

**Frecuencia de diarreas, evaluación de la presencia de *Cryptosporidium spp* y su relación con el nivel de proteínas plasmáticas en terneros de la granja San Pedro de la UAN**

Angie Cruz, Michelle Ortiz, Laura Moreno y Paola Olivares

Facultad de Medicina Veterinaria

Universidad Antonio Nariño

Trabajo de grado

Dolly P. Pardo Mora

Enero, 2020

## CONTENIDO

Resumen	4
Introducción	6
1. Planteamiento del problema	7
2. Justificación	9
3. Objetivos	11
3.1 Objetivo general	11
3.2 Objetivos específicos	11
4. Marco teórico	12
4.1 Inmunidad neonatal	12
4.2 Calostro	13
4.3 Métodos para detectar falla en la transferencia de inmunidad pasiva	14
4.3.1 Prueba de precipitación de sulfito de sodio	15
4.3.2 Proteínas plasmáticas totales	15
4.3.3 Inmunodifusión radial	17
4.4 Diarrea neonatal bovina	17
4.5 <i>Cryptosporidium spp</i>	18
4.5.1 Sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas	21
5. Metodología	25
5.1 Tipo de investigación	25
5.2 Operacionalización de Variables	25
5.3 Localización	25
5.4 Población de estudio	26
5.5 Colecta de datos	26

5.6 Colecta de muestras	26
5.7 Pruebas de laboratorio	27
5.7.1 Nivel de proteínas plasmáticas totales (PPT)	27
5.7.2 Presencia de <i>Cryptosporidium spp</i>	27
5.8 Recopilación de información	29
5.9 Criterios de inclusión y exclusión	29
5.10 Análisis de la información	30
6. Resultados	31
6.1 Información de las madres y terneros	31
6.2 Resultados asociados con los terneros	32
6.2.1 Peso al nacimiento y raza	32
6.2.2 Consumo de calostro	33
6.2.3 Hallazgos al examen clínico	34
6.3 Presentación de diarreas y resultados frente a <i>Cryptosporidium spp</i>	34
6.4 Resultados de la absorción de Igs	36
6.4.1 Proteínas plasmáticas totales y hematocrito	37
6.4.2 Relación de diarreas y proteínas plasmáticas totales	38
7. Discusión	39
Conclusiones	50
Recomendaciones	51
Referencias	62
Anexos	64

## RESUMEN

La diarrea neonatal bovina (DBN) es una enfermedad compleja y multifactorial que afecta frecuentemente a terneros por sus factores de riesgo asociados, como lo es la condición agammaglobulinémica al nacimiento y la falla en la transferencia de inmunidad pasiva. Para contribuir en la ejecución de estudios y evaluar qué cantidad de diarreas se presentan en la Granja San Pedro de la UAN se realizó un estudio para verificar la frecuencia de diarreas, evaluar la presencia de *Cryptosporidium spp* y relacionar las diarreas con el nivel de proteínas plasmáticas totales en terneros, se evaluaron un total de 13 terneros a los que se le tomaron muestras de sangre (para evaluar las proteínas plasmáticas totales y hematocrito) y coprológicos seriados por 10 semanas (para evaluar la presencia de ooquistes mediante la tinción de Ziehl Neelsen modificada). Las diarreas se clasificaron como: Leve, moderada y severa, donde la mayor presencia de diarrea (leve y moderada) se presentó en las dos primeras semanas de nacimiento del ternero, pero no se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium spp*, en cuanto a las proteínas plasmáticas 11 de los 13 terneros a los que se muestrearon estuvieron dentro del rango como una excelente transferencia de inmunidad (>5g/dl).

**PALABRAS CLAVE:** *Cryptosporidium spp*, Diarrea neonatal Bovina, inmunidad neonatal, proteínas plasmáticas totales, tinción de Ziehl Neelsen

**ABSTRACT:** Neonatal bovine diarrhea (DBN) is a complex and multifactorial disease that frequently affects calves due to its associated risk factors, such as the condition agammaglobulinemic at birth and the failure in the transfer of passive immunity. In order to contribute to the execution of studies and to evaluate the amount of diarrhea presented at the San Pedro Farm of the UAN, a study was carried out to verify the frequency of diarrhea, evaluate the presence of *Cryptosporidium spp* and relate diarrhea to the level of total plasma

proteins in calves, A total of 13 calves were evaluated and blood samples were taken (to evaluate total plasma proteins) and 10-week serial coprological (to assess the presence of oocysts by modified Ziehl Neelsen staining). Diarrhea was classified as: Mild, moderate and severe, where the greatest presence of diarrhea (mild and moderate) occurred in the first two weeks of birth of the calf, but no oocysts of *Cryptosporidium spp* were found, in terms of plasma proteins 11 of the 13 calves sampled were within range as an excellent immunity transfer (> 5g/dl).

**KEYWORDS:** *Cryptosporidium spp*, Bovine neonatal diarrhea, neonatal immunity, total plasma proteins, Ziehl Neelsen stain

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades entéricas son comunes en terneros y representan grandes pérdidas tanto en la industria lechera como en la cárnica, por su alta mortalidad y tratamientos poco efectivos. Las dificultades en el diagnóstico etiológico se debe a que no hay signos patognomónicos de cada uno de los agentes involucrados, animales asintomáticos, presentación mixta de los agentes y la interacción de factores intrínsecos y extrínsecos que predisponen a la infección, como la falla en la transferencia de inmunoglobulinas (Baquero, 2008) este es uno de los factores de riesgo para la presentación de problemas digestivos. El calostro confiere inmunidad al ternero hasta que desarrolla su propio sistema inmunológico, este contiene inmunoglobulinas que protegen la mucosa intestinal de los patógenos (Vargas, Elizondo & Noguera, 2014).

En los últimos meses se presentaron problemas de diarreas en la granja San Pedro de Usme en los terneros, evidenciando un problema de salud y económico que afecta a la granja de manera significativa. El objetivo del trabajo fue determinar la cantidad de diarreas que se presentaron en ese momento y darles un seguimiento para evaluar si *Cryptosporidium spp* estaba involucrado.

Este trabajo se realizó con el fin de hacer un estudio en la Sede Usme, ya que no se ha reportado información acerca de los problemas presentados y no se han realizado estudios acerca de estos casos.

## 1. PLANTEAMIENTO PROBLEMA

La diarrea neonatal bovina (DNB), es una enfermedad compleja y multifactorial que ocurre como consecuencia a la interacción de factores relacionados con la vaca, el ternero, estado inmune, prácticas de manejo, factores ambientales y la infección con enteropatógenos. Uno de los factores de riesgo más importante para la presentación de la DNB es la falla total o parcial de la transferencia de inmunidad pasiva, poco consumo de calostro o ser hijos de vacas primerizas (Pardo & Oliver, 2012).

Tales factores hacen que la diarrea neonatal bovina sea considerada como uno de los mayores desafíos para la salud tanto en la industria cárnica como en la lechera. Más del 20% de los propietarios de ganado vacuno de carne sienten que la diarrea tiene un impacto significativo en su productividad económica y esta representa más de la mitad de toda la mortalidad de terneras en las granjas lecheras (Foster & Smith, 2009).

Los patógenos involucrados en DNB es compleja, muchos agentes infecciosos solos o en combinación son asociados con la presentación de brotes. Los principales agentes infecciosos que se han encontrado involucrados son de origen bacteriano como: *E. coli* (ETEC), *Salmonella spp*, de origen viral: *Rotavirus*, *Coronavirus* y protozoarios: *Eimeria spp*, *Cryptosporidium spp*, *Giardia spp* (Pardo, 2012).

En rumiantes, la aparición de *Cryptosporidium spp* ha sido vinculada con gastroenteritis en terneros entre 0 y 2 meses de edad, se presenta una alta tasa de morbilidad en ganado lechero, terneros antes del destete, terneros recién destetados y en ganado más viejo (Holsback *et al.*, 2018). Su presencia produce síndrome de malabsorción y diarrea, atrofia de las vellosidades y pérdida de enzimas digestivas. La diarrea es considerada una de

las causas principales de morbilidad y mortalidad en los terneros, ya que se asocia con deshidratación, debilidad y eventual muerte (Silva *et al.*, 2018).

Particularmente en la granja San Pedro de Usme se han evidenciado casos de diarreas en terneros, por este motivo se realizó un estudio para realizar un seguimiento a las diarreas y evaluar la presencia de *Cryptosporidium spp*, y poder relacionarlo con la falla de la transferencia de inmunidad en los terneros a partir de esto se concreta como problema de investigación el siguiente interrogante.

¿Qué cantidad de diarreas se presentan en terneros de 10 semanas en la granja San Pedro de la UAN y se puede asociar esto con la presentación de *Cryptosporidium spp*?



## 2. JUSTIFICACIÓN

Dentro de la especie bovina, los terneros son especialmente susceptibles a la infección con *Cryptosporidium spp*, aunque se ha demostrado la infección desde el segundo día de nacido, la mayor prevalencia ocurre en terneros de 15 a 21 días de edad, los cuales en la mayoría de los casos presentan cuadros diarreicos. La prevalencia de bovinos positivos a *Cryptosporidium spp* depende de: condiciones epidemiológicas, zona geográfica estudiada, historia clínica del hato, sistema de explotación, prácticas de higiene, manejo y edad al momento del muestreo de los bovinos. En Europa los reportes de prevalencias varían entre 15.6 y 83 %, en América, las prevalencias presentan variaciones que van desde 9.7% hasta 75%. Por su carácter zoonótico, *Cryptosporidium spp* representa un riesgo potencial en la transmisión hacia los bovinos y otras especies animales, incluidos los humanos (Pulido, Andrade, Rodríguez & García, 2014).

Cuanto peor sean las condiciones sanitarias encontradas en el ambiente, mayor será el riesgo de contagio y aparición de *Cryptosporidium spp* entre los terneros. En la mayoría de los casos, se observó una mayor mortalidad de terneros criados en pisos irregulares que los criados en pisos lisos, ya que el piso liso permite un flujo adecuado de las heces, disminuyendo el riesgo de infección. Un ternero llega a eliminar hasta 10 millones de ooquistes por gramo de heces (Formiga *et al.*, 2004).

Se considera que uno de los factores de riesgo por el que se pueda presentar la criptosporidiosis es la falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), cuando el ternero nace y no se suministra calostro en el volumen, tiempo o calidad adecuada, no tendrá defensas suficientes para atacar a los microorganismos presentes en el ambiente. Es importante proteger al ternero desde las primeras horas de vida, siendo esta la mejor manera

de prevenir enfermedades infecciosas (Muñoz, 2018). Los factores que influyen en la falla de la transferencia pasiva de inmunoglobulinas pueden ser de tipo ambientales (temperaturas extremas, estabulación, alimentación), de manejo (bajo contenido de inmunoglobulinas en el calostro, ingestión de calostro después de seis horas) y propias del animal (raza, edad de la madre, número de partos, celos, ciclo de lactancia) (Menares, 2011).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo General

Determinar la frecuencia de diarreas y evaluar la presencia de *Cryptosporidium spp* en terneros de la granja San Pedro de la UAN

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Determinar las frecuencias y edades de presentación de diarreas en las primeras 10 semanas de vida en terneros de la Granja, entre agosto 2019 y enero 2020.
- Evaluar la presencia de *Cryptosporidium spp* en heces, mediante Tinción de Ziehl-Neelsen modificada.
- Comparar el nivel de proteínas plasmáticas totales con los diferentes métodos para detectar falla en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas basados en la literatura.

