. Esto muestra que la concentración total de proteínas séricas en el neonato aumenta en la medida que éste consume calostro, como lo ha expresado Godden et al., (2019). El valor de concentración más se registró en el T2 a las 24± 6h con 58,93 g/L, y el T1 presentó la mayor concentración a las 48 y a las 72 horas con 75,8 y 76,01 g/L, respectivamente (Figura 3-1A). Todos los valores medios y de desviación estándar (DE) para PT en los tratamientos y las horas de muestreo se encuentran dentro de los valores de referencia informados para bovinos (Kaneko et al., 2008). Los estudios realizados por Klinkon & Ježek, (2012) registraron 60-80 g/L de PT en animales adultos, 45,8 g/L en terneros después del nacimiento, 54,5 g/L después de la ingesta de calostro y 50-70 g/L en terneros con un mes de edad. En este estudio, los valores hallados en las diferentes horas después del nacimiento están dentro del rango de referencia propuesto por Klinkon & Ježek, (2012) y son indicativos de la positiva respuesta de los neonatos a la ingestión de calostro, mostrando un efecto significativo de la ingesta de calostro, frente a las horas de nacimiento para la concentración de PT en todos los tratamientos. Este efecto se debe a que en los terneros neonatos, los mayores constituyentes de la PT son las inmunoglobulinas y estás aumentan la concentración de PT después de consumir calostro (Elizondo-Salazar, 2015). Del mismo modo, la concentración de proteínas séricas en la mayoría de los bovinos es bastante baja al nacimiento, debido a la cantidad mínima de inmunoglobulinas al nacimiento, y aumenta una vez inicia el consumo de calostro (Nagyová et al., 2017; Tóthová et al., 2016), de este modo la concentración de PT en las primeras 24 horas de vida, se debe principalmente a la rápida absorción de

inmunoglobulinas provenientes del calostro cuando este es de calidad y el neonato no presenta ninguna alteración en el consumo, pasadas 24 horas la concentración de PT séricas está relacionada además de un mayor consumo de calostro y la calidad del mismo, de la frecuencia y volumen absorbido, lo cual explica las altas concentraciones en las 48 y 72 horas pos nacimiento.

### 3.1.2 Albúmina en terneros

La concentración más alta de albúmina (38,13 g/L) se registró en el T3 a las 24±6 horas de nacimiento (Figura 3-1B), este tratamiento también presentó los valores más altos en las diferentes horas de muestreo. El valor más bajo (23,61 g/L) se registró en el T4 a las 24±6 horas de nacimiento. Estas diferencias entre tratamientos fueron estadísticamente significativas (Tabla 3-1). Para este caso (Kaneko, Harvey, & Bruss, 2008) registran valores de referencia entre 30,3 y 35,5 g/L; Seppä-Lassila et al., (2018) indican valores medios de 33,8 g/L; mientras que Hampe & Wehrend, (2019) indican que la concentración de albúmina en terneros puede estar entre 19 y 33 g/L. La variación de albúmina encontrada en el T3, se puede explicar porque este grupo de terneros proviene de vacas que fueron vacunadas a los 30 y 15 días antes del parto, y debido a las características de la respuesta a la vacuna según lo mencionado por Herry et al., (2017); Petzl et al., (2018), ya que esta puede activar las moléculas co-estimuladoras (CD80, CD86 y CD40), que a su vez inducen a la células presentadoras de antígeno (APC) a producir interleucinas, las cuales intervienen en la respuesta inflamatoria (Tóthová et al., 2017), que produce mayor permeabilidad de la membrana, que facilita el paso de mayor cantidad de albúmina, a través del mismo receptor de IgG (Samarütel et al., 2016).

Cuando el calostro tiene una mayor concentración de albúmina, esta puede pasar al ternero mediante el mismo receptor (FcRn) de IgG (Stark et al., 2015). Se ha demostrado que el FcRn se une a la albúmina en un emplazamiento distinto y no competitivo con el de IgG (Samarütel et al., 2016), lo cual explicaría la alta concentración de albúmina en el T3 a las 24±6 h de nacidos.

**Tabla 3-1:** Significancia estadística para el Análisis de varianza (efectos principales e interacción) de metabolitos proteicos en terneros nacidos de madres vacunadas y de no vacunadas**.**

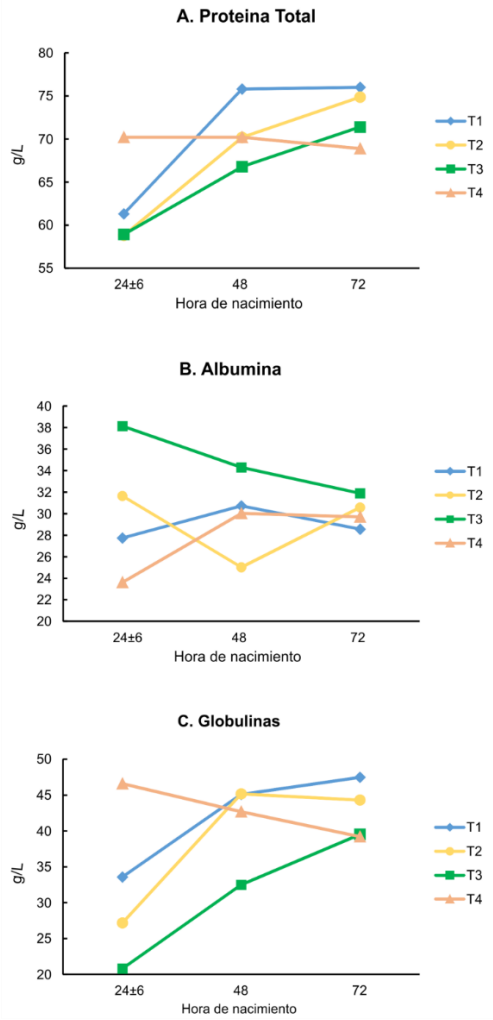
| **Variable** | **Tratamiento** | **Hora** | **Tratamiento* Hora** |
|---|---|---|---|
| Proteína total | 0,920483 | 0,000127* | 0,197433 |
| Albúmina | 0,0208* | 0,9880 | 0,0744 |
| Globulinas | 0,6355 | 0,0044* | 0,0945 |

*Cuando p<0,05 se considera que existen diferencias estadísticas

### 3.1.3 Globulina en terneros

Las globulinas presentaron el menor valor en su concentración en el T3 (20,79 g/L) a las 24±6 horas de nacimiento, mientras que el valor más alto (47,46 g/L) se presentó en el T1 a las 72 horas (Figura 3-1C). Sin embargo, el T4 presentó a las 24±6 una mayor concentración, en comparación con los demás tratamientos en las mismas horas; demostrándose diferencia significativa en las horas de toma de muestras (Tabla 3-1). Los valores de referencia mencionados para este metabolito se encuentran entre 30-40 g/L según Pérez Zuluaga & Contreras Villalba, (2014) mientras que Kaneko et al., (2008) indican valores entre 30,0 y 34,8 g/L. Así mismo, estudios realizados por Herrera Benavides, Brunal Tachad, Campillo, Rugeles Pinto, & Martínez Humanes, (2018) reportan valores de 16.7 y 24.3 g/L en terneros durante la primera semana de vida. Para el presente estudio se atribuyen las diferencias significativas al tiempo en el que se tomó las muestra, ya que los muestreo se realizaron en intervalos comprendidos entre 24±6 horas después del nacimiento.

**Figura 3-1:** Comportamiento de proteína total, albúmina y globulinas para los terneros en los cuatro tratamientos experimentales a las 24±6, 48 y 72 horas de vida. A Concentración de Proteína Total (g/L), B. Albúmina (g/L), C. Globulinas (g/L).




Finalmente, el principal componente de las globulinas se deriva de las inmunoglobulinas, absorbidas por los teneros durante las primeras horas de vida, estas provienen exclusivamente del consumo de calostro (Godden et al., 2019); después de la albúmina son el componente más importante dentro de las proteínas totales en terneros neonatos.

El T4 mostró la mayor concentración en las primeras 24 horas, tal vez, como respuesta al proceso vacunal de este grupo, dado que los consumos de calostro fueron *ad libitum*, por tratarse de un sistema comercial, el consumo no se pudo verificar puntualmente, este grupo posiblemente, consumió más calostro, este consumo alto también puede ser la causa de la alta concentración en los terneros del grupo control.

### 3.1.4 Calidad del Calostro y calostrometría

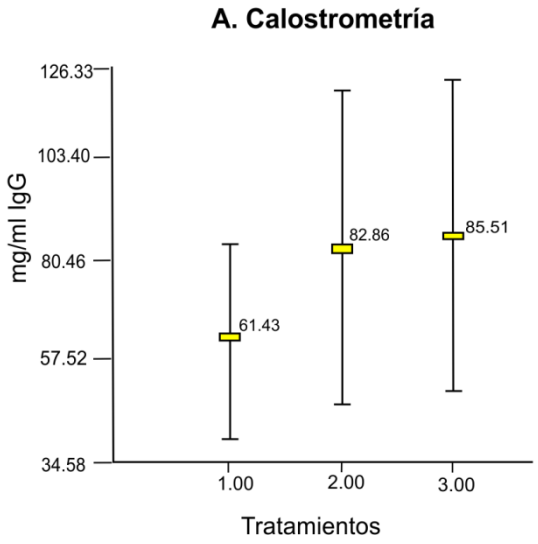
La calidad del calostro se determina a través del Calostrómetro, el cual relaciona la gravedad específica y la concentración de IgG**.** Los valores hallados en este estudio indican que el T3 presentó la concentración más alta (85,71 mg/ml IgG) seguido por T2 (82,86 mg/ml IgG) y T1 fue de (61,43 mg/ml IgG; Figura 3-2), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas en los tratamientos. No obstante, se observa que los calostros provenientes de las vacas con procesos de vacunación, exhiben valores más altos de IgG, mostrando que la respuesta biológica de las madres se concentra en el calostro y esta respuesta muestra que existe una interesante respuesta pos vacunal, que si bien no logra diferenciarse significativamente, esto puede deberse al bajo número de animales experimentales por grupo.

La investigación realizada por Soriano Toloza, (2014), indica que la aplicación de una vacuna (tipo bacteriana) siete meses antes del parto mejora la calidad del calostro encontrando valores de 52 mg/ml IgG. Por otra parte Yepes Mejía & Prieto Quevedo, (2011), reportaron valores de 57,6 mg/ml IgG sin vacunación, lo cual puede explicarse por variaciones de respuesta al medio ambiente o a factores nutricionales.

De acuerdo con la valoración del Calostrómetro donde los valores aceptados como estándares de calidad son: menos de 20 mg/ml, para mala calidad (identificado con el color Rojo); 20 a 50 mg/ml, calidad moderada (color Amarillo); y superior a 50 mg/ml (color verde) indicador de excelente calidad (Elizondo-Salazar, 2016; Singh et al., 2011). La calidad de los calostros en todos los tratamientos fue identificada como de excelente calidad, a pesar de no hallarse diferencias significativas. El T3 presentó el mayor valor, lo que indica la presencia de anticuerpos derivados de la doble vacunación a la cual fueron sometidas las vacas. Además de las vacunas hay otros factores que influyen en la calidad del calostro como el estado nutricional, la raza, el número de partos, la

temporada, producción al primer ordeño, cantidad de ordeños, y la salud de la glándula mamaria (Elizondo-Salazar, 2016; Singh et al., 2011).

**Figura 3-2:** Calidad del (calostro mg/ml) determinada por medio de Calostrometría en los tres tratamientos experimentales en madres vacunadas y no vacunadas.