## 4. MARCO TEORICO

### 4.1. Inmunidad neonatal.

El sistema inmune es el que permite que el organismo pueda protegerse de ataques parasitarios, bacterianos, virales o cualquier agravio que esté afectando la buena salud del animal. La transferencia de inmunidad pasiva a través del calostro es fundamental para la salud y supervivencia del ternero en las primeras semanas de vida, ya que la placenta del bovino es de tipo epiteliocorial la cual impide el paso de inmunoglobulinas, proteínas y anticuerpos al feto durante la gestación; al nacer el ternero presenta una condición agammaglobulinémica como condición normal o hipogammaglobulinemia (Beltrán, 2011).

Por otra parte, debido a que la transferencia de inmunoglobulinas (Igs) vía placentaria en el bovino es nula, el calostro tiene una importancia fundamental. La permeabilidad del intestino para la absorción de Igs es máxima hasta 24 horas, inmediatamente después del nacimiento, luego disminuye rápidamente. Cuando el calostro se transforma en leche, los tejidos linfoides del intestino de los animales recién nacidos ya son capaces de responder a los antígenos ingeridos. Los terneros que no son amamantados presentan hipogammaglobulinemia y empiezan a sintetizar sus propias Igs al cabo de una semana de vida, período en el cual se encuentran altamente susceptibles a la presentación de infecciones (Tepán, 2011).

Dichas situaciones, obedecen además a diversos factores que de una u otra manera influyen en la falla de la transferencia pasiva de inmunoglobulinas que pueden ser de tipo ambientales (temperaturas extremas, estabulación, alimentación), de manejo (bajo contenido de Igs en el calostro, ingestión de calostro después de seis horas) y propias del animal (raza, edad de la madre, número de partos, celos, ciclo de lactancia) (Menares, 2011).

## 4.2 Calostro.

Este tiene un contenido alto de inmunoglobulinas (70% - 80% IgG, 10% - 15% IgM y 10% - 15% IgA) (Carrillo, Loaiza & Campo, 2009) y linfocitos T y B, donde la IgG expresa actividades como activación del complemento, opsonización y aglutinación bacteriana, la inmunoglobulina G (subclases IgG1 e IgG2) es el principal componente inmunitario, aunque también están presentes en niveles bajos la IgA e IgM (Gapper, Copestake, Otter & Indyk, 2007), además de estas funciones aportan protección a los terneros en las primeras semanas de vida y favorecen el desarrollo del tracto gastrointestinal y otros sistemas los cuales determinan la productividad y estatus sanitario del animal (Muñoz, 2018), el calostro cumple tres funciones (Tello & Zedeño, 2015):

- 1) Ayuda a combatir al ternero de posibles infecciones debido a su alto contenido de inmunoglobulinas
- 2) Posee niveles altos en energía que lo ayudan a combatir posibles hipotermias
- 3) Contiene sales de magnesio, las cuales tienen un efecto de laxante que ayuda a expulsar el meconio y a la vez facilita el inicio de la actividad intestinal.

En ese sentido, la producción del calostro inicia lentamente durante las cinco últimas semanas del periodo seco, en ese mismo lapso de tiempo se está acumulando las inmunoglobulinas para obtener los niveles más altos a la tercera semana antes de parir o dar la cría; en el momento del parto las inmunoglobulinas almacenadas en la glándula mamaria se diluyen, la concentración de las inmunoglobulinas de la ubre descienden a un 33% en las primeras 6 horas del amamantamiento y el 66% restante desaparecen a las 24 horas posparto (Beltrán, 2011).

La cantidad, composición y características fisicoquímicas del calostro pueden variar por factores como la duración de la gestación y el periodo seco de la vaca, intervalo entre partos, número de lactancias, raza, calidad de la alimentación en el periodo preparto y la edad del animal, ya que las vacas después de la tercera lactancia tienden a presentar mayor concentración de Igs calostrales, que vacas más primíparas (Carrillo, Loaiza & Campo, 2009).

Los terneros que no alcanzan la concentración de Igs para lograr una inmunidad adecuada presentan enfermedades entéricas la primera semana de vida y enfermedades respiratorias hasta la 4 semana; la mayoría de las muertes post-destete pueden atribuirse a enfermedades respiratorias, las bajas ganancias de peso generadas por las diarreas severas ocasionan mayor tasa de mortalidad (Muñoz, 2018).

#### **4.3 Métodos para detectar falla en la transferencia de inmunidad pasiva.**

Existen distintas formas de medir Igs en terneros, las cuales se clasifican a través de métodos indirectos y métodos directos (Menares, 2011):

- *Métodos indirectos*: Son de tipo estimativo, miden la concentración sérica de IgG con base a la concentración de globulinas totales, entre los métodos indirectos más utilizados se encuentran prueba de proteínas totales por refractómetro, prueba de precipitación de sulfito de sodio, prueba de turbidez de sulfato de zinc (ZST), actividad de GGT sérica y prueba de coagulación de glutaraldehído modificado (MGC) en sangre completa.
- *Métodos directos*: Los más conocidos son la inmunodifusión radial y el ensayo inmunoenzimático enzima vinculada (ELISA), ya que estos miden directamente la concentración de IgG.

#### **4.3.1 Prueba de precipitación de sulfito de sodio.**

Esta prueba es rápida y efectiva; es posible tamizar un elevado número de crías en un mínimo tiempo y con un equipo básico, lo cual es posible su utilización en campo (Sánchez, 2010).

Esta es una prueba semi cuantitativa de 3 pasos, usando 14%, 16% y 18% de solución de sulfito de sodio, en la que ocurre una precipitación de proteínas de alto peso molecular, incluyendo inmunoglobulinas. Si aumentamos la concentración del reactivo induce una menor precipitación de proteínas y si disminuimos la concentración del reactivo genera mayores concentraciones de Igs, por lo tanto, nos arroja una sobreestimación de Igs (Menares, 2011).

Se toma muestra de sangre a los terneros y una vez centrifugada se toma 0.1 ml de suero y con 6 ml de solución de sulfito de sodio, se agita y se deja incubar por 1 h, a temperatura de 20° C; luego, con el espectrofotómetro se mide la precipitación. Un resultado menor a 10 mg/ml indica una deficiente toma de calostro (Beltrán, 2011).

#### **4.3.2 Proteínas plasmáticas totales**

El plasma sanguíneo contiene normalmente 6.5 a 8 % de diferentes proteínas con funciones específicas, entre ellas (Angarita & Granada, 2009):

- Fibrinógeno: Se forma en el hígado y juega un papel importante en la coagulación de la sangre
- Albúmina: Predominantemente en el hígado, pero también, en menor cantidad, en otros tejidos. Responsable de la presión coloid-osmótica del plasma y también transporta

sustancias que se unen a ellas como hormonas, vitaminas, bilirrubina, medicamentos, etc., y las lleva por circulación a los órganos efectores.

- Globulinas: Producidas principalmente en el hígado (80%) y linfocitos (20%). Existen tres tipos de globulina: alfa, transportadoras del angiotensinógeno, de las vitaminas liposolubles y del cobre; beta, transportadora de transferrina, vitaminas y hormonas y gamma, en su mayor parte son anticuerpos.

En un estudio realizado en la sabana de Bogotá donde se correlaciono la ganancia de peso, concentración de calostro y proteínas totales se evidencio que los terneros que habían tenido una buena concentración de calostro con una alta concentración de proteínas plasmáticas garantizaban una buena ganancia de peso. Como resultado se obtuvo valores de proteínas entre 5,2 – 6,3 g/dL y una ganancia de peso de 511gr/día hasta 811 gr/día en las diferentes fincas seleccionadas (Yepes & Prieto, 2011). Estos resultados respaldan a los de Tello y Zedeño donde se estudiaron las mismas variables, pero se administraron calostros con diferente concentración entre 22 a 50 mg/mL y a diferentes horas después del nacimiento, dando como resultado unas proteínas entre 5,4 a 7,6 g/dL donde terneros a los cuales se les suministro calostro de mejor calidad obtuvieron una alta concentración de proteínas y una mejor ganancia de peso (Tello & Zedeño, 2015).

En Valdivia, Chile, analizaron el efecto del uso de calostro comercial sobre la inmunidad pasiva en terneros Holstein nacidos en invierno, analizando las proteínas totales en suero y el manejo de la prueba de turbidez de sulfito de sodio para saber los niveles de inmunoglobulinas en esos terneros (Menaes, 2011).



### **4.3.3 Inmunodifusión radial**

Este es el método de referencia para evaluar la falla en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas (es sensible para detectar nivel de proteínas plasmáticas) y calidad del calostro ya que usa anticuerpos anti-inmunoglobulinas específicas bovinas, las cuales, al estar presentes en una capa de agar sobre una placa, reaccionan con el suero formando un anillo de precipitación cuyo diámetro es proporcional a la cantidad de inmunoglobulinas presentes (Menares, 2011). Esta técnica se basa en la precipitación de antígeno y anticuerpo contra un complejo de precipitina insoluble, por lo tanto, mide directamente la concentración de IgG en suero o plasma (Morales & Gaitán, 2011). Entre sus ventajas, es que presenta una alta sensibilidad y especificidad, sin embargo, presenta diversas limitaciones, como el tiempo que requiere para obtener resultados, el cual va de 48 a 72 horas para que ocurra la difusión óptima y que la precipitación del anillo se haga evidente, presenta un elevado costo y es una técnica propensa a errores en el análisis, particularmente con calostro bovino presentando mala precisión cuantitativa (Gapper, Copestake, Otter & Indyk, 2007).

### **4.4 Diarrea neonatal bovina.**

La diarrea es el aumento en el volumen o contenido líquido de las deposiciones, cambios en la consistencia y aumento en su frecuencia (Sagaró, 2007). La diarrea neonatal continúa siendo un problema sanitario de naturaleza multifactorial muy importante y común en la ganadería lechera ya que conlleva al deterioro de la respuesta inmune y, en casos mal atendidos, a la muerte del animal.

El Sistema Nacional de Monitoreo de Salud Animal de los EE. UU indica que el 57% de la mortalidad de terneros fue por diarrea neonatal, especialmente en terneros menores de un mes de edad (Sandoval *et al.*, 2017). En Colombia, se ha asociado la presencia de la

enfermedad con la falta de drenaje en los potreros, vacas y crías reunidas al mismo tiempo, sistema inmune del ternero y falla en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas (FTPI) a través del calostro. Se encuentran involucrados patógenos como la *Escherichia coli* (enterotoxigénica), *Coronavirus* y *Rotavirus* bovino, *Eimeria spp*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fecalis*, *Giardia spp*, *Salmonella enterica*, *Clostridium perfringens* (tipo C) y *Clostridium difficile* podrían ser responsables de la enfermedad (Baquero, 2008).

La prevalencia relativa de estos agentes varía bastante entre los estudios realizados, posiblemente por diferencias en ubicación, clima, técnicas diagnósticas y otros factores (Pardo & Oliver, 2012). Se ha considerado que el *Rotavirus* es la causa más común de diarrea, *Coronavirus* y *E. coli* enterotoxigénica, tienen la mayor tasa de mortalidad generando un impacto económico más alto (Pardo, 2012). Trabajos más recientes encuentran que el agente que se presenta con mayor frecuencia en los terneros es *Cryptosporidium* seguido del *Rotavirus*, con prevalencias entre 27,8% - 28,6% para *Rotavirus* y 17,7 - 27,2% para *Cryptosporidium spp* (Pardo & Oliver, 2012).

*Cryptosporidium spp* es un importante protozoo descrito por primera vez en 1912 en cortes histológicos de intestino de ratón (Hernández & Cortez, 2012), este pertenece al phylum: Apicomplexa, Clase: Sporozoa, Subclase: Coccidia, Familia: Cryptosporididae. Se describen 15 especies de este protozoo, sin embargo *C. parvum* es la especie que más afecta a los animales incluido el humano (Morales, 2011).

#### **4.5 *Cryptosporidium spp*.**

Este protozoo es esférico o elíptico. En las células epiteliales del intestino presenta un tamaño entre 2 y 6  $\mu\text{m}$  y se encuentran localizados en vacuolas parasitóforas (Hernández &

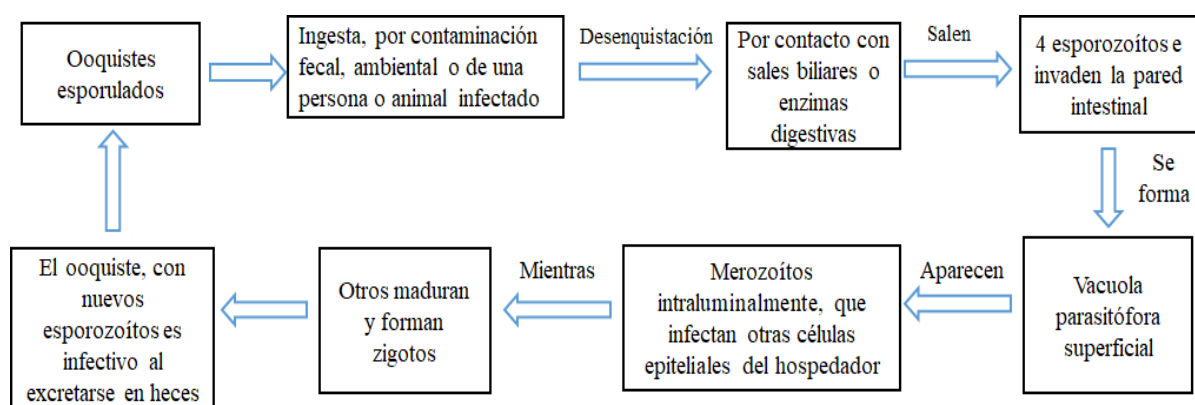
Cortez, 2012). Este afecta principalmente el tracto gastrointestinal, produciendo una diarrea generalmente autolimitante, siendo su patogenicidad variable según la especie del parásito involucrado, edad y estado inmunitario del huésped (Sánchez, Romero & Rosannigo, 2013). Es un parásito reconocido por ser uno de los principales en causar diarreas en terneros de hasta un mes de edad (Avendaño, Amaya & Bayona, 2010), la infección es responsable de una alta mortalidad por la presentación de diarreas causando graves pérdidas económicas debido al retraso en el crecimiento, pérdida de peso y costos en tratamientos nada efectivos (Castro del Campo, Enríquez, Portillo & Gaxiola, 2017).

La diarrea puede presentarse como único patógeno o en infecciones mixtas con otros agentes, tales como *Rotavirus* y *E. coli*, el cuadro clínico varía de una diarrea leve a severa y la morbilidad es alta, pero la mortalidad es baja (Pardo, 2012). La mayor prevalencia ocurre en terneros de 15 a 21 días de edad, los cuales en la mayoría de los casos presentan cuadros diarreicos ocasionados por este parásito; los animales adultos, desarrollan infección activa del parásito y generalmente son asintomáticos, pero excretan gran cantidad de ooquistes perpetuando la presencia de la enfermedad en las explotaciones (Pulido, Andrade, Rodríguez & García, 2014). Según un estudio en la sabana de Bogotá donde se muestreo a 151 terneros se encontró que el 22% de ellos fue positivo a *Cryptosporidium spp*, diagnosticados por la tinción de Ziehl-Neelsen (Avendaño, Amaya & Bayona, 2010). En otro estudio epidemiológico, se encontró que la especie más afectada por criptosporidiosis es la bovina, en especial los neonatos. Los resultados de encuestas epidemiológicas son muy variables, pero por lo general indican una mortalidad alta (10-85%); el síndrome diarreico tiene una etiopatogenia compleja; cuando *Cryptosporidium spp* es el único causante, la mortalidad es baja, pero si hay asociación con otros agentes patógenos, grado de inmunidad y estado de nutrición del huésped, la mortalidad puede ser alta (Ortolani & Castro, 2003)

Con respecto a las vías de transmisión de *Cryptosporidium spp* puede ser transmitida a través del contacto animal-persona, persona-persona, a través del contacto de superficies contaminadas, o bien, por la ingestión de alimentos o agua contaminados con heces (García, Valladares, Talavera & Velásquez, 2014). Esto unido con la baja dosis infectante (10-100 ooquistes), el elevado número de animales que actúan como reservorios del parásito y la ausencia de un tratamiento farmacológico eficaz, facilitan la difusión de la enfermedad (Avendaño, Quilez & Sánchez, 2010). La vía de transmisión más frecuente se da mediante la ingestión de ooquistes esporulados que están adaptados para la supervivencia en el ambiente, siendo muy resistentes a condiciones variables, con la única excepción de la desecación y la congelación. Los ooquistes son capaces de conservar su infectividad durante 2-6 meses a 4° C. Sin embargo, esta se altera por el calor (65° C durante 30 minutos) o por el frío (-18° C durante 24 horas). Igualmente se sabe que las estrategias de control mediante desinfección por medios químicos no han sido tan eficaces, debido a la extraordinaria resistencia de los ooquistes (García, Valladares, Talavera & Velásquez, 2014).

### Figura 1

*Ciclo de vida de Cryptosporidium spp* (Hernández & Cortez, 2012)



Uno de los efectos estudiados, es que los ooquistes provocan pérdida de las células intestinales, alterando la capacidad de absorción intestinal, produciendo hipersecreción y aumento en el diámetro de las criptas. El organismo intenta reemplazar las células dañadas

mediante hiperplasia de las criptas, reemplazando las células maduras afectadas por otras nuevas cuya funcionalidad de absorción y enzimática es menor. Todo esto se traduce en un síndrome de malabsorción, originando el cuadro diarreico (Morales, 2011).

Ahora bien, en relación con el diagnóstico, existen varias pruebas, una de las cuales corresponde a tinciones en frío de Kinyoun, o diversas modificaciones de la coloración de Ziehl-Neelsen, inmunofluorescencia, ELISA, inmunocromatografía y PCR (Sánchez, Romero & Rosannigo, 2013). La técnica de Ziehl-Neelsen constituye el método de diagnóstico convencional utilizada para la detección de ooquistes en heces de individuos sospechosos a *Cryptosporidium spp.* El fundamento de esta prueba se basa en colorear los ooquistes ya que estos presentan alta cantidad de lípidos en su pared celular la acción del calor introducido en esta prueba hace que la misma se permeabilice y haga accesible la penetración de la fucsina, tiñendo la pared celular (Morales, 2011).

#### **4.5.1 Sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnosticas**

El diagnóstico clínico de la criptosporidiosis intestinal es difícil porque existen pocas características diferenciales de otras patologías diarreicas por esto se procede a realizar pruebas de laboratorio. Los ooquistes se pueden ver sin coloración, con contraste de fase o mediante tinciones especiales, las tinciones favorecen mucho la observación, debido al tamaño diminuto de los ooquistes. La presencia de estos se debe analizar mediante procedimientos específicos, debido a su tamaño reducido que escapan a los análisis coproparasitológicos de rutina (Sánchez, Romero & Rosannigo, 2013).

Los ooquistes son alcohol resistentes por ende se puede utilizar tinciones como Kinyoun o diversas modificaciones de Ziehl Neelsen, pero las tinciones con fluorocromos

(auramina/rodamina) requieren confirmación con Ziehl Neelsen. Sin embargo, esta prueba, aunque sea la más utilizada, su mayor desventaja es operador-dependiente teniendo que ser ejecutada por profesionales experimentados (Luján & Garbossa, 2008). Se pueden realizar extendidos directo de la materia fecal y fijar con formalina al 10% o con SAF (acetato de sodio/ácido acético/formol) o proceder con la concentración de los ooquistes con soluciones densas (Sheater, cloruro de sodio) o mediante procedimientos de sedimentación (Sánchez, Romero & Rosannigo, 2013).

Las técnicas rápidas de inmunoanálisis enzimático (ELISA) e inmunofluorescencia directa, son de gran utilidad diagnóstica. Son métodos con alta sensibilidad y especificidad en casos de heces diarreicas, pero tiene uso limitado para estudios epidemiológicos y diagnóstico de casos asintomáticos. Una de las mayores desventajas del método ELISA directo es su gran costo, haciendo su uso en la rutina práctica, económicamente inviable (Formiga *et al.*, 2004). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) caracterizada por su gran sensibilidad y especificidad, es de gran utilidad para el diagnóstico y estudios taxonómicos, aunque su uso está restringido a algunos laboratorios (De la Parte, Bruzual, Brito & Hurtado, 2005).

El ensayo de Inmunofluorescencia (IFA) para detectar ooquistes de *Cryptosporidium spp* en muestras de agua, ha sido uno de los métodos recomendados por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos, debido a su alta sensibilidad (Arnedo, Bracho, Díaz & Botero, 2008). Es ideal confirmar las muestras en las cuales se utiliza tinciones con la IFA, dada la baja especificidad y sensibilidad de estas, debido a que la IFA es una herramienta útil para las muestras que tienen un poco número de ooquistes (Avendaño, Amaya & Bayona, 2010). La discrepancia de sensibilidad y especificidad entre las técnicas

de diagnóstico para *Cryptosporidium spp* indica la necesidad de múltiples técnicas de laboratorio para una mayor fiabilidad de los resultados (Holsback *et al.*, 2018).

Los métodos diagnósticos contra *Cryptosporidium spp*, se pueden dividir de la siguiente manera:

**a. Método clásico:**

- El método diagnóstico de rutina se realiza a través de la visualización microscópica con la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen modificada (ZN). Sin embargo, puede que esta técnica no detecte todos los animales positivos a la infección por la baja sensibilidad de dicha prueba (Fredes, 2015). Esta técnica suele necesitar muy pocos productos para su realización, fue comparada con otras técnicas como la inmunofluorescencia mostrando ser económica, fácil y muy eficiente para la detección de *Cryptosporidium spp* (Ramírez, 2015)

**b. Métodos inmunológicos (Ocampo, *et al.*, 2011):**

- **Inmunofluorescencia (IFA):** La técnica diagnóstica más ampliamente usada para la detección de *Cryptosporidium spp* en muestras de agua, requiere un gran número de ooquistes para su detección y presenta un alto número de resultados falsos pasivos y falsos negativos. Esta técnica puede utilizarse para detectar anticuerpos o la presencia de un patógeno, es muy sensible pero su interpretación tiene un alto grado de subjetividad, presenta cierta dificultad al analizar muestras múltiples de manera simultánea y no es una técnica sencilla de realizar en un laboratorio estándar (Ramírez, 2015).

- **ELISA:** Es una prueba sencilla para antígeno y puede ser utilizada como única prueba en lugar de las técnicas convencionales de microscopio, tiene una sensibilidad del 100% y puede emplearse tanto en muestras fecales concentradas como no concentradas, dependiendo del número probable de ooquistes en la muestra, comparadas con las tinciones convencionales tiene un costo elevado (Ramírez, 2015).

### c. Métodos moleculares

- **Reacción de la polimerasa en cadena (PCR):** Esta ha sido aplicada mostrando una alta sensibilidad y especificidad, se puede utilizar para materias fecales y muestras ambientales pero un estudio realizado en Chile para el diagnóstico de *Cryptosporidium spp* ha mostrado una baja prevalencia contrario a otros estudios (Fredes, 2015).



## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Tipo de investigación.

La investigación tiene un enfoque mixto, es un proceso que recolecta, analiza y vincula datos cuantitativos y cualitativos en un mismo estudio o una serie de investigaciones para responder a un planteamiento del problema. Señala que los diseños mixtos logran obtener una mayor variedad de perspectivas del problema: frecuencia, amplitud y magnitud (cuantitativa), así como profundidad y complejidad (cualitativa); generalización (cuantitativa) y comprensión (cualitativa). El enfoque cualitativo se selecciona cuando se busca comprender la perspectiva de los participantes (individuos o grupos pequeños de personas a los que se investigará) acerca de los fenómenos que los rodean, profundizar en sus experiencias, perspectivas, opiniones y significados, es decir, la forma en que los participantes perciben subjetivamente su realidad. La investigación cualitativa se enfoca en comprender y profundizar los fenómenos, explorándolos desde la perspectiva de los participantes en un ambiente natural y en relación con el contexto (Hernández, 2014)

### 5.2 Operacionalización de variables

De acuerdo con nuestros objetivos se identificaron distintas: Como variable dependiente central tenemos la diarrea y su frecuencia, Variable independientes: Edad (semanas), presencia de *Cryptosporidium spp* y proteínas plasmáticas totales.