## 3.1.5 Transferencia de inmunidad pasiva (TIP)

Si bien, el presente trabajo no tiene su objetivo principal en la determinación del grado de TIP, esta es una herramienta importante para valorar los programas de manejo en la cría y levante de terneros, cuyas deficiencias ocasiona elevadas pérdidas económicas en bovinos. Cuando el ternero no logra consumir en forma adecuada calostro en cantidad suficiente y de calidad, se presenta la alta mortalidad neonatal. Los errores en el suministro de calostro conducen a la denominada falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), que origina alta morbilidad y mortalidad, y posiblemente mayor uso de antimicrobianos en la fase de cría (Al-Alo et al., 2018; McGee & Earley, 2019).

En condiciones de trópico existe un alto número de factores que inciden en la TIP, contándose como una de las principales situaciones de mejorar en los programas de medicina preventiva, en especial para terneros de grupos multirraciales, como lo propone (de Paula et al., 2019).

De acuerdo con los conceptos sobre transferencia de inmunidad pasiva, se considera que existe FTIP cuando los valores de concentración de proteínas totales es ≤55 g/L (Lawrence et al., 2017) o valores de ≤52 g/L (Cuttance et al., 2017). En esta investigación el valor mínimo encontrado fue de PT 58, 81g/L a las 24±6 horas de nacimiento en el T2. De acuerdo con lo anterior, en ninguno de los tratamientos se evidenció FTIP.

Existen formas directas (calostrometría) e indirectas para evaluar la TIP, en las indirectas las concentraciones séricas determinadas manualmente por refractómetro, o por análisis directo, muestran relación significativa con las determinaciones sobre calidad del calostro, como se presenta en la Tabla 3-2.

Las investigaciones realizadas por Quigley, Lago, Chapman, Erickson, & Polo, (2013) encontraron un coeficiente de correlación de PT, mediante refractómetro con IgG analizada por inmuno difusión radial (RID) de 0,75. Del mismo modo Morrill, Robertson, Spring, Robinson, & Tyler, (2015), encontraron correlaciones de 0,79 utilizando el mismo método.

**Tabla 3-2:** Coeficientes de correlación y significancia estadística para indicadores de Transferencias de Inmunidad Pasiva en terneros analizados mediante refractómetro

| Variable | Coeficiente correlación | p-valor |
|---|---|---|
| Globulinas terneros | 0,86 | <0,0001 |
| Proteína terneros* | 0,90 | <0,0001 |
| IgG | 0,85 | <0,0001 |

*Proteína analizada por refractómetro manual. Cuando p<0,001 se considera que existen significancia estadística en la relación

En este estudio la correlación es de 0,85 para IgG (Tabla 3-2), la que se explica porque las condiciones de manejo nutricional y sanitario en la explotación garantizan una buena calidad del calostro y el manejo profiláctico posparto en los neonatos evita procesos inflamatorios o infecciosos, en los terneros en los cuales se evaluó la PT. Finalmente, se

conoce que en los terneros recién nacidos la proteína total se deriva principalmente de inmunoglobulinas en mayor cantidad IgG. Por lo tanto, las correlaciones de PT mediante refractómetro con Globulinas, PT e IgG son altas (Tabla 3-2), convirtiéndose así en una herramienta eficaz para determinar la transferencia de inmunidad pasiva. De igual forma, en calostro de alta calidad y no tener en las animales evidencias de hipoproteinemía, la correlación es alta e implica en forma práctica la validez de emplear la PT por refractómetro en terneros como una forma económica, segura y viable de conocer la transferencia de inmunidad pasiva, proveniente del calostro de calidad y su consumo oportuno.

En las relaciones encontradas se aprecia coeficientes altos entre las tres determinaciones, por lo cual en forma práctica la determinación de proteínas totales en terneros a través de refractómetro manual, suplen las costosas y demoradas determinaciones de inmunoglobulinas en la evaluación de la TIP en las condiciones del experimento.

## 3.2 Respuesta inmunitaria determinada a través de la concentración de inmunoglobulinas

La determinación de la concentración de tres tipos de inmunoglobulinas (Ig A, Ig G e Ig M), constituyó la forma de evaluación de las respuestas en los terneros, a los diferentes tratamientos realizados con vacunación sencilla o doble en madres, ausencia de vacunación en madres (control) y vacunación de los neonatos a las 24 horas de nacidos. Se asume, que las inmunoglobulinas de las madres vacunadas son transferidas al calostro y este al ser injerido por los neonatos, podría ser una forma rápida y confiable de estudiar la respuesta inmunitaria posiblemente ocasionada por los tratamientos en las madres, mientras que en los neonatos, esta podría ser evidenciada por una mayor síntesis de proteína total como se presentó.

### 3.2.1 Ig A

En los bovinos la IgA se presenta en una sola clase (no se reportan formas iso), aislada principalmente de fluidos secretorios (saliva, lágrimas, secreciones nasales e intestinales); aunque su concentración es menor que la IgG; la IgA es más abundante en la mucosa respiratoria e intestinal, donde actúa como primer línea de defensa contra infecciones bacterianas y virales del medio ambiente (*Bovine IgA ELISA Kit, E11-131*, 2019). En este estudio el valor de mayor concentración se encontró a las 24±6 horas de nacimiento para el T4 con 247 mg/dl, mientras que a las 72 horas en todos los tratamientos se presentaron los valores más bajos, siendo el menor valor el T3 con 64,34 mg/dl, en comparación con los valores obtenidos a las 24±6 horas (Figura 3-3A). No se evidenciaron diferencias significativas ni en los tratamientos, ni en las horas de muestreo, ni en las interacciones como se presenta en la Tabla 3-2. Los reportes de Kaneko et al., (2008) indican valores de 90 a 450 mg/dl; estudios de Balikci & Al, (2014) registran concentraciones de IgA de 280±34,6 mg/dl para terneros de una semana de edad; mientras que Hampe & Wehrend, (2019) reportaron concentraciones de 125 mg/dl en terneros de 24 horas de nacidos. Esto indica que las concentraciones registradas en este estudio están dentro de los rangos establecidos, y se confirma que la absorción de inmunoglobulinas se reduce significativamente después de las 24 horas, a causa de la pérdida de permeabilidad de la mucosa intestinal (Campos et al., 2011; Elizondo-Salazar, 2016)

**Tabla 3-3:** Significancia estadística del análisis de varianza para los efectos principales (tratamiento, hora) y de la interacción tratamiento*hora para la variables inmunoglobulinas en terneros sometidos a cuatro tratamientos vacunales.

| VARIABLE | Tratamiento | Hora | Tratamiento*hora |
|---|---|---|---|
| IgG | 0,9636 | 0,1286 | 0,8937 |
| IgA | 0,9431 | 0,4806 | 0,8319 |
| IgM | *0,002 | 0,7221 | 0,9955 |

*Cuando p<0,05 se considera que existen diferencias estadísticas

### 3.2.2 Ig G

En el T2 se registró el menor valor de IgG 1980 mg/dl a las 24±6h, y el mayor valor fue a las 48 horas con 3851,27 mg/dl (Figura 3-3B). No se hallaron diferencias significativas en los tratamientos, ni en las horas de muestreo, ni en la interacción hora por tratamiento (Tabla 3-2). Los rangos de referencia establecidos por Kaneko et al., (2008) son de 800 a 1800 mg/dl; así mismo Hampe & Wehrend, (2019) reportan valores de 670 a 2900 mg/dl, mientras que Elsohaby & Keefe, (2015), mencionan valores de 1764 ± 1035 mg/dL y Aydogdu & Guzelbektes, (2018) reportaron valores de 3800 mg/dl para terneros con 48 horas de nacidos. Por lo tanto, los valores encontrados en este estudio se encuentran dentro de los valores hallados en estas investigaciones. También se confirmó que no hubo evidencia de FTIP, ya que todos los valores de IgG están por encima de 1000 mg/dl en todos los tratamientos a las 24±6 h de nacimiento. Este estudio presenta valores elevados frente a los informados por los autores citados, lo cual puede deberse a la calidad de los programas de salud preventiva del establecimiento, a que las madres son multíparas y el manejo nutricional en el preparto garantiza un adecuado aporte de nutrientes, condiciones que en su conjunto se traduce en que el calostro producido es de alta calidad, como también ha sido expuesto por (Lago et al., 2018).

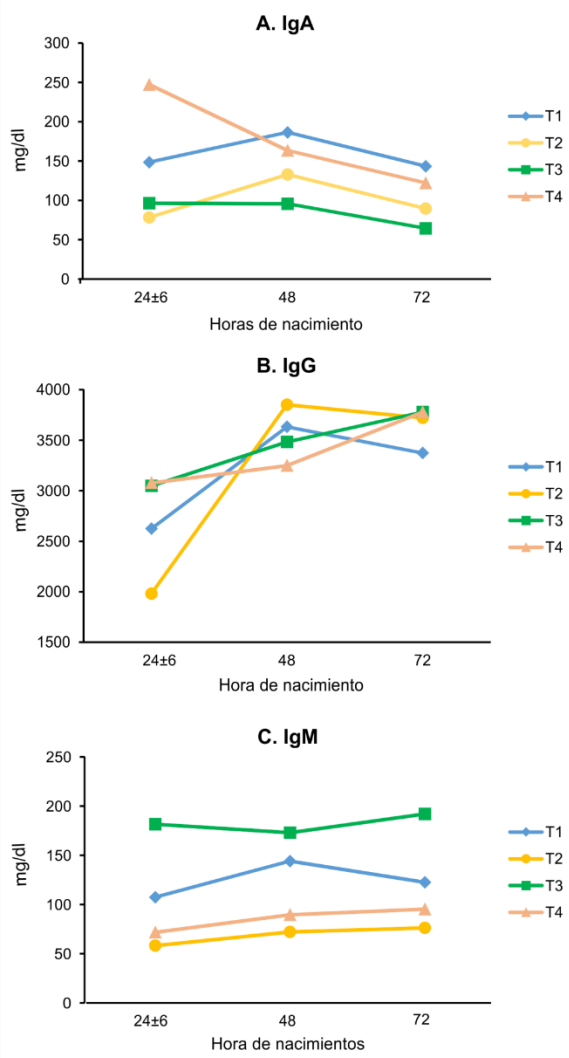
### 3.2.3 Ig M

La menor concentración fue de 58,06 mg/dl para IgM en el T2 a las 24±6 horas de nacimiento, mientras que el valor de mayor concentración (191,72 mg/dl) se encontró en el T3 a las 72 horas (Figura 3-3C). Se hallaron diferencias significativas en los tratamientos (Tabla 3-2). Al respecto Kaneko et al., (2008) evidencian valores entre 55 a 275 mg/dl, igualmente Hampe & Wehrend, (2019) registraron concentraciones de 170 mg/dl, mientras que Furman-Fratczak, Rzasa, & Stefaniak, (2011) indicaron 90 mg/dl, en ambos casos para terneros de 48 horas de nacidos.

Los hallazgos recientes muestran que durante la primera semana de vida los terneros empiezan a producir de forma natural IgM (Schäff et al., 2016), del mismo modo Hampe & Wehrend, (2019) pudieron detectar una producción endógena de IgM, a partir del cuarto día de vida. De igual forma, la IgM es la inmunoglobulina más grande y está relacionada principalmente con la inmunidad local, es capaz de unirse a muchos agentes

infecciosos de forma simultánea, y es el primer anticuerpo que se produce cuando se activa la respuesta inmune. De acuerdo a lo anterior, la diferencia significativa hallada, si bien se asocia al efecto vacunal, ya que el T3 (doble vacunación) presentó el mayor valor, este no se puede deber únicamente al efecto principal (tratamientos), porque el menor valor lo exhibió T2, y adicionalmente, pudo existir influencia de condiciones medio ambientales a las que estuvieron expuestos los animales experimentales, respondiendo a una estimulación antigénica frente a patógenos externos a los cuales han podido estar expuestos los terneros debido a su sistema de levante en contacto directo con el medio. Por otra parte, los valores hallados para los T2, T3 y T4 también fueron más altos a las 72 horas de nacidos, indicando que existe acumulación sanguínea de las Igs, lo cual es positivo para los animales al brindar mayor protección en el periodo posparto temprano.