### 5.3 Localización.

La localidad de Usme, en Bogotá Colombia cuenta una temperatura promedio de 13° anual, humedad relativa entre seca y semiseca, precipitación total 800 a 1.000 mm promedio

anual (periodo más lluvioso abril a octubre) (periodo más seco noviembre a marzo) y una altitud 2600 m.s.n.m.

La finca de la Universidad Antonio Nariño ubicada 4°28'58.6"N 74°07'15.5"W en la localidad de Usme de Bogotá, tiene como fin zootécnico producción de animales doble propósito donde las razas que más se manejan son blanco orejinegro, normando y sus cruces.

#### **5.4 Población de estudio**

Los animales que se tuvieron en cuenta para este estudio fueron terneros nacidos entre agosto del 2019 y enero de 2020 en la finca doble propósito de la UAN, con 10 semanas de nacidos y con un tamaño de la muestra de 13 terneros.

#### **5.5 Colecta de datos**

En el tiempo en que se hizo seguimiento, a los terneros se les realizaba examen clínico general y se recolectaban datos de la madre y ternero con respecto al parto y su nacimiento (Ver anexos A, B y C).

#### **5.6 Colecta de muestras**

Las muestras de sangre se colectaron entre las primeras 24-48 horas de vida del ternero para la evaluación de las proteínas plasmáticas totales y hematocrito, para la prueba de *Cryptosporidium spp* se realizaron coprológicos seriados desde la segunda semana de nacidos hasta la semana 10.

## **5.7 Pruebas de laboratorio**

Se utilizaron diferentes pruebas de laboratorio tales como: Ziehl-Neelsen modificada, proteínas plasmáticas totales y hematocrito.

### **5.7.1 Nivel de proteínas plasmáticas totales (PPT)**

Se evaluó con una muestra de sangre al ternero realizada entre las 24- 48 h de nacido en un tubo con anticoagulante EDTA, se llevó al laboratorio donde posteriormente se centrifugó para recolectar el plasma y luego se analizó, el plasma se tomó por medio de capilares, donde se utilizó una gota de éste y se observó al refractómetro para evaluar el nivel de proteínas que alcanzo a absorber el ternero mediante el calostro, adjunto a las proteínas se tomó el hematocrito por la facilidad del proceso y como complemento.

### **5.7.2 Presencia de *Cryptosporidium spp***

Se determinó por medio de coprológicos seriados cada semana con los 13 terneros que entraron al estudio con una duración entre la segunda semana de nacidos hasta la semana 10, se realizó un examen clínico y se recolectaron datos que se anotaron en una hoja de registro (Ver Anexos); se tomaron muestras de materia fecal directamente desde el recto a los 8 días de nacido y se realizó seguimiento por 10 semanas, con un intervalo de tiempo de cada semana para ver la presencia o ausencia de los ooquistes por medio de la tinción de Ziehl-Neelsen modificada. La diarrea se define como el incremento de contenido liquido e incremento en la frecuencia de las deposiciones, en nuestro caso se tomaron diferentes parámetros para evaluar las heces (Ver Tabla 1) y las diarreas se clasificaron como diarrea leve, moderada y severa (Ver Tabla 2).

**Tabla 1***Criterios de evaluación de la materia fecal*

<b>Consistencia</b>	<b>Color</b>	<b>Olor</b>
0= Heces normales, pastosas	0= Normal, verde oscuro	0= Olor normal
1= Heces sólidas sin moco	1= Verde claro	1= Con olor fuerte
2= Heces sólidas con moco	2= Marrón claro	
3= Heces un poco fluidas con material sólido	3= Amarillo	
4= Heces fluidas sin moco	4= Amarillo lechoso	
5= Heces fluidas con moco		
6= Heces fluidas con sangre		

Adaptado de: Castellón & Solorzano, 2010, Castro *et al*, 2009 y Franco, 2011.**Tabla 2***Clasificación de las diarreas*

<b>Tipo de diarreas</b>	<b>Consistencia</b>
Diarrea leve	Consistencia 3, Color 1-2-3-4, Con olor fuerte
Diarrea moderada	Consistencia 4, Color 1-2-3-4, Con olor fuerte
Diarrea severa	Consistencia 5-6, Color 1- 2-3-4, Con olor fuerte

Las muestras fueron llevadas al laboratorio después de ser tomadas donde se evaluó mediante la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen modificada para verificar la presencia o ausencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* Esta técnica nos sirve para identificar microorganismos alcohol- ácido resistentes (AAR), es un tipo de coloración diferencial, que implica el uso de distintos colorantes con la finalidad de crear contraste entre las estructuras que se desean observar, diferenciar e identificar los ooquistes, lo que genera una capacidad de

resistencia a la decoloración gracias al alto contenido de lípidos complejos (ácidos micólicos) y ceras que poseen algunos microorganismos en su pared celular (Muñoz, Fredes, Díaz, Mercado & Ozaki, 2011)

### **5.8 Recopilación de información**

Se realizó una búsqueda de literatura en bases de datos electrónicos como Scielo, ScienceDirect, ELSEVIER, revista U.D.C.A y Tesis de grado para identificar estudios realizados entre 2000 a 2019, donde se incluyeron archivos en inglés y español. Las palabras claves a buscar fueron “sensibilidad”, “especificidad”, “*Cryptosporidium spp*”, “transferencia pasiva de inmunoglobulinas”, se analizaron estudios experimentales donde utilizaran las pruebas de precipitación de sulfito de sodio, proteínas plasmáticas totales e inmunodifusión radial para identificar falla en la transferencia de inmunoglobulinas en bovinos, para el diagnóstico de *Cryptosporidium spp* se investigaron estudios donde se compararon los métodos diagnósticos exponiendo la sensibilidad y especificidad de cada uno. Se encontraron un total de 12 artículos (incluyendo tesis) con la información que se necesitaba y todos estuvieron dentro de los parámetros de inclusión.

### **5.9 Criterios de inclusión y exclusión**

Para este estudio se incluyeron terneros recién nacidos con presencia de diarrea al examen clínico y se excluyeron terneros a los cuales no se les pudo realizar seguimiento. En cuanto a la información se incluyeron artículos o tesis en inglés o español con años de publicación del 2000 al 2019, trabajos experimentales y revisiones bibliográficas y se excluyó información con años de publicación anteriores a los mencionados, información que solo contenga resúmenes o las encontradas en blogs.

### **5.10 Análisis de la información.**

Se utilizó estadística descriptiva para digitar los datos analizados, se usaron programas como Excel y Word para tabular y graficar la información encontrada en la finca y los resultados arrojados de las pruebas.

La intensidad de la infección se estimó empleando el promedio de ooquistes por campo microscópico de 100 X, estableciéndose cuatro criterios de evaluación: Negativa, ausencia de ooquistes, leve 0-6; moderada 6-10 y grave  $> 10$  ooquistes.

## 6. RESULTADOS

El total de terneros muestreados fue de 13 de los cuales todos presentaron diarrea a lo largo de las 10 semanas. Los resultados obtenidos se distribuyeron en una tabla donde se tomaron datos como: fecha de nacimiento, cantidad y frecuencia de calostro, edad, peso al nacimiento, resultado del hematocrito, proteínas totales y examen clínico, se evaluaron los criterios de la materia fecal y este último sirvió de apoyo para darnos cuenta si el animal evolucionaba de manera satisfactoria al recibir tratamiento. Con estos parámetros ya propuestos se realizaron gráficas y tablas relacionando datos como, raza con peso al nacimiento, raza, edad y número de partos de las madres, proteínas plasmáticas totales con hematocrito y frecuencia en la presentación de las diarreas.

### 6.1 Información de madres y terneros

De las 13 madres en total (Ver Tabla 3), 10 de ellas eran multíparas, solo 1 presentó retención de placenta y 3 de ellas parto distócico.

**Tabla 3**

*Información de las madres de los terneros muestreados (raza, edad y número de partos)*

RAZA	EDAD	# DE PARTOS
Normando	6 años	5
Normando	4 años	1
Normando	9 años	5
Normando	8 años	3
Normando	2 años	1
Normando	7 años	3
Normando	8 años	3
Cruce de Normando	6 años	3
Cruce de Normando	2 años	1

Cruce de BON-Normando	6 años	2
BON	6 años	3
BON	5 años	2
BON	4 años	1

El rango de edades fue desde 2-9 años, el promedio fue de 5-6 años entre todas las razas, en cuanto al número de partos el rango fue de 1 a 5 partos y el promedio de partos entre todas las razas fue de 2 y 3 partos.

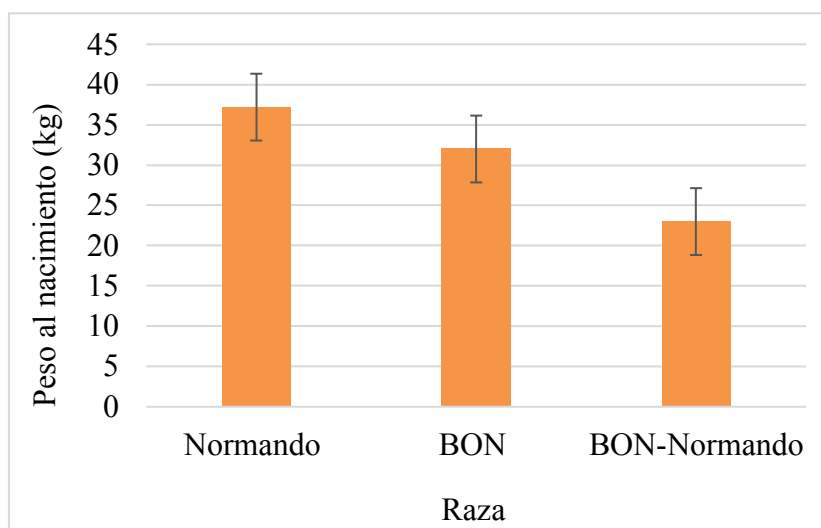
## 6.2 Resultados asociados con los terneros

### 6.2.1 Peso al nacimiento y raza

En la Figura 2 se presenta el peso de los terneros en relación con la raza, el rango de peso estuvo entre 23-44 kg con una desviación estándar (SD) de 6,2 y un promedio que se calculó por raza así: Normando con un total de 7 terneros fue de 37.2 kg, BON con 5 terneros 32 kg y cruce de Bon con Normando con 1 ternera con un peso de 23kg.

#### Figura 2

*Relación entre la raza (Normando, BON y BON-Normando) y promedio de peso al nacimiento según la raza*







**Imagen 1.** Ternero Normando, Holstein y BON

### **6.2.2 Consumo de calostro**

Se encontró que no se realizaba un correcto seguimiento y registro del consumo y frecuencia de calostro, ya que las respuestas suministradas fueron: A voluntad y no se reporta información, los datos que se recolectaron no son totalmente verídicos por distintas razones como turnos rotativos del personal, la información de los partos y el tiempo en que se presentaron, la cantidad y frecuencia del consumo de calostro, cambio de personal semestralmente que impidieron una información completa de los terneros.



**Imagen 2.** Ternera recién nacida consumiendo calostro

### 6.2.3 Hallazgos al examen clínico

Las constantes estuvieron entre los rangos de referencia (Radostits, 2002), excepto la frecuencia cardiaca con rango de 103 a 135 lpm y frecuencia respiratoria de 24 a 50 rpm. El rango de temperatura fue de 38° a 39.5°, las mucosas se presentaron rosadas y brillantes con un tiempo de llenado capilar de 2” sin alteración.

### 6.3 Presentación de diarreas y resultados frente a *Cryptosporidium spp*

En las muestras de los 13 terneros que nacieron todos presentaron heces fluidas y a veces heces con material sólido, el color de las heces estuvo desde verde oscuro hasta amarillo lechoso y en general todas las heces tenían mal olor (Ver Tabla 5 e Imagen 3 y 4). No se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium spp* mediante la técnica de Ziehl Neelsen modificada.

**Tabla 4**

*Frecuencia absoluta y relativa (porcentual) de diarreas leves, moderadas y severas en terneros evaluados según las semanas de muestreo*

Semana	Número de terneros evaluados	Cantidad de diarreas	Tipo de diarreas					
			Diarrea leve		Diarrea moderada		Diarrea severa	
			N°	%	N°	%	N°	%
1	12	10	2	20	6	60	2	20
2	11	6	3	50	3	50	0	0
3	12	4	2	50	0	0	2	50
4	13	6	3	50	2	33	1	16.6
5	12	4	2	50	2	50	0	0
6	11	7	3	43	3	42.8	1	14.2
7	11	7	3	43	3	42.8	1	14.2
8	8	5	2	40	2	40	1	20
9	6	3	1	33	0	0	2	66.6
10	6	2	0	0	1	50	1	50



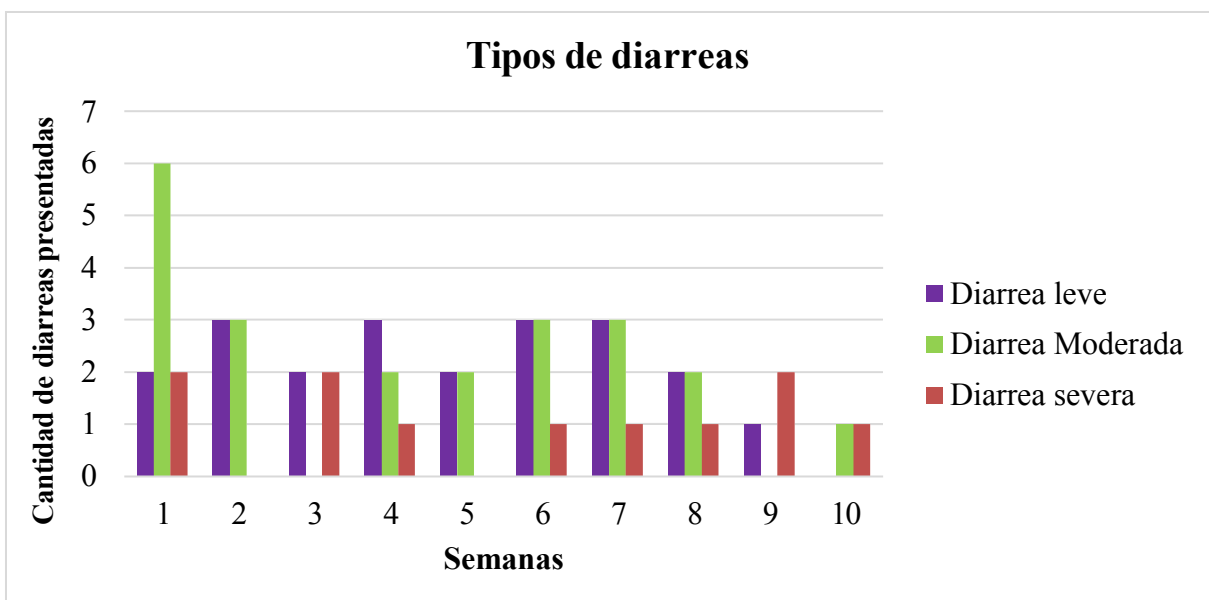
**Imagen 3.** Evidencia de diarrea leve



**Imagen 4.** Muestra A (izquierda) heces normales, muestra B (derecha) diarrea severa

### Figura 3

*Total, de diarreas presentadas durante las 10 semanas de muestreo, divididas de acuerdo con su severidad (leve, moderada, severa)*



Como se evidencio en la Tabla 4, desde la primera semana hasta la décima se presentaron diarreas en los terneros, afectando a más de la mitad de los terneros muestreados. Como dato adicional, 2 de los 4 terneros de madres primerizas que presentaron partos distócicos con retención de placenta, manifestaron heces fluidas de color verde claro hasta amarillo lechoso y de mal olor por 2 semanas seguidas. Las diarreas leves estuvieron presentes durante todo el seguimiento y estuvieron en la misma cantidad que las diarreas moderadas. Durante la primera semana de vida se presentó la mayor cantidad de diarreas moderadas con heces fluidas con presencia de moco: Adicionalmente, una ternera presento 3 semanas seguidas la misma diarrea y una ternera la presento de manera intermitente entre una semana y otra, estas diarreas afectaron a terneros de 20-30 días de nacidos, donde 9 de los 13 terneros según lo reportado tuvieron un consumo de calostro sin supervisión y fueron partos que ocurrieron en la noche o madrugada. La mayor cantidad de diarreas severas se presentó en la semana 1 y 3 que afecto a solo 2 de los 12 terneros muestreados; hasta la semana 9 se volvió a presentar está diarreas severas afectando a 2 de los 6 terneros muestreados, mientras solo 1 ternero presento diarrea severa por 4 semanas seguidas.

#### **6.4. Resultados en la absorción de Inmunoglobulinas**

Se determinó el nivel de proteínas plasmáticas totales en los terneros y debido a las dificultades en la realización de las demás pruebas de determinación, se optó por realizar una revisión y comparación con la literatura disponible.

Según la información suministrada 10 de los 13 terneros evidenciaron una frecuencia de consumo de calostro a voluntad, el resultado de las proteínas totales fue  $> 8$  g/dL y un hematocrito entre 20%- 55%, con respecto a las madres 3 de ellas presentaron parto distócico

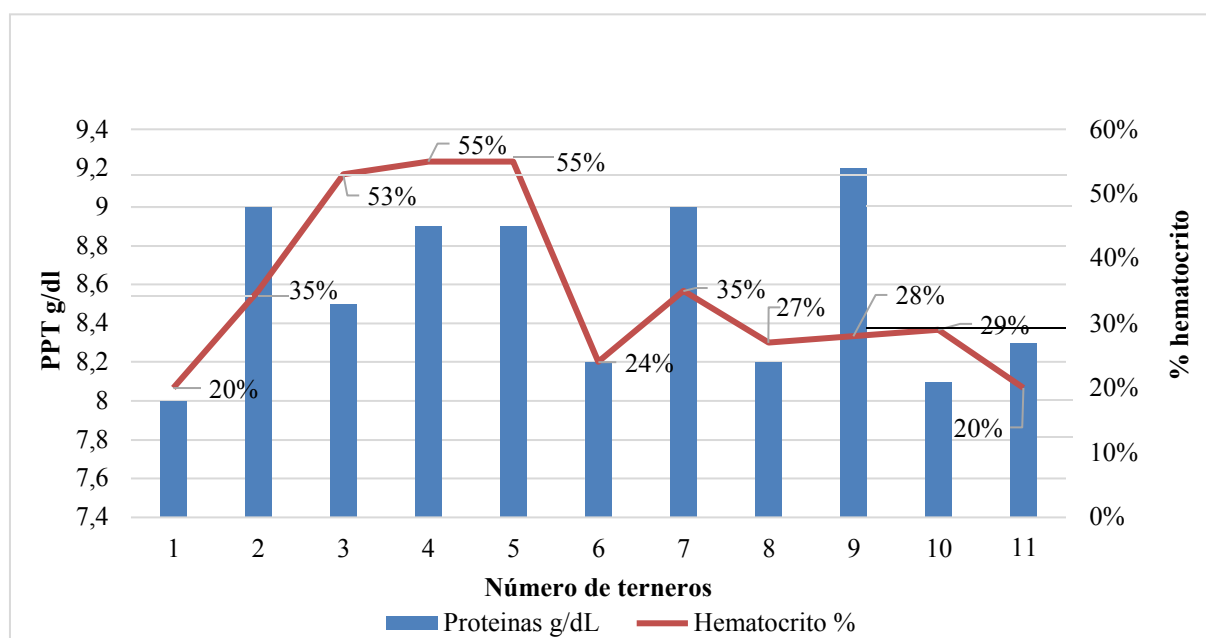
y solo una presentó retención de placenta, la mayoría de ellas eran multíparas y del total de los terneros, 4 eran hijos de madres primíparas.

#### 6.4.1 Proteínas plasmáticas totales y hematocrito

Las proteínas plasmáticas totales se tomaron en conjunto con el hematocrito, con este último 3 de los 13 terneros estuvieron en el límite inferior, según los valores de referencia (VN: 24%-49%, Quiroga & Orejarena, 2013) y los demás estuvieron dentro del rango.

#### Figura 4

*Evaluación de PPT y hematocrito (valores totales) en cada uno de los terneros evaluados*

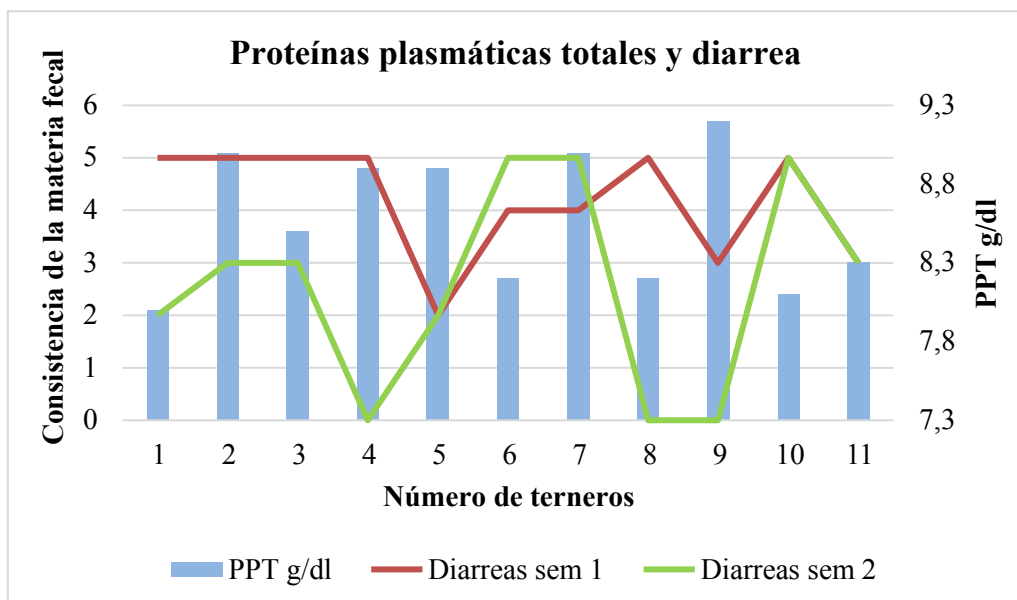


De los 13 terneros evaluados, 11 de ellos presentaron un rango de PPT entre 8 y 9 g/dL, un promedio de 8,57 g/dL con una SD de 0,43. El promedio de hematocrito es de 34%, con un rango entre 20% a 53% y una SD del 13%.