**Figura 3-3:** Comportamiento de las inmunoglobulinas, en los tres momentos de muestreo (24±6, 48 y 72 horas) para los terneros evaluados de cuatro tratamientos vacunales en madres o en neonatos. A. IgA (mg/dl), B. IgG (mg/dl), C. IgM (mg/dl).




Se debe resaltar el que una de las opciones que los productores desarrollan para reducir la mortalidad neonatal es la aplicación de vacunas contra patógenos neumoentéricos (Arroyo, 2017), que muchas veces se realiza bajo protocolos cuestionables o ineficientes, lo cual se analizó en el presente trabajo, en especial en la hipótesis de que la vacunación en neonatos desprovistos de un sistema inmunitario activo no origina protección, cuando la vacuna se aplica en los primeros días de vida. Sin embargo, la única forma accesible en trabajos de investigación para determinar respuestas vacunales o inmunitarias, continúa siendo la determinación de Igs, en especial de Ig G, que por su actividad, peso y porcentaje en circulación, es sin duda la más importante.

Es posible, que la frecuencia de aplicación de la bacterina y el intervalo de tiempo entre aplicaciones en el presente trabajo haya generado inhibición de la respuesta inmune medida. Diversos autores recomiendan mínimo cuatro semanas de intervalo entre la aplicación de dosis de bacterinas, igualmente, sugieren empezar la primera dosis al séptimo mes de gestación o al inicio del periodo seco (Sears et al., 2017; A. R. Woolums, 2007); refuerzos posteriores no siempre muestran mejores respuestas, cuando el intervalo entre dosis es de 15 días o menos, ya que se puede neutralizar la respuesta secundaria. En el presente trabajo al no encontrar diferencias entre tratamientos, no podría asociarse a que no hay diferencia entre inmunizar o no inmunizar con bacterinas en el preparto, dado que el tiempo entre las dosis fue de 15 días o la aplicación única se realizó 30 días antes del parto esperado.

Debe tenerse en cuenta el carácter de inactivado del biológico que se aplicó, razón por la cual el fabricante recomienda la doble dosis, al igual que para otros biológicos que incluyan patógenos muertos, vivos atenuados o modificados, en los que en la mayoría de casos se emplean dos dosis, con un amplio intervalo de tiempo entre éstas. Se han encontrado infecciones congénitas para IBR, DVB y *Leptospira* en crías con FTIP (Lawrence et al., 2017), sin que las vacunas logren inmunizar completamente contra estos patógenos. Al no mostrar el grupo control diferencias con T2 y T3, índica que el calostro fue sintetizado en forma oportuna y brindó al neonato adecuada protección, ya que este grupo de madres han generado respuesta a los desafíos medioambientales o a vacunaciones previas, que permitió una síntesis de calostro de calidad.

El biológico aplicado a los terneros del T4 no presentó diferencias con los terneros nacidos de madres inmunizadas, la aplicación de la bacterina debería mejorar la calidad del calostro, pero en T4 no la hubo; en este sentido está siendo reportado como un problema de protección inmune, el vacunar cuando existen anticuerpos maternos circulantes, situación conocida como IFOMA, (Chamorro et al., 2016); esto pudo impedir observar diferencias entre inmunidad pasiva y activa, porque la vacuna muerta no pudo inducir una respuesta humoral dado que existían anticuerpos maternos; así mismo, es necesario tener en cuenta el bloqueo al desarrollo de inmunidad, en una cría con alta protección calostral, como sucede en los mamíferos nacidos de placentación

sindesmocorial (Windeyer & Gamsjäger, 2019), lo cual explicaría la ausencia de diferencias para el T4.

## 3.3 Indicadores de variables metabólicas asociadas a compuestos proteicos en las madres

En la tabla 3.3 se presentan los valores medios por tratamientos para los metabolitos séricos proteína total, albúmina y globulina. Estos se determinaron en el proceso experimental para analizar cómo el proceso de regulación de la síntesis de globulinas, de transportadores metabólicos como albúmina y su relación con la proteína total se generaban cuando el animal era vacunado o no. El calostro, sintetizado en la fase final de la gestación, constituye en neonatos bovinos la única fuente de inmunoglobulinas ( Godden et al., 2019), y por tanto verificar si estos variaban cuando el efecto tratamiento se analizó, constituía una importante variable de estudio. No se encontraron diferencias significativas ni para albúmina, ni para globulinas; la variación encontrada para proteína total, puede deberse a la mayor síntesis de globulinas, ya que se observa que las vacas de los dos tratamientos vacunales (T2 y T3) presentaron las mayores concentraciones tanto de globulinas, como de proteína total, el hecho de no presentar diferencia frente a tratamientos en todos los grupos, puede deberse al reducido número de animales experimentales en cada uno de los tratamientos. El principio de relación de estudio entre proteína total y calostro, ha sido ya evidenciado en otros trabajos, en los cuales las madres fueron vacunadas y su respuesta metabólica e inmunitaria fue determinada (Agianniotaki et al., 2018).

**Tabla 3-4:** Medía matemática y significancia estadística para el análisis de varianza del efecto tratamiento sobre indicadores proteicos en las madres vacunadas y no, del proceso experimental

| VARIABLE (g/L) | TRATAMIENTOS | | | f | p-valor |
|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | | |
| Proteína total | 68,10$^{a}$ | 77,27$^{ab}$ | 80,83$^{b}$ | 3,50 | 0,0519 |
| Albúmina | 30,08$^{a}$ | 30,43$^{a}$ | 32,51$^{a}$ | 0,67 | 0,5241 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Globulina | 37,67[a] | 47,19[a] | 48,32[a] | 2,82 | 0,0860 |

Cuando p<0,05 se considera que existen diferencias estadísticas. Fila (metabolito) con letras diferentes, presentan diferencia significativa.

### 3.3.1 Proteína total en vacas

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de proteína total entre los tres tratamientos (Tabla 3-3). Los valores registrados están entre 68,10 y 80,80 g/L para el T1 y T3, respectivamente. Los valores de referencia indicados por Kaneko et al., (2008) están entre 67,4 y 74,6 g/L. es decir, que los resultados obtenidos en este estudio para el T1 estuvieron dentro del rango referenciado; mientras que el T2 (77,27 g/L) y T3 fueron ligeramente superiores al reportado (Figura 3-4A). Así mismo, estos valores son similares a los encontrados por Roa-Vega, Ladino-Romero, & Hernández-Martínez, (2017) con concentraciones de 79.3 g/L; Cattaneo et al., (2013) quienes hallaron valores de 75.3 gr/L, y Alberghina, Giannetto, Vazzana, Ferrantelli, & Piccione, (2011) con concentraciones de 78 g/L, en vacas recién paridas.

Los desequilibrios de las concentraciones séricas de proteínas totales, por ejemplo, cuando tienden a valores bajos, pueden indicar problemas de subnutrición, malabsorción, agammaglobulinemia o glomerulonefritis (Tóthová et al., 2017); lo cual no es el caso de la presente investigación; por el contrario una alta concentración indica problemas de inflamación o activación de complejos asociados con inmunidad (Bobbo et al., 2017), tal como al parecer se presentó para T2 y T3. Sin embargo, en la última fase de la preñez y el posparto temprano, las proteínas totales son bajas, debido a la transferencia de inmunoglobulinas desde el torrente sanguíneo a la glándula mamaria para la síntesis de calostro (Tóthová et al., 2017). Para el caso de vacas con mayor número de partos, la proteína total aumenta debido a las inmunoglobulinas, ya que el sistema inmunitario de las vacas adultas, ha estado en contacto con más patógenos durante sus ciclos productivos, y por lo tanto sus anticuerpos son mayores. Por otra parte, las globulinas comprenden en su cuantificación no sólo inmunoglobulinas, sino también proteínas de fase aguda, que podrían aumentar durante la inflamación, como consecuencia normal de los cambios fisiológicos propios del parto (Bobbo et al., 2017). Por lo tanto, las

diferencias en globulinas entre tratamientos, donde se presentan similitud entre T2 y T3 y con menores concentraciones en T1, como se puede observar en la Figura 3-4C. En síntesis, los resultados encontrados se relacionan con la respuesta inmunitaria frente a los patógenos a los cuales estuvieron expuestas las vacas con la vacunación, dando como resultado mayor concentración de globulinas y por ende mayor concentración de proteínas totales.

### 3.3.2 Albúmina en vacas

La albúmina no presentó diferencias significativas en ninguno de los tratamientos, (Tabla 3-3). El T3 presentó la mayor concentración (32,51 g/L), seguido por T2 (30.43g/L) y por último el T1 (30.08 g/L; Figura 3-4B). Los valores de referencia mencionados por Kaneko et al., (2008) para este metabolito están entre 30,3 y 35,5 g/L. Así, los valores encontrados en el presente estudio para T2 y T3 están dentro de este rango, mientras que el T1 está por debajo del límite establecido. Igualmente, estos valores hallados concuerdan con las rangos mencionados por investigadores como Alberghina et al., (2011) con 31,60±4,39 g/L; mientras que Roa-Vega et al., (2017) referencia un rangos más amplio que varía entre 28 a 38 g/L. Sin embargo, los valores de Herrera Benavides et al., (2018) indican rangos aún más elevados con concentraciones de 41,10 ± 6,2 g/L.

Según da Silva, dos Santos Rodrigues, Tuerlinckx, & Siqueira, (2019) los índices séricos para este metabolito pueden variar en función del estado fisiológico, el clima y la disponibilidad de alimentos, y las concentraciones bajas pueden indicar menor consumo de proteínas; mientras que en la hiperalbuminemia indicarían deshidratación, hepatopatías o nefropatías. No obstante, al final del periodo de gestación la albúmina es baja, al ser catabolizada para aportar aminoácidos necesarios para la producción de globulinas (Tóthová et al., 2017). En otro estudio local, García Alegría, (2015), encontró concentraciones bajas de albúmina al momento del parto (24,86 - 29,07 g/L), mientras que Eckersall, (2008) halló valores de 34,6 a 35,4 g/L 15 días antes y 15 días después del parto. Debido a que no se encontraron diferencias estadísticas de la albúmina entre los tratamientos y los valores hallados están dentro de los rangos referenciados, se puede concluir que la aplicación de vacunas con bacterias inactivadas en el último mes de gestación, no presenta un efecto significativo para este metabolito, posiblemente

porque la respuesta a la vacunación se concentra en las globulinas y en las proteínas totales, toda vez, que teóricamente esta es la suma de albúmina y globulinas.

### 3.3.3 Globulina en vacas

No se evidenciaron diferencias significativas en la concentración de globulinas frente a los tratamientos (Tabla 3-3). El valor más bajo se registró en el T1 con 37,67 g/L, mientras que el más alto en el T3 con 48,32 g/L (Figura 3-4C). Kaneko et al., (2008), indican para globulinas valores de referencia entre 30 y 34,8 g/L. Para este caso los valores hallados en los tres tratamientos están por encima del valor referenciado. Esto posiblemente ocurre porque animales en condiciones de trópico presentan mayor respuesta antigénica, por los permanentes retos ocasionados por ecto y endoparásitos. Un trabajo previo, en condiciones ecológicas y productivas del presente, también había reportado elevación de las globulinas, así García Alegría, (2015) encontró valores de 42,86±3,47 g/L en vacas a las 24 horas posparto, mientras que Roa-Vega et al., (2017) hallaron valores de 30,1 g/L en vacas en lactación.