#### 6.4.2 Relacion de diarreas y proteínas plasmáticas totales

**Figura 5**

*Resultados de PPT por ternero y presencia de diarreas en las dos primeras semanas de vida de acuerdo a su consistencia*



Como se vio en el diagrama los terneros 1, 6, 8 y 10 tuvieron niveles de PPT <8,3 g/dl efectuando una buena transferencia de inmunidad, pero a su vez fueron más susceptibles a presentar diarreas moderadas y severas en la primera y segunda semana; los terneros 2 y 4, tuvieron niveles de PPT cercanos y superiores a 9 g/dl, pero, presentaron diarreas severas en la primera semana de vida y en la segunda semana el ternero 2 presentó diarrea leve y el 4 no presentó, el ternero 5 presentó diarrea leve en la primera y segunda semana y el ternero 9 en la primera semana presentó una diarrea leve y en la segunda semana no presentó diarrea.

## 7. DISCUSIÓN

En el presente estudio se recopiló información sobre las madres y terneros recién nacidos, que nos ayudaron a verificar el estado de salud de los terneros durante todo el seguimiento, se realizaron pruebas de laboratorio para verificar el nivel de diarreas con un seguimiento coprológico de 10 semanas para realizar tinción de Ziehl Neelsen y evaluar la presencia de *Cryptosporidium spp*, además se tomó sangre para evaluar el nivel de proteínas plasmáticas totales y tener una idea acerca de la cantidad de proteínas transferidas por medio del calostro.

Los terneros que hayan pasado por partos distócicos presentan dificultades para absorber Igs, en un estudio que realizó en vacas con partos distócicos y retención de placenta concluyó que estos problemas no afectaban de manera significativa la producción láctea (Krasniansky, 2014), pero esto se contradice con otro estudio realizado por Lombard *et al.*, (2007), donde expone que terneros que hayan pasado por partos distócicos afecta la absorción de Igs calostrales debido a la hipoxia y tienen más probabilidad de presentar problemas digestivos hasta al menos 30 días de edad (Lombard, Garry, Tomlinson & Garber, 2007) esto reforzando nuestro estudio ya que los terneros de vacas con partos distócicos presentaron diarreas leves y moderadas.

La mayor cantidad de vacas de este estudio son multíparas y de acuerdo con la información suministrada estos animales tuvieron una época muy larga de verano donde no hay buena cantidad de forraje suficiente para ellas, esto llevando a que la poca energía que adquieren en su alimentación va para su sustento diario provocando una menor producción de calostro y una menor concentración de Igs, ya que según Campos *et al.*, (2007), dietas bajas en proteína o energía provocan una disminución en la producción de calostro y disminuyen la

concentración de Igs. El alimento, debe ser altamente balanceado ya que el período seco le proporciona al animal nutrientes necesarios para su mantenimiento y posterior producción de calostro, un buen período seco e intervalo entre partos aseguran una buena calidad de este (Carrillo, Loaiza & Campo, 2009).

En un estudio realizado en Costa Rica se tomaron muestras de calostro de vacas primerizas y multíparas para verificar la concentración de Igs en el calostro, se obtuvieron los siguientes resultados: 133 vacas de primer parto con una concentración de Igs de 69.5 mg/dl, 113 vacas de segundo parto con una concentración de Igs de 78.5mg/dl, en 100 vacas de tercer parto con una concentración de Igs de 84.5 mg/dl, 85 vacas de cuarto parto con una concentración de Igs de 98.4 mg/dl y 106 vacas >5 partos con una concentración de Igs de 90.7 mg/dl, estos resultados indican que la concentración de Igs incrementan al aumentar el número de partos (Elizondo, 2015). Varios autores señalan que el número de partos es un factor para considerar al encontrar mayores o menores contenidos de Igs séricas en las crías, sean estas hijas de vacas multíparas o primíparas respectivamente, esto debido a que las vacas con mayor número de lactancias presenta una mayor exposición a organismos patógenos, mayor capacidad secretora de la glándula mamaria y un mecanismo activo de transporte de Igs (Hernández, 2013; Campos *et al.*, 2007; Gooden, 2008; Elizondo, 2007; Arancibia, 2009; Indra, Daina & Jelena, 2012; Morin, Constable, Maunsell & Mc Coy, 2001).

Por otro lado, el parámetro de la raza no es de gran relevancia en esta investigación, ya que solo había terneros de dos razas y sus cruces, según Elizondo (2013), en un estudio realizado en Estados Unidos donde se muestrearon razas como: Jersey, Pardo suizo, Holstein, Ayrshire, Guernesey; no se encontró diferencias significativas sobre la calidad de calostro (Elizondo, 2013). Esto contradice a Campos *et al.*, (2007), ya que este afirma que las razas



especializadas en producción de leche como la Holstein producen una mayor cantidad de calostro, pero de menor calidad en cuanto a las razas nombradas anteriormente producen menos cantidad de calostro, pero con un alto contenido de sólidos totales. Las razas que producen más de 8,5 litros de calostro en el primer ordeño tienen generalmente menos anticuerpos, por lo cual es importante no utilizarlo para alimentar a los terneros recién nacidos, ni para congelarlo; en cambio las razas con fin zootécnico producción de carne producen una menor cantidad de calostro, pero de mejor calidad, con mayor contenido de IgG que las razas lecheras (Campos, Carrillo, Loaiza & Giraldo, 2007).

Los resultados frente al consumo de calostro no se pudieron evidenciar completamente ya que no se obtuvo información verídica, frente a las proteínas plasmáticas totales se presentaron resultados altos que según la literatura lo toman como una excelente transferencia de inmunoglobulinas o presencia de deshidratación en los terneros, que en este caso se relaciona con una buena transferencia de inmunoglobulinas. La toma y cantidad adecuada de calostro es un paso fundamental para asegurar la vida saludable del ternero, ya que posee gran cantidad de nutrientes, cualidades laxantes e inmunoglobulinas; el poder de absorción del intestino delgado frente a las Igs dura sólo las primeras 24 a 36 horas de vida y la mayor absorción se efectúa durante las primeras 6 horas después del nacimiento, posteriormente empieza a disminuir progresivamente (Elizondo, 2007). El dejar a la madre sola con el ternero sin la supervisión después del nacimiento genera un factor de riesgo, ya que la transferencia puede fallar hasta un 42% (López, 2016) esto ocasionando poco consumo de calostro que resulta en poca o nula absorción de Igs y proteínas siendo susceptibles a problemas gastrointestinales, esto reforzando nuestro estudio ya que muchos de los partos se presentaron en la madrugada o muy temprano en la mañana donde no hubo acompañamiento del ternero y no se evidenció si adquirió o no buena cantidad de calostro.

Los niveles de transferencia de inmunidad se evaluaron con: Proteínas plasmáticas totales, se considera que valores  $>5.5$  g/dl es igual a una transferencia exitosa de inmunidad pasiva, 5.0 a 5.4 g/dl una transferencia medianamente exitosa y valores  $<5.0$  g/dl una transferencia incompleta de inmunidad pasiva (Luna, 2015) en este caso el promedio de las proteínas fue de 8,5 g/dl y se puede interpretar de dos maneras, como una buena transferencia de inmunidad o presencia de deshidratación en el animal, ya que esto hace que se aumenten los niveles de proteínas como reflejo de la pérdida de volumen hídrico en el tejido sanguíneo (Yepes & Prieto, 2011). La concentración de proteínas totales se puede ver alterada por factores como: deshidratación del animal y concentración de glucosa, urea y creatinina, junto con la lectura de las proteínas totales se sugiere utilizar la prueba de precipitación de sulfito de sodio dada la gran cantidad de factores que pueden alterar el contenido de las proteínas totales (Martínez, Bertoni, Suarez & Micheloud, 2014).

Por ende, es ideal realizar otra prueba confirmatoria como la prueba de precipitación sulfito de sodio este es un método semicuantitativo, efectivo y rápido que permite su utilización para un elevado número de animales en un mínimo de tiempo y con un equipo básico, lo cual hace posible su utilización en condiciones de campo ya que presenta una confiabilidad aproximada del 93% (Beltrán, 2011). La concentración de Igs se estima cuantitativamente basada en los resultados de precipitación, la lectura se efectúa a ojo desnudo, por la presencia, ausencia o ligera turbidez producida por el sulfito de sodio que precipita las Igs (Rey & Velásquez, 2017). Según el estudio comparativo entre la refractometría y la prueba de precipitación de sulfito de sodio se concluyó que esta última tiene mayor confiabilidad con respecto a la refractometría (Sánchez, 2010).

Un estudio realizado en México para evaluar el nivel de inmunoglobulinas calostrales en terneros con edades entre 0 y 5 días donde se colectaron 125 muestras de sangre, se obtuvo el suero y se prepararon las tres concentraciones de sulfito de sodio (14%,16% y 18%). Los resultados se clasificaron de la siguiente manera:

**Tabla 5**

*Interpretación de los resultados de precipitación según las diferentes concentraciones de sulfito de sodio*

<b>Precipitación en los tubos</b>	
Precipitación en tubos con 14%,16% y 18% de sulfito de sodio	Proporción igual o mayor a 15 mg de Ig por cada ml de suero
Precipitación en tubos con 16% y 18%	Proporción entre 5-15 mg de Ig por cada ml de suero
Precipitación en el tubo con 18%	Proporción igual o menor a 5 mg de Ig por cada ml de suero

En 52 muestras analizadas se observó precipitación en los tres tubos, lo cual indica que 43.69% de las terneras calostraron adecuadamente. En 30 muestras analizadas se observó precipitación en los tubos con 16% y 18%, lo cual indica que 25.21% de las terneras calostraron adecuadamente. En 9 muestras analizadas (7.57%) se observó precipitación solamente en los tubos con 18% de sulfito de sodio y en 28 muestras (23.53%) no se observó precipitación, lo cual indica que 31.1% de las terneras analizadas, recibieron muy poco calostro o no lo recibieron en absoluto (García, Albornoz & Vela, 2006).

En un estudio comparativo entre la refractometría y la prueba de precipitación de sulfito de sodio para determinar las proteínas plasmáticas en becerras Holstein de las cuales se tomaron 36 muestras de sangre sin anticoagulante con edades entre 1 a 2 días y se les practicó inmediatamente la prueba de refractometría. La refractometría mide la proteína total

y constituye un método indirecto para la estimación de inmunoglobulinas, es eficaz cuando se utiliza en el becerro no deshidratado, mayor a 24 horas y menor de 3 semanas de edad. Los resultados obtenidos frente a la refractometría fueron entre 4.5 a 8.8 g/100ml y para la prueba de precipitación de sulfato de sodio se detectaron valores superiores a 15 mg Ig/ml en el 64% del total de muestras analizadas, en el 22% de las muestras se observaron valores entre 5 y 15mg Ig/ml y en el 14% de las muestras se observaron valores menores a 5 mg Ig/ml (Sanchez, 2010).

Aunque la refractometría es una prueba que se usa cotidianamente no es ideal realizarla sola, ya que sus resultados no son confiables porque presenta una sensibilidad baja y además solo se puede realizar en una edad específica, después de este tiempo los resultados son erróneos por el hecho de que la relación IgG plasmática con proteína total se reduce con el transcurso de la edad (Sanchez, 2010).

La inmunodifusión radial es una prueba muy sensible para detectar falla en la transferencia de inmunoglobulinas, ya que presenta antígenos anti-inmunoglobulinas que hace más confiable sus resultados. En un estudio se comparó la eficiencia de dos kits de inmunodifusión radial (SRID1 y SRID2) Vs Kits ELISA, se tomaron muestras de sangre a 115 terneros de 0-10 días de nacidos, se centrifugó y se obtuvo el suero. ELISA demostró un alto rendimiento diagnóstico, se puede utilizar como prueba de detección y confirmación de FTPI grave y como prueba de detección para FTPI parcial en rebaños. Sin embargo, para la detección de FTPI en un ternero lechero individual, los métodos indirectos y el diagnóstico confirmatorio con SRID pueden ser más apropiados (Lee, Jaekal, Bae, Chung, Yun, Gwak, Noh & Lee, 2008).

Un estudio realizado en la Universidad Estatal de Kansas evaluó las diferencias entre kits SRID vs kits VET-RID para verificar cuál de los dos presentaba más errores al detectar falla en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas, se tomaron muestras de sangre antes y 24h después de la ingestión de calostro a 60 terneros Holstein recién nacidos, se centrifugó y tomó el suero. Como conclusión el kit VER-RID demostró un menor coeficiente de variación a comparación de kit SRID (Ameri & Wilkerson, 2008).

**Tabla 6**

*Ventajas y desventajas de los métodos para detectar falla en la transferencia de inmunoglobulinas*

<b>Tipo de prueba</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Inmunodifusión radial</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Sencillo de realizar</li> <li>-Materiales y reactivos, son económicos</li> <li>- Muchos laboratorios la ofrecen</li> <li>- Permite reconocer clases y subclases de Igs</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Costoso</li> <li>-Demora en los resultados</li> <li>-Baja sensibilidad</li> <li>- Problemas con Igs anormales, puede inducir a resultados erróneos</li> </ul>
<b>Precipitación de sulfito de sodio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Rápida y efectiva</li> <li>- Es posible tamizar un elevado número de animales en un mínimo de tiempo, y con un equipo básico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Si se aumenta la concentración del reactivo induce precipitación en concentraciones menores de proteínas de alto peso molecular y viceversa, generando sobreestimación de Igs</li> <li>- No determina la concentración de Igs</li> <li>- No es confiable realizarla en equinos</li> </ul>
<b>Proteínas totales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Monitorear rebaños</li> <li>- Rápida y económica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Varias causas que pueden hacer que se alteren</li> </ul>

Lomonte, 2019; García, Albornoz & Vela, 2006; Martínez, Bertoni, Suarez & Micheloud, 2014; Yepes & Prieto, 2011; Menares, 2011

Como ya se mencionó la diarrea neonatal bovina pueden ser causadas por diferentes patógenos y se pueden presentar de manera mixta entre ellos están, *E. Coli enterotoxigénica*, *Eimeria*, *Rotavirus* y *Coronavirus* que por la historia de la finca puede que los terneros hayan podido tener alguno de estos patógenos, además las condiciones sanitarias del ambiente donde se encuentran los terneros favorecen a infecciones mixtas incluyendo *Cryptosporidium spp.* La edad influyó en este estudio ya que desde la primera semana hasta la octava se presentó mayor cantidad de diarreas afectando a más de la mitad de los terneros muestreados, solo 2 de los 4 terneros de madres primerizas, partos distócicos y retención de placenta presentaron diarreas con heces fluidas de color verde claro hasta amarillo lechoso y de mal olor por 2 semanas seguidas, los demás terneros tuvieron diarreas leves a moderadas, pero con alta repetición que duraban más de 4 semanas.

En cuanto al procesamiento de las muestras pudo haber falencias al momento de realizar el frotis fecal (frotis demasiado grueso, restos de tinciones) y por no procesarlas a su debido tiempo, ya que el refrigerarlas por demasiado tiempo hace que los patógenos que estén en la muestra sufran un proceso de muerte celular, esto resultando en falsos negativos. Se ha descrito que los terneros infectados con *Cryptosporidium spp* son asintomáticos y solo animales inmunodeprimidos o con una patología concomitante llegan a presentar signos (Fredes, 2015) además la eliminación de ooquistes es intermitente provocando que animales enfermos, eliminen o no ooquistes que son casi imposibles de detectar con tinciones (Lujan & Garbossa, 2008). En los terneros la transmisión se da principalmente directa, vía fecal-oral, y la principal fuente de infección serían las heces excretadas por los animales con diarrea o animales adultos que son asintomáticos, pero eliminan gran cantidad de ooquistes (Del Coco, Córdoba & Basualdo, 2009).

La diarrea es la principal causa de muerte durante el primer mes de vida del ternero, estudios realizados en Colombia indicaron variabilidad en los niveles de incidencia de diarrea neonatal bovina donde se hallaron tasas del 2,56% en terneros de 0 a 2 meses de vida en el Departamento de Nariño (Pardo & Oliver, 2015). Fueron similares a los valores informados para terneros menores de 90 días, donde las diarreas se presentaron en la primera semana afectando el 29,7% de todos los terneros. La mayor frecuencia de diarrea es previa a las dos semanas de vida, por ende, los episodios de diarrea se concentran en el primer mes observándose un valor máximo de incidencia (30%) alrededor del día 10 (Tiranti, Vissio & Larriestra, 2015), sin embargo, en un estudio previo realizado en la Sabana de Bogotá se detectó una mayor presentación en la tercera semana de edad (Pardo & Oliver, 2015). La diarrea neonatal bovina tiene una etiopatogenia compleja, cuando *Cryptosporidium spp* es el único que está presente la mortalidad es baja, pero dependiendo su asociación con otros agentes, el grado de inmunidad y estado nutricional del huésped, la mortalidad puede ser alta. Las edades más afectadas, son de 4 a 30 días, además mientras más malas son las condiciones sanitarias del ambiente, principalmente en donde permanecen los becerros, mayor será el riesgo de contagio y presencia de la enfermedad (Ortolani & Castro, 2003).

Los métodos diagnósticos tienen diferentes niveles de sensibilidad y especificidad (Ver Tabla 7), los métodos moleculares son los más sensibles para detectar ooquistes en muestras ambientales, aunque la sensibilidad de métodos publicados es demasiado baja. La inmunofluorescencia directa y ELISA tiene un nivel de sensibilidad similar que pueden emplearse tanto en muestras fecales concentradas como no concentradas, comparadas con las tinciones convencionales los kits son más costosos considerando que parecen tener un umbral similar de detección (Ocampo, Cardozo, López, Álvarez, Pérez & Páez, 2011).

La tinción de Ziehl Neelsen modificada es la prueba más utilizada ya que es de fácil realización y presenta una sensibilidad y especificidad del 95% y 98%. En un estudio realizado en Chile por Díaz, en el 2010 donde se pretendía buscar la eficacia de dos métodos de tinción microscópicos: La auramina (AU) y tinción de Ziehl Neelsen modificada. Los resultados arrojados en este estudio mostraron que la tinción de auramina es más sensible en la detección de ooquistes, pero el nivel de diferencia de las dos pruebas fue mínimo (Díaz, 2010). Sin embargo, esta prueba, aunque sea la más utilizada, su mayor desventaja es operador-dependiente teniendo que ser ejecutada por profesionales experimentados (Luján & Garbossa, 2008).

La técnica de flotación fecal también permite la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium spp* mediante un examen microscópico de muestras fecales por flotación que permite la detección de huevos, pero es una de las pruebas menos utilizadas. El uso de kit ELISA también es común utilizarlos ya que presentan una sensibilidad y especificidad del 96% y 100% (Muñoz, 2019). Hay que tener en cuenta que, aunque las pruebas arrojen resultados de ooquistes hay animales sanos que los excretan en las heces y esto no siempre es causal de enfermedad (Pardo & Oliver, 2012). La inmunofluorescencia es una técnica que se realiza para confirmar, cuando se presenta poca cantidad de ooquistes en las heces, esta técnica presenta una mayor sensibilidad y especificidad comparada con las demás pruebas diagnósticas (Avendaño, Quilez & Sánchez, 2010 & Arnedo, Bracho, Díaz & Botero, 2008).

La inmunocromatografía es una prueba que utiliza antígenos contra *Cryptosporidium spp* se han observado falsos positivos y por lo tanto es necesario realizar otra prueba confirmatoria. La sensibilidad es inferior a la observada para la ELISA, IFM y PCR (De la Parte, Bruzual, Brito & Hurtado, 2005).



**Tabla 7**

*Sensibilidad y especificidad de las diferentes pruebas diagnósticas para *Cryptosporidium* spp*

<b>Pruebas</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>
<b>Tinción de Ziehl Neelsen</b>	95%	98%
<b>Inmunofluorescencia</b>	98%	100%
<b>ELISA</b>	96%	100%
<b>Inmunocromatografía</b>	95%	95%
<b>PCR</b>	90%	90%
<b>Tinción de auramina</b>	95%	98%

Díaz (2010), Pulido, Andrade, Rodríguez & García (2014), Ocampo *et al.*, (2011)

## CONCLUSIONES

- La frecuencia de presentación de las diarreas fue mayor en las dos primeras semanas (50-60%) y la edad más predisponente a presentarlas fue a los 20 días, donde las diarreas que más se presentaron fueron leves y moderadas. Se debe poner más cuidado a los terneros, a su ambiente y alimentación para prevenir mortalidades.
- Los resultados frente a *Cryptosporidium spp* fueron negativos. Esto, pudo ser debido a problemas relacionados con: manejo de las muestras, procesamiento o una baja sensibilidad de la tinción en la cual los animales asintomáticos o con poca carga parasitaria no son o serán detectables.
- La medición de las proteínas plasmáticas totales estuvo dentro de los valores normales indicando una aparentemente buena transferencia de anticuerpos. Sin embargo, aunque es una prueba que se utiliza comúnmente, es indicado que esta se realice en conjunto con otra prueba que tenga más sensibilidad (precipitación de sulfato de sodio e inmunodifusión radial) ya que los resultados pueden variar dependiendo el estado de salud del animal y otras causas que ya se mencionaron.

## Recomendaciones

Una vez concluida la tesis, se debe considerar seguir con el estudio a futuro y se propone:

- Se propone realizar coprológicos a los terneros que presenten signos de diarrea para verificar cual es la causa y administrar un tratamiento efectivo para el patógeno encontrado.
- La tinción de Ziehl Neelsen es la técnica más común para realizar el diagnóstico de *Cryptosporidium spp*, pero es una prueba muy operador-dependiente. Para el próximo estudio se propone hacer uso de la inmunofluorescencia o kits ELISA que presentan más sensibilidad y especificidad y aunque sean costosas se pueden realizar varias muestras con un solo kit.
- Ampliar la zona de estudio para que se incluya un mayor número de animales
- Contar con un mejor registro de la información de la finca, para que la información que se recolecte sea verídica y confiable

## REFERENCIAS

Ameri, M. y Wilkerson, M. (2008). Comparison of two commercial radial Immunodiffusion assays for detection of bovine immunoglobulin G in newborn calves. *J Vet Diagn Invest*, 20 (3). 333-336.

<https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/104063870802000312>

Angarita, G y Granada, W. (2009). *Determinación de la curva de crecimiento, viabilidad y proteínas plasmáticas pre-destete de terneros romosinuanos en condiciones de bosque seco tropical* (Tesis de pregrado). Universidad del Tolima, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ibagué- Tolima.

Arancibia, R. (2009). Manejo del ternero recién nacido. *Revista TecnoVet*, 15 (1). 23-26. <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/122560/Manejo-del-ternero-recien-nacido.pdf?sequence=1>

Arnedo, I., Bracho, M., Díaz, O. y Botero, L. (2008). Técnicas para la detección de *Cryptosporidium spp* en sistemas de tratamientos de agua residual. *Kasmera*, 36 (2). 120-128. <http://ve.scielo.org/pdf/km/v36n2/art04.pdf>

Avendaño, C., Amaya, A. y Bayona, M. (2010). Caracterización epidemiológica de la criptosporidiosis en bovinos de la región sabana centro (Cundinamarca). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13 (12), 111.

<https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/737>

Avendaño, C., Quílez, J. y Sánchez, 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>

Baquero, J. (2008). Diarrea neonatal indiferenciada: Consideraciones sobre su prevención en campo. *Revista Veterinaria y Zootecnia*.

<http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v2n2a08.pdf>

Beltrán, L. (2011). *Inmunidad del becerro recién nacido* (Monografía de pregrado). Universidad de Cuenca, facultad de ciencias agropecuarias, escuela de medicina veterinaria y zootecnia, Ecuador.

Campos, R., Carrillo, A., Loaiza, V. y Giraldo, L. (2007). El Calostro: Herramienta para la cría de terneros (*Departamento de Ciencia Animal*).