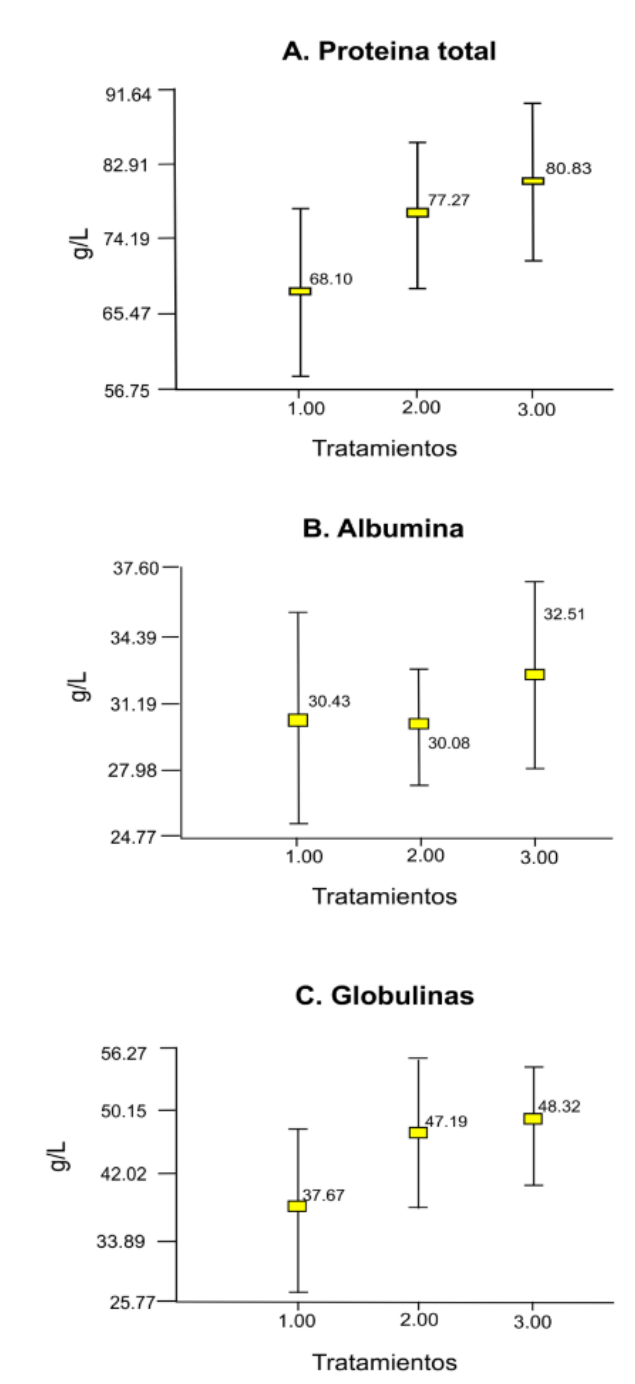
Las globulinas, comprenden varias proteínas que interactúan en diferentes tejidos dentro del organismo; en las globulinas se encuentran proteínas de transporte, mediadores de la inflamación y principalmente inmunoglobulinas (Smith et al., 2013). Altas concentraciones de globulinas se relacionan con estimulación antigénica crónica, o en otros casos por cuadros de reticuloperitonitis traumática, neumonía, abscesos hepáticos o problemas relacionados con la función hepática (Russell & Roussel, 2007). Por lo contrario, Trujillo Hernández, (2014) describe que las globulinas se elevan debido a enfermedades o vacunaciones recientes, como se puede apreciar en el presente trabajo. De acuerdo con lo anterior, los valores altos de globulinas encontrados en T2 y T3 se deben probablemente a la estimulación inmunogénica que generó la vacuna; sin embargo, la concentración más alta se presentó en el T3, lo cual indicaría que las vacunas con bacterias inactivadas necesitan más refuerzos para generar una mayor cantidad de anticuerpos (Tizard & Payne, 2019).

Generalmente, las globulinas se calculan, a partir de la diferencia entre proteínas totales y albúmina, de este modo, se indica la relación albúmina/globulina (A/G) que refleja cambios en los dos tipos de proteínas (Eckersall, 2008; Smith et al., 2013). En esta

investigación los valores hallados químicamente de globulinas son similares a los calculados por diferencia entre PT y albúmina. Desde este punto de vista, la relación de A/G indica que decrece la albúmina en todos los tratamientos, y aumenta la globulina, debido a que la albúmina al final de periodo de gestación disminuye, debido a que la reacción catalizadora que ejerce, permite generar aminoácidos necesarios para la formación de anticuerpos en la síntesis de calostro (Tóthová et al., 2017).

En la figura 3-4, se puede observar como los compuestos asociados a la síntesis y concentración sérica de metabolitos asociados a la proteína varió en relación al tipo de tratamiento que enfrentaron los animales experimentales, evidenciando que los menores valores los presentó T1 o grupo control, por lo que se puede inferir que existió estímulo en la síntesis de globulinas derivado de la aplicación de vacunas.

**Figura 3-4:** Comportamiento de los metabolitos proteicos para las vacas en los tres tratamientos a las 24 horas posparto. Concentración en g/L de: A. Proteína total, B. Albúmina y C. Globulinas.


A. Proteina total
91.64
82.91
74.19
65.47
56.75
g/L
68.10
77.27
80.83
1.00
2.00
3.00
Tratamientos
B. Albumina
37.60
34.39
31.19
27.98
24.77
g/L
30.43
30.08
32.51
1.00
2.00
3.00
Tratamientos
C. Globulinas
56.27
50.15
42.02
33.89
25.77
g/L
37.67
47.19
48.32
1.00
2.00
3.00
Tratamientos

## 3.4 Indicadores bioquímicos de la función hepática y del cortisol en vacas sometidas a procesos vacunales o no.

Existen limitaciones diagnósticas para establecer si la respuesta individual a un proceso vacunal se da o no. Cuando los animales se someten a procesos vacunales, se espera que estos presenten una respuesta dinámica asociada al tipo de antígeno, su carga y frecuencia de aplicación, sin embargo, en algunas situaciones la respuesta esperada no se encuentra y queda la duda, de si el producto aplicado como inmunógeno actuó o por el contrario, la respuesta del animal no se dio, por no contar este con posibilidades biológicas de generar la respuesta como sucede en situaciones de estrés o en alteración de la función hepática, en las cuales no es posible lograr una respuesta completa del animal. Así, para intentar evaluar indirectamente la respuesta de los animales en los tratamientos T2 y T3, se determinó en los grupos experimentales las concentraciones séricas de dos enzimas relacionadas con la evaluación de la función hepática, igualmente, se determinó cortisol, para estudiar si concentraciones de este afectaban la respuesta en los animales vacunados. En la Tabla 3-4, se observan los valores medios por tratamiento para estos tres metabolitos asociados a la respuesta pos vacunal.

ALT y AST fueron analizadas en las vacas para monitorear el estado hepático y el cortisol como posible responsable de inmunosupresión en el periparto, únicamente presentó diferencias significativas AST para tratamientos; se reconoce que las enzimas no son exclusivas de hígado, sin embargo, tradicionalmente estas se han empleado como indicadores directos de la función de los hepatocitos, como ha sido propuesto (Djokovic et al., 2019).

**Tabla 3-5**: Medía matemática y significancia estadística para el análisis de varianza del efecto tratamiento sobre indicadores de la función hepática y sobre el cortisol en las madres vacunadas y no del proceso experimental.

| VARIABLE | TRATAMIENTOS | | | f | p-valor |
|---|---|---|---|---|---|
| | T1 | T2 | T3 | | |
| ALT (U/L) | 21,70[a] | 17,82[a] | 20,00[a] | 1,54 | 0,2415 |
| AST (U/L) | 115,25[a] | 103,74[a] | 137,95[b] | 9,76 | 0,00130 |
| Cortisol (nmol/L) | 180,38[a] | 191,86[a] | 253,73[a] | 0,68 | 0,5181 |

Cuando p<0,05 se considera que existen diferencias estadísticas
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p>0,05)

## 3.4.1 Alanina Aminotransferasa (ALT)

La ALT es un indicador de daño hepático y su concentración en sangre se incrementa por el deterioro en la membrana del hepatocito haciéndola más permeable, y permitiendo la liberación de la enzima al torrente sanguíneo (Dharmayudha et al., 2018). Para el caso de ALT las concentraciones obtenidas en este estudio no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 3-5A). El valor promedio mínimo fue de 17,82 U/L para el T3 y 21,70 U/L para el T1 (Figura 3-4A). Al respecto Kaneko et al., (2008) revelaron valores entre 11 y 40 U/L; mientras que Roa-Vega et al., (2017) indicaron valores de 7 a 35 U/L para vacas en pastoreo, al final de la gestación; en ninguno de los estudios mencionados indican daño hepático. Por lo tanto, los resultados obtenidos están dentro de los valores de referencia reportados por Kaneko et al., (2008); Roa-Vega et al., (2017), así, en esta investigación los animales no presentaron daño en la membrana del hepatocito, que condujera al aumento de la concentración sérica de ALT, confirmando el adecuado estado de las células hepáticas, que permiten la síntesis de globulinas y albúmina.

Por otro lado, las enfermedades parasitarias también se han asociado con altas concentraciones de ALT. De este modo Dharmayudha et al., (2018) encontraron concentraciones de 78,3 U/L en vacas infestadas por *Fasciola hepática*, y Shahnawaz et al., (2011) reportan valores de 93.3 U/L en vacas adultas infestadas por *Theileria*

*annulata.* Las vacas utilizadas en el presente experimento se encontraban en óptimo estado sanitario, los valores obtenidos de ALT de este estudio, así lo demuestran.

### 3.4.2 Aspartato aminotransferasa (AST)

Las concentraciones de AST presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 3- 4). El valor promedio mayor lo presentó el T3 (137,95U/L); mientras que los T1 y T2 tuvieron valores bajos y similares entre ellos (115,25 U/L y 103,74 U/L, respectivamente, como se puede apreciar en la Figura 3.5B. A pesar que AST no es por su ubicuidad específicamente hepática, ya que también se encuentra en otros tejidos como el cerebro, músculo cardiaco y esquelético (Shawky et al., 2016), en los rumiantes es utilizada para para detectar afecciones hepáticas relacionadas con movilizaciones lipídicas excesivas del tejido adiposo al hígado, frecuentes en el periodo de transición en vacas lecheras (Dharmayudha et al., 2018; Djoković et al., 2013; Gross et al., 2013; Mostafavi et al., 2013). Al respecto Kaneko et al., (2008) referencian valores entre 78 y 132 U/L; Roa-Vega et al., (2017) mencionan valores entre 65 y 132 U/L; Djoković et al., (2013) encontraron concentraciones de 121,23 U/L en vacas al inicio de la lactancia y Otter, (2013) encontró valores de 110 ± 30,7 U/L para vacas durante el periodo de transición. Los valores registrados en este estudio para los T1 y T2 están dentro de los rangos reportados por los autores mencionados.

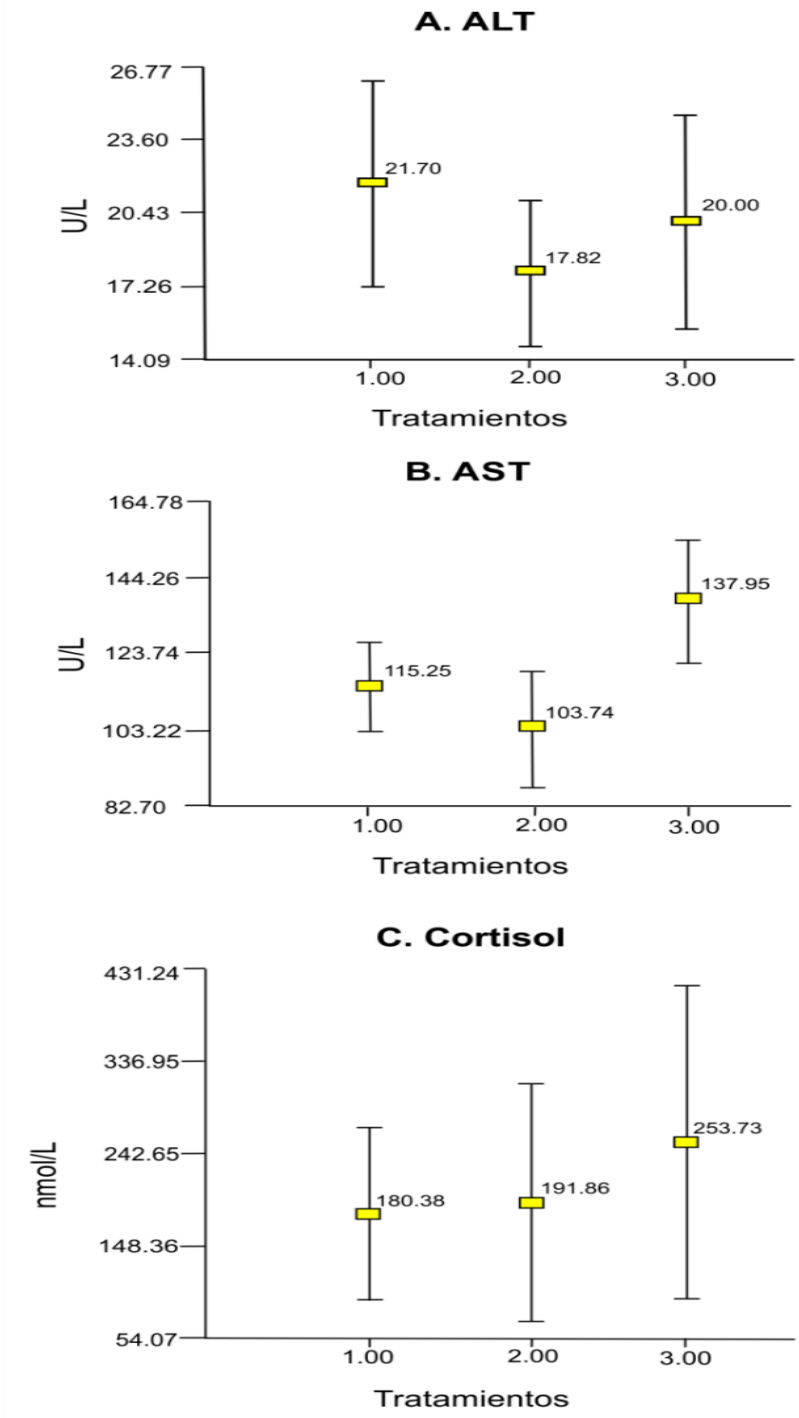
Las diferencias significativas encontradas en esta investigación pueden explicarse por la elevada concentración de AST en el T3, cual está asociada con la alta concentración de cortisol, debido al estrés causado por el manejo de la doble vacunación, tal como se reportan en investigaciones realizadas por Shawky et al., (2016) y El-Mandrawy & Farag, (2017). Shawky et al., (2016) aplicaron vacunas contra la fiebre aftosa y hallaron concentraciones altas de AST, lo que asociaron con el exceso de glucocorticoides, reflejado en las altas concentraciones de cortisol. Del mismo modo El-Mandrawy & Farag, (2017) relacionan las altas concentraciones de AST con elevadas concentraciones de cortisol debido al estrés, que podrían aumentar la actividad de las transaminasas.

### 3.4.3 Cortisol

El cortisol es una hormona sintetizada en la corteza suprarrenal, cuyo aumento está fuertemente asociado a condiciones de estrés (Noya et al., 2019; Romero Peñuela et al., 2011). En esta investigación, las concentraciones de cortisol no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Tabla 3-4). Sin embargo T1, presentó la menor concentración (180,38 nmol/ml), con respecto al T3 (253,73 nmol/ml; Figura 3-4C). Mas, Sanes, Reyes, Pallares, & Seva, (2010) mencionan que las concentraciones basales de cortisol están por debajo de 10 nmol/ml; mientras Shawky et al., (2016) describen valores entre 110 a 335 nmol/mg en vacas recién paridas, así mismo, Chen et al., (2016) encontraron rangos entre 140 a 165 nmol/mg en vacas que, solamente fueron movilizadas de los potreros al corral. Por su parte García Alegría, (2015) encontró concentraciones de 72 a 229 nmol/ml en vacas 15 días antes del parto.

Los valores hallados en el presente trabajo están dentro de las concentraciones encontradas por otros investigadores en vacas en el mismo estado fisiológico, aunque no se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, el T3 (Tabla 3-4), fue considerablemente más alto, lo cual se atribuye al tipo de manejo, ya que se aplicó doble protocolo vacunal, con una vacuna un mes y otra 15 días antes del parto, es decir, que los animales fueron movilizados dos veces, lo que pudo generar más estrés, y como consecuencia mayor concentración de cortisol.

**Figura 3-5:** Comportamiento de las enzimas indicadores de función hepática y del cortisol en las vacas sometidas a los tres tratamientos. Determinación única efectuada a las 24 horas posparto. Concentración de A. ALT (U/L), B. AST (U/L), C. cortisol (nmol/L).



# 4. Conclusiones y recomendaciones

## 4.1 Conclusiones

La concentración de proteína total y de IgG encontrada en esta investigación indicó que no hubo falta de transferencia de inmunidad pasiva (FITP), ya que los valores de proteína total y de IgG estuvieron por encima de los valores de 55g/L y de 1000 mg/dl, respectivamente.

El refractómetro portátil es una herramienta útil a nivel de campo, ya que evalúa en forma adecuada la proteinemia a las 24 horas postparto en terneros que consumieron calostro, lo cual permite identificar posibles fallas o no en la transferencia de inmunidad pasiva

En el análisis de los terneros, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas para las proteínas totales, globulinas totales, IgG e IgA. Por lo tanto, el consumo de calostro de buena calidad en las primeras horas de vida garantiza una buena transferencia de inmunidad pasiva. Por el contrario, las diferencias encontradas por tratamiento para IgM, no se pueden explicar únicamente desde los tratamientos y posiblemente se deban a condiciones medioambientales para este grupo de terneros.

La vacuna aplicada en esta investigación no generó ningún efecto que pudiera demostrar algún tipo de diferencia estadística en las variables respuesta como concentración de Igs y proteína total en los terneros.

En las vacas, la PT, la albúmina y las globulinas no difirieron. Por lo tanto, la aplicación de bacterina contra neumoenteritis según el protocolo propuesto en esta investigación no generó ningún efecto en los terneros que pudiera demostrar diferencia estadística en las variables respuesta.

Respecto a los resultados de ALT y cortisol no hubo diferencias significativas, mientras que AST si presentó diferencias en los tratamientos.

No se encontraron diferencias estadísticas en los indicadores de inmunidad activa o pasiva de neonatos nacidos de vacas inmunizadas o no, ni en los terneros inmunizados a las 24 horas pos nacimiento, siguiendo el esquema vacunal propuesto en este trabajo, posiblemente por el bloqueo de inmunidad activa por parte de la cría y por el proceso de respuesta descrito como IFOMA.

La concentración de cortisol no afectó la respuesta en ninguno de los tratamientos.

## 4.2 Recomendaciones

Las vacunas no son las únicas que pueden considerarse como estimuladoras de anticuerpos durante la formación de calostro, ya que existen otros factores como la nutrición y estado sanitario, los cuales pueden incidir sobre la concentración de inmunoglobulinas durante el preparto. Por lo tanto, se sugiere hacer énfasis en la importancia que tiene el manejo nutricional de las vacas en la gestación, ya que no solo afecta la condición corporal si no también la calidad del calostro.

El calostrómetro es una herramienta muy útil en el trabajo de campo que permite identificar de manera rápida la calidad del calostro; por lo cual es recomendable su uso ya que permite de forma práctica evaluar la concentración de IgG, del mismo modo, hacer bancos de calostro de excelente calidad como medida preventiva en aquellos casos donde las vacas no puedan alimentar a sus crías o su calostro sea de mala calidad ya que se evidenció que con buenos calostro no hay FTIP.

Para evaluar la TIP en los terneros se recomienda el uso de refractómetro manual ya que a través de él se pueden evaluar rápidamente las concentraciones de proteína total permitiendo identificar si puede haber o no FTIP y así permitir tomar decisiones rápidas previniendo afecciones futuras en los terneros.

Para asegurar la transferencia de inmunidad pasiva, se debe garantizar el suministro y calidad adecuada de calostro, durante las primeras horas de vida. Con el fin de disminuir la incidencia de enfermedades digestivas, y lograr menores índices de morbimortalidad en la fase de cría, y así asegurar un animal como futuro reemplazo en el hato ganadero.

Dado que la mayoría de los estudios sobre la transferencia de inmunidad pasiva analizan la inmunidad humoral medida por las concentraciones de inmunoglobulinas se hace necesario explorar en los neonatos la trasferencia de componentes del sistema inmune celular que la madre pueda proporcionar a sus crías.

Frente al proceso vacunal, para evitar el IFOMA las aplicaciones deben empezar al momento del secado e interrumpirse mínimo 20 días antes del parto.

# A. Anexo: Metabolitos proteicos para cada uno de los tratamientos en las diferentes horas de toma de muestra en los terneros, DE (Desviación estándar)

| Hora toma de muestra | Grupo | Metabolitos proteicos | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Proteína (g/L) | | Albúmina (g/L) | | Globulinas (g/L) | |
| | | Media | DE | Media | DE | Media | DE |
| 24±6 | T1 | 61,3 | 25,58 | 27,73 | 6,97 | 33,57 | 28,54 |
| | T2 | 58,81 | 23,42 | 31,64 | 5,44 | 27,17 | 28,31 |
| | T3 | 58,93 | 12,92 | 38,14 | 6,45 | 20,79 | 14,66 |
| | T4 | 70,21 | 17,72 | 23,61 | 6,16 | 46,6 | 22,51 |
| 48 | T1 | 75,8 | 16,28 | 30,72 | 7,8 | 45,08 | 20,83 |
| | T2 | 70,19 | 13,41 | 25,01 | 2,95 | 45,17 | 15,17 |
| | T3 | 66,77 | 15,64 | 34,3 | 8,97 | 32,48 | 20,65 |
| | T4 | 70,21 | 18,86 | 30,02 | 12,02 | 42,68 | 25,52 |
| 72 | T1 | 76,01 | 18,25 | 28,55 | 3,88 | 47,46 | 16,53 |
| | T2 | 74,87 | 16,04 | 30,58 | 5,39 | 44,29 | 19,55 |
| | T3 | 71,4 | 13,62 | 31,89 | 3,8 | 39,51 | 15,42 |
| | T4 | 68,9 | 19,01 | 29,7 | 6,52 | 39,2 | 23,65 |

# Referencias

Agianniotaki, E. I., Babiuk, S., Katsoulos, P. D., Chaintoutis, S. C., Praxitelous, A., Quizon, K., Boscos, C., Polizopoulou, Z. S., Chondrokouki, E. D., & Dovas, C. I. (2018). Colostrum transfer of neutralizing antibodies against lumpy skin disease virus from vaccinated cows to their calves. *Transboundary and Emerging Diseases*, *65*(6), 2043–2048. https://doi.org/10.1111/tbed.12983

Al-Alo, K. Z. K., Nikbakht Brujeni, G., Lotfollahzadeh, S., Moosakhani, F., & Gharabaghi, A. (2018). Correlation between neonatal calf diarrhea and the level of maternally derived antibodies. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *19*(1), 3–8. https://doi.org/10.22099/ijvr.2018.4760

Alberghina, D., Giannetto, C., Vazzana, I., Ferrantelli, V., & Piccione, G. (2011). Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *23*, 111–114. https://doi.org/10.1177/104063871102300119

Araúz, E. E., Fuentes, A., Batista, J. R., Ramón, V., & Caballero, S. (2011). Potencial calostropoietico en vacas multíparas 3 / 4 pardo suizo x 1 / 4 cebú y perfil químico, imunológico y energético del calostro secretado en las primeras seis horas después del parto. *Revista Electrónica de Veterinaria*, *12*(9), 1–28. https://www.redalyc.org/pdf/636/63621919001.pdf

Arroyo, L. G. (2017). Medicina de animales de reemplazo: Programas de prevención de la neumonía y la diarrea de los terneros con énfasis en los programas de vacunación. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *30*, 234–236. https://www.studocu.com/es/document/universidade-da-coruna/microbioloxia/otros/medicina-de-animales-de-remplazo-programas-de-prevencion-de-la-neumonia-y-la-diarrea-de-los-terneros-con-enfasis-en-los-programas-de-vacunacion/7788055/view

Athanasiou, L. V., Katsoulos, P. D., Ziogas, C., Kassab, A., & Polizopoulou, Z. (2019). Serum protein electrophoretic profile in diarrheic neonatal calves. *Comparative Clinical Pathology (2019)*, *28*, 685–688. https://doi.org/10.1007/s00580-019-02935-w

Avendaño, C., Quílez, J., & Sánchez-acedo, C. (2010). Prevalencia de Cryptosporidium en terneros en el Valle de Ubaté – Chiquinquirá (Colombia). *Revista U.D.C.A*

*Actualidad & Divulgación Científica*, *13*(1), 41–47. http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n1/v13n1a05.pdf

Aydogdu, U., & Guzelbektes, H. (2018). Eff ect of colostrum composition on passive calf immunity in primiparous and multiparous dairy cows. *Veterinarni Medicina*, *63*(1), 1–11. https://doi.org/10.17221/40/2017-VETMED

Azimpour, S., & Pourtaghi, H. (2016). A Case Report of Fungal Diarrhea in a Preweaned Calf in Iran A Case Report of Fungal Diarrhea in a Preweaned Calf in Iran. *Enteric Pathogens*, *4*(2), 1–4. https://doi.org/10.17795/ijep34199

Balikci, E., & Al, M. (2014). Some serum acute phase proteins and immunoglobulins concentrations in calves with rotavirus , coronavirus , E . coli F5 and Eimeria species. *Veterinary Research, Shiraz University*, *15*(4), 397–401. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4789220/pdf/ijvr-15-397.pdf

Baquero-Parrado, J. R. (2012). Evaluación clínica y tratamiento de la septicemia neonatal bovina. *Veterinaria y Zootecnía*, *6*(2), 89–111.

Batista Duharte, A., Lastre, M., & Pérez, O. (2014). Adyuvantes inmunológicos. Determinantes en el balance eficacia-toxicidad de las vacunas contemporáneas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *32*(2), 106–114. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4844698

Baumrucker, C. R., Zbinden, R. S., van Dorland, H. A., Remmelink, G. J., Kemp, B., van Knegsel, A. T. M., & Bruckmaier, R. M. (2014). Continuous milking of dairy cows disrupts timing of peak IgG concentration appearance in mammary secretions. *Journal of Dairy Research*, *81*(4), 403–409. https://doi.org/10.1017/S002202991400034X

Bednarski, M., Kupczyński, R., & Sobiech, P. (2015). Acid-base disorders in calves with chronic diarrhea. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *18*(1), 207–215. https://doi.org/10.1515/pjvs-2015-0026

Belli, A. L., Reis, R. B., Veronese, A., Moreira, R., Flanagan, K., Driver, J., Nelson, C. D., Clapper, J. A., Ballou, M. A., Jeong, K. C., & Chebel, R. C. (2018). Effects of treatment of preweaning dairy calves with recombinant bovine somatotropin on immune responses and somatotropic axis. *Journal of Dairy Science*, *101*(7), 6602–6615. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13917

Bobbo, T., Fiore, E., Gianesella, M., Morgante, M., Gallo, L., Ruegg, P. L., Bittante, G., & Cecchinato, A. (2017). Variation in blood serum proteins and association with

somatic cell count in dairy cattle from multi-breed herds. *Animal*, *11*(12), 2309–2319. https://doi.org/10.1017/S1751731117001227

Borad, S. G., & Singh, A. K. (2018). Colostrum immunoglobulins: Processing, preservation and application aspects. *International Dairy Journal*, *85*, 201–210. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.05.016

Boudry, C., Dehoux, J.-P., Portetelle, D., & Buldgen, A. (2008). Bovine colostrum as a natural growth promoter for newly weaned piglets: a review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, *12*(2), 157–170. https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=17253&file=1&pid=2734

*Bovine IgA ELISA Kit, E11-131*. (2019). Bethyl. https://www.bethyl.com/product/E11-131/Bovine+IgA+ELISA+Kit.

Bozukluhan, K., Merhan, O., Gokce, H. I., Deveci, H. A., Gokce, G., Ogun, M., & Marasli, S. (2017). Alterations in lipid profile in neonatal calves affected by diarrhea. *Veterinary World*, *10*(7), 786–789. https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.786-789

Brandtzaeg, P. (2010). The Mucosal Immune System and Its Integration with the Mammary Glands. *Journal of Pediatrics*, *156*(2 Suppl 1), S8–S15. https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.11.014

Cadavid-Betancur, D. A., Giraldo-Echeverri, C. A., Sierra-Bedoya, S., Montoya-Pino, M., Chaparro-Gutiérrez, J. J., Restrepo-Botero, J. E., & Olivera-Ángel, M. (2014). Diarrea neonatal bovina en un hato del altiplano norte de Antioquia (Colombia), un estudio descriptivo. *Veterinaria y Zootecnia*, *8*(2), 120–129. https://doi.org/10.17151/vetzo.2014.8.2.9

Campos Gaona, R., Páez Ramírez, P. A., & Enríquez Valencia, C. E. (2011). *Manejo de la cría y nutrición de Neonatos Bovinos* (A. Ramírez P. (Ed.); 1st ed.). Universidad de Colombia, Sede Palmira.

Campos, R., Páez, P., & Enríquez, C. (2011). *Manejo de la cría y nutrición de neonatos bovinos. Editorial* ( sede P. Universidad Nacional de Colombia (Ed.)).

Cárdenas-Vargas, A., Pedroza-Roldan, C., & Elizondo-Quiroga, D. (2016). Adyuvantes para vacunas: tipos, aplicaciones y modos de acción. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, *47*(3), 29–47. https://www.researchgate.net/publication/323966812_Adyuvantes_para_vacunas_tipos_aplicaciones_y_modos_de_accion_Vaccine_adjuvants_types_applications_and_

mode_of_action

Carvajal, P. M., Patiño M, M. F., Duran, C. V., & Campos G, R. (2011). *Caracterización de la cría de terneros en sistemas de lechería especializada y doble propósito del valle del cauca estudio de caso.* [Tesis pregrado]. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.

Cattaneo, L., Barberis, F. C., Stangaferro, M. L., Signorini, M. L., Ruiz, M. F., Zimmermann, R., Bo, G. A., Hein, G. J., & Ortega, H. H. (2013). Evaluación de indicadores metabólicos y bioquímicos sanguíneos en vacas en lactancia con Enfermedad Quística Ovárica. *InVet*, *15*(1–2), 7–15. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179132657001

Chamorro, M. F., Woolums, A., & Walz, P. H. (2016). Vaccination of calves against common respiratory viruses in the face of maternally derived antibodies(IFOMA). In *Animal Health Research Reviews* (Vol. 17, Issue 2, pp. 79–84). Cambridge University Press. https://doi.org/10.1017/S1466252316000013

Chase, C. C. L., Hurley, D. J., & Reber, A. J. (2008). Neonatal Immune Development in the Calf and Its Impact on Vaccine Response. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, *24*(1), 87–104. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.11.001

Chen, Y., Stookey, J., Arsenault, R., Scruten, E., Griebel, P., & Napper, S. (2016). Investigation of the physiological, behavioral, and biochemical responses of cattle to restraint stress. *Journal of Animal Science*, *94*(8), 3240–3254. https://doi.org/10.2527/jas.2016-0549

Cho, Y., & Yoon, K.-J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention [DOI: 10.4142/jvs.2014.15.1.1]. *Journal of Veterinary Science*, *15*(1), 1–17. https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1

Conneely, M., Berry, D. P., Sayers, R., Murphy, J. P., Lorenz, I., Doherty, M. L., & Kennedy, E. (2013). Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, *7*(11), 1824–1832. https://doi.org/10.1017/s1751731113001444

Cuttance, E. L., Mason, W. A., Denholm, K. S., & Laven, R. A. (2017). Comparison of diagnostic tests for determining the prevalence of failure of passive transfer in New Zealand dairy calves. *New Zealand Veterinary Journal*, *65*(1), 6–13. https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1230525

da Silva, M. S. C., dos Santos Rodrigues, D., Tuerlinckx, S., & Siqueira, C. M. G. (2019).

Perfil bioquimico de Albumina e Colesterol em vacas de invernar submetidas a suplementação. *Anais Do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, *10*(1). http://seer.unipampa.edu.br/index.php/siepe/article/view/38760

de Paula, M. R., Rocha, N. B., Miqueo, E., Silva, F. L. M., Coelho, M. G., & Bittar, C. M. M. (2019). Passive immune transfer, health, pre-weaning performance, and metabolism of dairy calves fed a colostrum supplement associated with medium-quality maternal colostrum. *Revista Brasileira de Zootecnia*, *48*. https://doi.org/10.1590/RBZ4820190006

Delves, P. J. (2019). *Inmunidad adquirida*. Msdmanuals. https://www.msdmanuals.com/es-co/hogar/trastornos-inmunológicos/biología-del-sistema-inmunitario/inmunidad-adquirida

Dharmayudha, A. A. G. O., Kusumadarma, I. B. D., Ardana, I. B. K., Anthara, M. S., Gunawan, I. W. N. F., Sudimartini, L. M., & Agustina, K. K. (2018). Aktivitas Alanin Aminotransferase Dan Aspartat Aminotransferase Sapi Bali Terinfeksi Fasciola Gigantica. *Buletin Veteriner Udayana*, *10*(1), 87–92. https://doi.org/10.24843/bulvet.2018.v10.i01.p14

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L. A., & Tablada, E. M. (2014). *InfoStat, versión 2014*. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=34

Djokovic, R., Cincovic, M., Ilic, Z., Kurcubic, V., Andjelic, B., Petrovic, M., Lalic, N., & Jasovic, B. (2019). Estimation Metabolic Status in High Yielding Dairy Cows During Transition Period and Full Lactation. *Acta Scientiae Veterinariae*, *47*(1). https://doi.org/10.22456/1679-9216.92100

Djoković, R., Šamanc, H., Jovanović, M., Fratrić, N., Dosković, V., & Stanimirović, Z. (2013). Relationship among blood indicators of hepatic function and lipid content in the liver during transitional period in high-yielding dairy cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, *41*(1), 1–6.

Eckersall, P. D. (2008). Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In J. Jerry Kaneko, J. W. Harvey, & M. L. Bruss (Eds.), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed., pp. 117–155). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00005-2

El-Mandrawy, S. A. M., & Farag, G. K. (2017). Molecular Characterization, Hematological

and Biochemical Studies on Foot and Mouth Disease Virus Serotype O in Buffaloes and Cows in Dakahlia Governorate, Egypt. *Zagazig Veterinary Journal*, *45*(2), 156–164. https://doi.org/10.21608/zvjz.2017.7888

Elizondo-Salazar, J. A. (2016). *Importancia y Manejo del Calostro en el Ganado de Leche*. https://extension.psu.edu/importancia-y-manejo-del-calostro-en-el-ganado-de-leche

Elizondo-Salazar, Jorge Alberto. (2015). Caracterización de la transferencia de inmunidad pasiva en terneras de lechería. *Agronomía Mesoamericana*, *26*(2), 203–209. https://doi.org/10.15517/am.v26i2.19276

Elizondo-Salazar, Jorge Alberto. (2016). *Importancia y Manejo del Calostro en el Ganado de Leche*. PennState Extension. https://extension.psu.edu/importancia-y-manejo-del-calostro-en-el-ganado-de-leche

Elizondo Salazar, J. A. (2007). Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agronomía Mesoamericana*, *18*(2), 271–281. https://doi.org/10.15517/am.v18i2.5057

Elsohaby, I. (2015). *Emerging Technologies for the Assessment of Bovine Immunoglobulins in Biofluids* [Tesis de Doctorado, University of Prince Edward Island]. https://www.researchgate.net/publication/314036674_Emerging_technologies_for_the_assessment_of_bovine_immunoglobulins_in_biofluids

Elsohaby, I., & Keefe, G. P. (2015). Preliminary validation of a calf-side test for diagnosis of failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *98*(7), 4754–4761. https://doi.org/10.3168/jds.2014-9027

Fariñas Guerrero, F. (2006). Diarreas víricas en ganado bovino. *MG Mundo Ganadero*, *17*(188), 17–20. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_MG/MG_2006_188_17_20.pdf

FEDEGAN. (2014). Bases para la Formulación del Plan de Acción 2014 – 2018 Para el Mejoramiento de la Ganadería del Departamento de Valle del Cauca. In *Federacion nacional de ganadero (FEDEGAN)* (Federación Colombiana de Ganaderos (Fedegán) – Fondo Nacional Del Ganado FORO GANADERÍA REGIONAL VISIÓN 2014 -2018). https://estadisticas.fedegan.org.co/DOC/download.jsp?pRealName=10.PlanValleFINAL.pdf&iIdFiles=657.

FEDEGAN. (2019). *Plan estratégico de la ganadería colombiana 2019 : por una ganadería moderna y solidaria*. Federación Colombiana de Ganaderos. https://www.fedegan.org.co/plan-estrategico-de-la-ganaderia-colombiana-2019

Flaherty, D. (2014). Antibodies. In *Immunology for Pharmacy.* (pp. 1–271). Elsevier Health Sciences.

Fruscalso, V. (2018). *Fatores associados à morbidade, à mortalidade e ao crescimento de bezerras leiteiras lactentes* [Tesis de Doctorado, Universidade Federal de Santa Catarina]. https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/192813/PAGR0418-T.pdf?sequence=-1

Furman-Fratczak, K., Rzasa, A., & Stefaniak, T. (2011). The influence of colostral immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *Journal of Dairy Science*, *94*(11), 5536–5543. https://doi.org/10.3168/jds.2010-3253

García Alegría, K. (2015). *Suplementación mineral y vitamánica de vacas lecheras en trópico durante el periodo de transición: efecto sobre perfil metabólico, lácteo, hormonal y resistencia insulínica* [Tesis de Maestria, Universidad Nacional De Colombia. Sede Palmira]. http://bdigital.unal.edu.co/49128/1/1113636754.2015.pdf

Gelsinger, S., & Heinrichs, A. J. (2017). A Short Review: The Immune System of the Dairy Calf and the Importance of Colostrum IgG. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, *5*(3), 104–107. https://doi.org/10.15406/jdvar.2017.05.00144

Gelsinger, S. L. (2016). *Tools to Assess Colostrum Management*. PennState Extension. https://extension.psu.edu/tools-to-assess-colostrum-management

Godden, S. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, *24*(1), 19–39. https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2007.10.005

Godden, S. M., Lombard, J. E., & Woolums, A. R. (2019). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, *35*(3), 535–556. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005

Gross, J. J., Schwarz, F. J., Eder, K., van Dorland, H. A., & Bruckmaier, R. M. (2013). Liver fat content and lipid metabolism in dairy cows during early lactation and during a mid-lactation feed restriction. *Journal of Dairy Science*, *96*(8), 5008–5017. https://doi.org/10.3168/jds.2012-6245

Hailu, M., Ambaw, B., Muluneh, G., Singa, A. K., & Woinue, Y. (2019). Review on Colostrum and Passive Immunity in New Boren Calve. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, *6*(1), 739–751. http://ijrar.org/papers/IJRAR19J1923.pdf

Hampe, M., & Wehrend, A. (2019). Bestimmung der Immunglobulin-G-Versorgung beim neugeborenen Kalb. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere*, *47*(2), 97–109. https://doi.org/10.1055/a-0858-4038

Herrera Benavides, Y., Brunal Tachad, E., Campillo, J., Rugeles Pinto, C., & Martínez Humanes, N. (2018). Perfil proteico en vacas lactantes y novillas de vientre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, *10*(2), 179–183. https://doi.org/10.24188/recia.v10.n2.2018.624

Herry, V., Gitton, C., Tabouret, G., Répérant, M., Forge, L., Tasca, C., Gilbert, F. B., Guitton, E., Barc, C., Staub, C., Smith, D. G. E., Germon, P., Foucras, G., & Rainard, P. (2017). Local immunization impacts the response of dairy cows to Escherichia coli mastitis. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–18. https://doi.org/10.1038/s41598-017-03724-7

Holdridge, L. R. (1987). *Ecología basada en zonas de vida* (H. Jimènez Saa (Trans.)). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=m3Vm2TCjM_MC&oi=fnd&pg=PR9&dq=Ecología+basada+en+zonas+de+vida.+.&ots=oNdH0s2FyI&sig=_zBrnfwfknsC8BlRxdqVMARM0zU#v=onepage&q=Ecología basada en zonas de vida. .&f=false

Homerosky, E. R., Timsit, E., Pajor, E. A., Kastelic, J. P., & Windeyer, M. C. (2017). Predictors and impacts of colostrum consumption by 4 h after birth in newborn beef calves. *The Veterinary Journal*, *228*, 1–6. https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2017.09.003

Hromadkova, J. (2018). *Effect of feeding management on neuroendocrine system and colonisation of gut bacteria in neonatal dairy calves* [Tesis de Maestria, University of Alberta]. https://doi.org/10.1590/s1809-98232013000400007

Hulbert, L. E., & Moisá, S. J. (2016). Stress, immunity, and the management of calves. *Journal of Dairy Science*, *99*(4), 3199–3216. https://doi.org/10.3168/jds.2015-10198

Hurley, W. L., & Theil, P. K. (2011). Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*, *3*(4), 442–474. https://doi.org/10.3390/nu3040442

ICA. (2018). *Censo Pecuario Nacional - 2018*. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-

2016/censo-2018.aspx

Inman, C., & Hudson, C. (2009). Cattle immunology: vaccination and immunological testing. *Livestock*, *14*(4), 35–39. https://doi.org/10.1111/j.2044-3870.2009.tb00295.x

*Innate Immune Responses in Cattle*. (2016). Bio-Rad-Antibodies. https://www.bio-rad-antibodies.com/static/2015/bovine-adaptive-and-innate-immunity/innate-immune-reponses-in-cattle.pdf

Kaneko, Jerry Jiro, Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (Eds.). (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (6th ed.). Elesevier. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=spsD4WQbL0QC&oi=fnd&pg=PP1&dq=Clinical+Biochemistry+of+Domestic+Animals+Sixth+Edition&ots=T0d1bFpq2d&sig=5ju0IgPngoKUaEL_KidlsNZNyA8#v=onepage&q=Clinical Biochemistry of Domestic Animals Sixth Edition&f=false

Klein-Jöbstl, D., Iwersen, M., & Drillich, M. (2014). Farm characteristics and calf management practices on dairy farms with and without diarrhea: A case-control study to investigate risk factors for calf diarrhea. *Journal of Dairy Science*, *97*(8), 5110–5119. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7695

Klinkon, M., & Ježek, J. (2012). Values of Blood Variables in Calves. *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine*, 301–320. https://doi.org/10.5772/32100

Lago, A., Socha, M., Geiger, A., Cook, D., Silva-del-Río, N., Blanc, C., Quesnell, R., & Leonardi, C. (2018). Efficacy of colostrum replacer versus maternal colostrum on immunological status, health, and growth of preweaned dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *101*(2), 1344–1354. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13032

Larzábal, M., Cataldi, A. A., & Vilte, D. A. (2019). Human and Veterinary Vaccines against Pathogenic Escherichia coli. In *The Universe of Escherichia coli* (pp. 1–20). intechopen. https://doi.org/10.5772/intechopen.82835

Lawrence, K., Broerse, N., Hine, L., Yapura, J., & Tulley, W. J. (2017). Prevalence of failure of passive transfer of maternal antibodies in dairy calves in the Manawatu region of New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, *65*(1), 1–5. https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1224207

Mas, A., Sanes, J. M., Reyes, J. A., Pallares, F. J., & Seva, J. I. (2010). Influencia de diferentes situaciones de estrés en la actividad enzimática muscular en bovino de lidia (Bos Taurus). *Anales de Veterinaria de Murcia*, *26*, 33–41.

http://revistas.um.es/analesvet/article/viewFile/125021/117051.

Mawatari, T., Hirano, K., Ikeda, H., Tsunemitsu, H., & Suzuki, T. (2014). Surveillance of diarrhea-causing pathogens in dairy and beef cows in Yamagata Prefecture, Japan from 2002 to 2011. *Microbiology and Immunology*, *58*(9), 530–535. https://doi.org/10.1111/1348-0421.12174

McGee, M., & Earley, B. (2019). Review: passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, *13*(4), 810–825. https://doi.org/10.1017/S1751731118003026

McGrath, B. A., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., & Kelly, A. L. (2016). Composition and properties of bovine colostrum: a review. *Dairy Science and Technology*, *96*(2), 133–158. https://doi.org/10.1007/s13594-015-0258-x

Morrill, K. M., Robertson, K. E., Spring, M. M., Robinson, A. L., & Tyler, H. D. (2015). Validating a refractometer to evaluate immunoglobulin G concentration in Jersey colostrum and the effect of multiple freeze–thaw cycles on evaluating colostrum quality. *Journal of Dairy Science*, *98*(1), 595–601. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8730

Mostafavi, M., Seifi, H. A., Mohri, M., & Jamshidi, A. (2013). Optimal thresholds of metabolic indicators of hepatic lipidosis in dairy cows. *Revue de Médecine Vétérinaire*, *164*(12), 564–571. https://www.researchgate.net/publication/279674012_Optimal_thresholds_of_metabolic_indicators_of_hepatic_lipidosis_in_dairy_cows

Nagyová, V., Tóthová, C., & Nagy, O. (2017). The impact of colostrum intake on the serum protein electrophoretic pattern in newborn ruminants. *Journal of Applied Animal Research*, *45*(1), 498–504. https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1218886

Nickell, J. S., Keil, D. J., Settje, T. J., Lectenberg, K. F., & Singu, Vijayakrishna, Woolums, A. R. (2016). Efficacy and safety of a novel DNA immunostimulant in cattle. *The Bovine Practioner*, *50*(1), 9–20. https://www.researchgate.net/publication/316488275_Efficacy_and_safety_of_a_novel_DNA_immunostimulant_in_cattle

Noya, A., Serrano-Pérez, B., Villalba, D., Casasús, I., Molina, E., López-Helguera, I., & Sanz, A. (2019). Effects of maternal subnutrition during early pregnancy on cow hematological profiles and offspring physiology and vitality in two beef breeds. *Animal Science Journal*, 1–13. https://doi.org/10.1111/asj.13215

Otter, A. (2013). Diagnostic blood biochemistry and haematology in cattle. *In Practice*,

*35*(1), 7–16. https://doi.org/10.1136/inp.e8719

Pardo M, D., & Oliver E, O. (2012). Identificación de agentes infecciosos asociados con Diarrea Neonatal Bovina en la Sabana de Bogotá. *MVZ Córdoba*, *17*(3), 3162–3168. http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v17n3/v17n3a10.pdf

Pardo Mora, D. P. (2012). *Determinación de los factores de riesgo y de los agentes etiologicos asociados con la presentación de diarrea Neonatal Bovina (DNB) en fincas de la Sabana de Bogota* [Tesis de Maestria, Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá]. http://www.bdigital.unal.edu.co/6420/1/dollypatriciapardomora.2012.pdf?

Pérez Zuluaga, T., & Contreras Villalba, R. A. (2014). *Evaluación de dos métodos de suministro de calostro en neonatos bovinos, Hacienda la Esperanza, Sopó Cundinamarca.* [Tesis de Pregrado, Universidad de la Salle]. http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17182/14062147_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Petzl, W., Zerbe, H., Günther, J., Seyfert, H. M., Hussen, J., & Schuberth, H.-J. (2018). Pathogen-specific responses in the bovine udder. Models and immunoprophylactic concepts. *Research in Veterinary Science*, *116*, 55–61. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.12.012

Pulendran, B., & Ahmed, R. (2006). Translating innate immunity into immunological memory: Implications for vaccine development. *Cell*, *124*(4), 849–863. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.019

Pulido-Medellín, M. O., Andrade-Becerra, R. J., Iván Rodríguez-Vivas, R., & Garcia-Corredor, D. J. (2014). Prevalencia y posibles factores de riesgo en la excreción de ooquistes de Cryptosporidium spp en bovinos de Boyacá, Colombia Prevalence and possible risk factors for Cryptosporidium spp oocyst excretion in dairy cattle in Boyacá, Colombia. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *5*(3), 357–364. http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v5n3/v5n3a8.pdf

Quigley, J. (2004). The role of oral immunoglobulins in systemic and intestinal immunity of neonatal calves. *Cedar Rapid, Iowa, USA: Diamond V Mills*. http://www.dairyweb.ca/Resources/PDHGA2006/Quigley3.pdf

Quigley, J. (2016). *Calf Note 186 – Serum total protein and colostrum replacers*. Calfnotes. http://www.calfnotes.com/pdffiles/CN186.pdf

Quigley, J. D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., & Polo, J. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, *96*(2), 1148–1155. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5823

Rabinovitz, B. C., Gerhardt, E., Tironi Farinati, C., Abdala, A., Galarza, R., Vilte, D. A., Ibarra, C., Cataldi, A., & Mercado, E. C. (2012). Vaccination of pregnant cows with EspA, EspB, γ-intimin, and Shiga toxin 2 proteins from Escherichia coli O157:H7 induces high levels of specific colostral antibodies that are transferred to newborn calves. *Journal of Dairy Science*, *95*(6), 3318–3326. https://doi.org/10.3168/jds.2011-5093

Reyes-Castañeda, L. J., Parra-Arango, J. L., & Flórez–Díaz, H. (2016). Concentración de inmunoglobulina G en calostro bovino en cruces Bos taurus x Bos indicus en los primeros tres días pos parto. *Orinoquia*, *20*(1), 39–45. http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a04.pdf

Roa-Vega, M. L., Ladino-Romero, E. A., & Hernández-Martínez, M. C. (2017). Indicadores de bioquímica sanguínea en bovinos suplementados con Cratylia argentea y Saccharomyces cerevisiae. *Pastos y Forrajes*, *40*(2), 144–151. http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v40n2/pyf08217.pdf

Romero Peñuela, M. H., Uribe-Velásquez, L. F., & Sánchez Valencia, J. A. (2011). Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud, Revista Ciencias Básicas*, *10*(1), 71–87. https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1729

Rondón Barragan, I. S. (2004). Inmunoestimulantes en medicina veterinaria. *Revista Orinoquia*, *8*(2), 56–75. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89680206

Russell, K. E., & Roussel, A. J. (2007). Evaluation of the Ruminant Serum Chemistry Profile. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, *23*(3), 403–426. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.003

Salas Riczker, A. (2001). Inmunomoduladores : Usos clmicos y perfil farmacodinamico de los inmunoestimulantes biologicos . *Revista de La Facultad de Ciencias Médicas (Quito)*, *26*(2–3), 3–10. http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/CIENCIAS_MEDICAS/article/view/922/928

Samarütel, J., Baumrucker, C. R., Gross, J. J., Dechow, C. D., & Bruckmaier, R. M. (2016). Quarter variation and correlations of colostrum albumin, immunoglobulin G1 and G2 in dairy cows. *Journal of Dairy Research*, *83*(2), 209–218.

https://doi.org/10.1017/S0022029916000091

Schäff, C. T., Gruse, J., Maciej, J., Mielenz, M., Wirthgen, E., Hoeflich, A., Schmicke, M., Pfuhl, R., Jawor, P., Stefaniak, T., & Hammon, H. M. (2016). Effects of feeding milk replacer ad libitum or in restricted amounts for the first five weeks of life on the growth, metabolic adaptation, and immune status of newborn calves. *PLoS ONE*, *11*(12), 1–24. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168974

Sears, K. T., Tennant, S. M., Reymann, M. K., & Simon, R. (2017). Bioactive Immune Components of Anti-Diarrheagenic Enterotoxigenic Escherichia coli Hyperimmune Bovine Colostrum Products. *Clinical and Vaccine Immunology*, *24*(8), 1–14.

Seppä-Lassila, L., Oksanen, J., Herva, T., Dorbek-Kolin, E., Kosunen, H., Parviainen, L., Soveri, T., & Orro, T. (2018). Associations between group sizes, serum protein levels, calf morbidity and growth in dairy-beef calves in a Finnish calf rearing unit. *Preventive Veterinary Medicine*, *161*, 100–108. https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2018.10.020

Shahnawaz, S., Ali, M., Aslam, M. A., Fatima, R., Chaudhry, Z. I., Hassan, M. U., Ali, M., & Iqbal, F. (2011). A study on the prevalence of a tick-transmitted pathogen, Theileria annulata, and hematological profile of cattle from Southern Punjab (Pakistan). *Parasitology Research*, *109*(4), 1155–1160. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2360-1

Shawky, S. M., Thabet, N. S., Orabi, S. H., & Nayel, M. A. (2016). A Comparative Study on the Hemato-Biochemical and Immunological Effects of the Hexavalent FMD Vaccine Alone or in Combination with Trivalent FMD Vaccine in Cattle. *Journal of Biosciences and Medicines*, *4*(1), 16–26. https://doi.org/10.4236/jbm.2016.41003

Singh, A. K., Pandita, S., Vaidya, M. M., Singh, S. V., Chandra, G., Pampoori, Z. A., Huozha, R., Pathan, M. M., Kushwaha, R., & Sharma, V. K. (2011). Bovine colostrums and neonate immunity : A review. *Agricultural Reviews*, *32*(2), 72–90. https://www.researchgate.net/publication/262562157_Bovine_colostrums_and_neonate_immunity_A_review

Smith, G. S., Walter, G. L., & Walker, R. M. (2013). Clinical Pathology in Non-Clinical Toxicology Testing. In W. M. Haschek, C. G. Rousseaux, & M. A. Wallig (Eds.), *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology* (3rd ed., pp. 565–594). Academic Press,. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00018-2.

Soriano Toloza, M. F. (2014). *Evaluación de la efectividad de la vacuna Escherichia Coli k99 en bovinos de leche en dos fincas en la sabana de Bogotá* [Tesis de Pregrado, Universidad de la Salle]. http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/17578/14101600_2014.pdf?sequence=3&isAllowed=y

Spitalniak, K., Kupczynski, R., Piasecki, T., & Zwyrzykowska, A. (2016). Infectious Agents of Calf Mortality in Neonatal Period. *MendelNet*, 279–283. https://mendelnet.cz/pdfs/mnt/2016/01/50.pdf

Stark, A., Wellnitz, O., Dechow, C., Bruckmaier, R., & Baumrucker, C. (2015). Colostrogenesis during an induced lactation in dairy cattle. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *99*(2), 356–366. https://doi.org/10.1111/jpn.12205

Tizard, I., & Payne, S. L. (2019). *Active Immunization*. MSD Manual Veterinary. https://www.msdvetmanual.com/pharmacology/vaccines-and-immunotherapy/active-immunization.

Tizard, I. R. (2009). Inmunidad en el feto y el recién nacido. In Diorki (Trans.), *Introducción Inmunologia Veterinaria* (8th ed., pp. 1–574). Elsevier. https://www.academia.edu/35951470/Inmunologia-Veterinaria-Tizard.pdf

Tizard, I. R. (2018). Inmunidad innata humoral: mediadores de la inflamación. In *Inmunología veterinaria* (10th ed., pp. 18–49). Elsevier.

Todd, C. G., McGee, M., Tiernan, K., Crosson, P., O'Riordan, E., McClure, J., Lorenz, I., & Earley, B. (2018). An observational study on passive immunity in Irish suckler beef and dairy calves: Tests for failure of passive transfer of immunity and associations with health and performance. *Preventive Veterinary Medicine*, *159*, 182–195. https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2018.07.014

Torsein, M., Lindberg, A., Sandgren, C. H., Waller, K. P., Törnquist, M., & Svensson, C. (2011). Risk factors for calf mortality in large Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, *99*(2–4), 136–147. https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2010.12.001

Tóthová, C., Mihajlovičová, X., & Nagy, O. (2017). The Use of Serum Proteins in the Laboratory Diagnosis of Health Disorders in Ruminants. In *The Husbandry, Economic and Health Aspects* (pp. 125–126). IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.72154

Tóthová, C., Nagy, O., Kováč, G., & Nagyová, V. (2016). Changes in the concentrations

of serum proteins in calves during the first month of life. *Journal of Applied Animal Research*, *44*(1), 338–346. https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1031791

Trujillo Hernández, S. (2014). *Variación energética, proteica, hormonal y láctea durante el período gestación - posparto en vacas doble propósito* [Tesis de Maestria, Universidad Veracruzana]. https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/39979/trujillohernandezsandra.pdf?sequence=1&isAllowed=y

UETAKE, K. (2013). Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Animal Science Journal*, *84*(2), 101–105. https://doi.org/10.1111/asj.12019

Vendrig, J. C., Coffeng, L. E., & Fink-Gremmels, J. (2012). Equine colostral carbohydrates reduce lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in equine peripheral blood mononuclear cells. *Equine Veterinary Journal*, *44*(SUPPL. 43), 68–72. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00680.x

Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *14*, 569–577. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02278.x

Windeyer, M. C., & Gamsjäger, L. (2019). Vaccinating Calves in the Face of Maternal Antibodies: Challenges and Opportunities. In *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* (Vol. 35, Issue 3, pp. 557–573). W.B. Saunders. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.004

Woolums, A. R. (2007). accinating calves: new information on the effects of maternal immunity. *In Proceedings AABP Conference*, *40*, 10–17.

Woolums, Amelia R. (2008). Immune Development of the Ruminant Neonate. In *Dairy cattle.* (pp. 1–5). http://www.dairyweb.ca/Resources/MNC2008/Woolums.pdf

Yepes Mejía, M., & Prieto Quevedo, C. (2011). *Relación de la concentración de proteína sérica, la calidad de calostro y la ganancia de peso en terneros lactantes en hatos de la sabana de Bogotá* [Tesis de Pregrado, Universidad de la Salle]. http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6383/T13.11 Y43r.pdf?sequence=1

Yilmaz, Ö., & Kasikci, G. (2013). Factors affecting colostrum quality of ewes and immunostimulation. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *37*(4), 390–

394. https://doi.org/10.3906/vet-1210-33

Zemankova, N., Chlebova, K., Matiasovic, J., Prodelalova, J., Gebauer, J., & Faldyna, M. (2016). Bovine lactoferrin free of lipopolysaccharide can induce a proinflammatory response of macrophages. *BMC Veterinary Research*, *12*(1), 1–9. https://doi.org/10.1186/s12917-016-0878-2