<https://es.calameo.com/read/0045003108bc7c25cc365>

Carrillo, A., Loaiza, V. y Campos, R. (2009). Utilización de indicadores metabólicos en la valoración de la transferencia de inmunidad pasiva en neonatos bovinos. *Acta Agron.*, 58 (3), 174-179.

[https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/11512/12165](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/11512/12165)

Castellón, J. y Solórzano, V. (2011). *Determinación de posibles causas y tratamiento del Síndrome de diarreas en terneros de 0-2 semanas de nacidos* (Tesis de pregrado).

Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayaquil- Ecuador.

Castro del Campo, N., Enríquez, I., Portillo, J. y Gaxiola, S. (2017). Prevalencia y factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium spp.* En corderos de pelo de Culiacán, Sinaloa, México. *Revista científica fcv-luz*, 27 (4), 211-2019. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/959/95953011003.pdf>

Castro, A., Bilbao, G., Echevarría, H., Morán, P., Catena, M., Cacciato, C. y Monteavaro, C. (2009, 13 de septiembre). Cryptosporidiosis: caracterización de la infección en terneros de rodeos lecheros. *Sitio Argentino de producción animal*. [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/parasitarias/parasitarias\\_bovinos/131-Cryptosporidiosis.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_bovinos/131-Cryptosporidiosis.pdf)

De la Parte, M., Bruzual, E., Brito, A. y Hurtado, M. (2005). *Cryptosporidium spp* y criptosporidiosis. *Revista Social Venezolana de Microbiología*, 25 (1). [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562005000100003](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562005000100003)

Del Coco, V., Córdoba, M. y Basualdo, J. (2009). Criptosporidiosis: una zoonosis emergente. *Revista Argentina de Microbiología*, 41 (3) 185-196. <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213016782011.pdf>

Díaz, A. (2010). *Diagnostico comparativo de Cryptosporidium spp mediante las tinciones de Ziehl-Neelsen y de auramina en heces de terneros diarreicos de rebaños lecheros de la región metropolitana, Chile* (Tesis de Pregrado). Universidad de Chile. Santiago- Chile.

Elizondo, J. (2007). Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. *Agronomía Mesoamericana*, 18 (2). 271-281. <https://www.redalyc.org/pdf/437/43718213.pdf>

Elizondo, J. y Rodríguez, J. (2013). Transferencia de inmunidad pasiva en terneras de lechería que reciben calostro por dos métodos diferentes. *Nutrición Animal Tropical*, 7 (1). 1-13. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/view/12230/11499>

Elizondo, J. (2015). Concentración de Inmunoglobulinas totales en calostros de vacas en explotaciones lecheras de Costa Rica. *Acta Agronomía Mesoamericana*, 26 (1), 27-32. [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v26n01\\_027.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v26n01_027.pdf)

Formiga, F., Massae, G., Thaís, R., Vasconcelos, M., Maroni, C., Ciarlini, P. y Secorum, A. (2004). Prevalência de criptosporidiose em bezerros na região de Araçatuba, Estado de São Paulo, Brasil. *Ciência Rural, Santa Maria*, 34 (1), 189-183. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n1/a29v34n1.pdf>

Foster, D. y Smith, G. (2009). Pathophysiology of Diarrhea in Calves. *Vet Clin Food Anim*, 25, 13-36. Doi: 10.1016/j.cvfa.2008.10.013

Franco, S. (2011). *Valor predictivo positivo del diagnóstico clínico de diarrea en terneros* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Litoral. Santa fe- Argentina.

Fredes, G. (2015). *Detección y caracterización de Cryptosporidium spp mediante métodos tradicionales y PCR en diferentes matrices (heces y aguas)* (Tesis doctoral). Universidad de Córdoba, España.

Gapper, L., Copestake, D., Otter, D y Indyk, H. (2007). Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum, and dietary supplements: a review. *Anal Bioanal Chem*, 389. 93-109. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1391-z>

García, J., Albornoz, O. y Vela, D. (2006). Determinación de inmunoglobulinas séricas de origen calostrual en terneros recién nacidos. *Boletín Técnico, Serie zoológica*, 2. 77-85. <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1398/989>

García, E., Valladares, B., Talavera, M. y Velásquez, V. (2014). Criptosporidiosis: Importancia en salud pública. *Rev. Electrón. Vet*, 15 (5). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050514/051406.pdf>

Gooden, S. (2008). Colostrum management for dairy Calves. *Vet Clin Food Anim*, 24. 19-39. <https://www.vetfood.theclinics.com/action/showPdf?pii=S0749-0720%2807%2900075-8>

Hernández, R. (2014). *Metodología de la investigación. Sexta edición*. McGraw-Hill / Interamericana Editores, S.A. [http://proyectos.javerianacali.edu.co/cursos\\_virtuales/posgrado/maestria\\_asesoria\\_familiar/Investigacion%20I/Material/31\\_Hern%C3%A1ndezSampieri\\_MetInv\\_406a470.pdf](http://proyectos.javerianacali.edu.co/cursos_virtuales/posgrado/maestria_asesoria_familiar/Investigacion%20I/Material/31_Hern%C3%A1ndezSampieri_MetInv_406a470.pdf)

Hernández, N. y Cortez, J. (2012). Prevalencia y factores de riesgo de *Cryptosporidium spp* y *Giardia spp*. En terneros de ganado lechero de la zona noroccidental de la sabana de Bogotá. *Rev. Salud Publica*, 14 (1), 169-181. <https://scielosp.org/article/rsap/2012.v14n1/169-181/>



Hernández, G. (2013). *Evaluación de los niveles de inmunidad pasiva, mediante refractometría en terneros recién nacidos, entre 24 y 72 horas, de 6 lecherías a pastoreo bajo sistema neozelandés* (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Medicina Preventiva. Valdivia- Chile.

Holsback, L., Lima, H., Vidotto, O., Alves da Silva, M., Constantino, T., Cardoso, F. y De Seixas, M. (2018). Cryptosporidium occurrence in ruminants from the North Pioneer mesoregion of Paraná, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 27 (2), 248-253. <https://www.scielo.br/pdf/rbpv/v27n2/1984-2961-rbpv-S1984-296120180037.pdf>

Indra, E., Daina, K. y Jelena, Z. (2012). Analysis of factors influencing immunoglobulin concentration in colostrum of dairy cows. *Lucrări Științifice Journal- Seria Zootehnie*, 57. 256-259. [https://www.uaiasi.ro/zootehnie/Pdf/Pdf\\_Vol\\_57/Eihvalde\\_Indra.pdf](https://www.uaiasi.ro/zootehnie/Pdf/Pdf_Vol_57/Eihvalde_Indra.pdf)

Krasniansky, K. (2014). *Efecto de la distocia sobre el rendimiento productivo de vacas lecheras de la zona central de Chile* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Santiago- Chile.

Lee, S., Jaekal, J., Bae, C., Chung, B., Yun, S., Gwak, M., Noh, G. y Lee, D. (2008). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Single Radial Immunodiffusion, and Indirect Methods for the Detection of Failure of Transfer of Passive Immunity in Dairy Calves. *J Vet Intern Med*, 22 (1). 212-218. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-1676.2007.0013.x>

Lombard, J., Garry, F., Tomlinson, S. y Garber, L. (2007). Impacts of Dystocia on Health and Survival of Dairy Calves. *J. Dairy Sci*, 90 (4), 1751-1760. doi:10.3168/jds.2006-295

Lomonte, B. (2009). *Técnicas de Laboratorio en Inmunología Clínica*.  
[http://www.medic.ula.ve/idic/docs/clases/iahula/curso\\_2010/suplementario-tema16.pdf](http://www.medic.ula.ve/idic/docs/clases/iahula/curso_2010/suplementario-tema16.pdf)

López, R. (2016). *Eficiencia de los métodos de calostrado en terneros Holando* (Tesis de pregrado). Universidad de la Republica, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

Luján, Z. y Garbossa, G. (2008). Cryptosporidium: cien años después. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 42 (2). 195-201.  
<https://www.redalyc.org/pdf/535/53542204.pdf>

Luna, S. (2015). *Niveles de proteínas séricas totales en terneros híbridos de carne y su relación con indicadores sanitarios y productivos* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y pecuarias, Escuela de Ciencias Veterinarias, Santiago- Chile.

Martinez, M., Bertoni, E., Suarez, V. y Micheloud, J. (2014). Evaluación de los niveles de ingesta de calostro en terneros de Tambo por dos métodos de campo. *Congreso de asociación Argentina de producción animal*, xy (1).  
[https://www.researchgate.net/publication/267393265\\_Evaluacion\\_de\\_los\\_niveles\\_de\\_ingesta\\_de\\_calostro\\_en\\_terneros\\_de\\_tambo\\_por\\_dos\\_metodos\\_de\\_campo](https://www.researchgate.net/publication/267393265_Evaluacion_de_los_niveles_de_ingesta_de_calostro_en_terneros_de_tambo_por_dos_metodos_de_campo)

Menares, C. (2011). *Efecto del uso de calostro comercial sobre la inmunidad pasiva en terneros Holstein nacidos en invierno* (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Escuela de Agronomía, Valdivia- Chile.

Morales, G. (2011). *Diagnóstico de Cryptosporidium spp. Mediante tinción de Ziehl-Neelsen y auramina en heces de terneros diarreicos de predios lecheros en la provincia de Valdivia* (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Escuela de Agronomía, Valdivia- Chile.

Morales, A. y Gaitán, I. (2011). *Manual de procedimientos de laboratorio de inmunología*. <https://microinmuno.files.wordpress.com/2013/07/manual-de-inmunologia.pdf>

Morin, D., Constable, P., Maunsell, F. y McCoy, G. (2001). Factors Associated with Colostral Specific Gravity in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 84. 937-943.  
[https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(01\)74551-1/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(01)74551-1/pdf)

Muñoz, P., Fredes, F., Díaz, A., Mercado, R y Osaki, L. (2011). Detección de *Cryptosporidium spp* en terneras de lecherías de la Región Metropolitana mediante Ziehl Neelsen y confirmada por inmunocromatografía y ensayo molecular. *Arch Med Vet*, 43 (2). 111- 116. [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2011000200003](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2011000200003)

Muñoz, A. (2018). Transferencia de inmunidad pasiva en terneros: fallas, factores y evaluación. *Rev. Electrón. Vet*, 19 (7).  
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5166292.pdf>

Muñoz, G. (2019). *Revisión bibliográfica de las pruebas diagnósticas en las diarreas neonatales bovinas* (Tesis de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá- Colombia.

Ocampo, R., Cardozo, L., Duque, G., López, A., Álvarez, M., Pérez, J. y Rivera, F. (2011). Evaluación de métodos moleculares y microscópicos para la detección de *Cryptosporidium spp* (Apicomplexa – Cryptosporidiidae). *Biosalud*, 10 (1). 19-29.  
[http://190.15.17.25/biosalud/downloads/Biosalud10\(1\)\\_3.pdf](http://190.15.17.25/biosalud/downloads/Biosalud10(1)_3.pdf)

Ortolani, E. y Castro, P. (2003). Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. *Parasitol Latinoam*, 58 (3-4), 122-127.  
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/parasitol/v58n3-4/art06.pdf>

Pardo, D. (2012). *Determinación de los factores de riesgo y de los agentes etiológicos asociados con la presentación de diarrea neonatal bovina (DNB) en fincas de la sabana de Bogotá* (Tesis de posgrado). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bogotá- Colombia.

Pardo, D. y Oliver, O. (2012). Identificación de agentes infecciosos asociados con Diarrea Neonatal Bovina en la Sabana de Bogotá. *Revista MVZ Córdoba*, 17 (3), 3162-3168.  
<https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/download/216/285/0>

Pardo, D. y Oliver, O. (2015). Determinación de factores de riesgo involucrados en diarrea neonatal bovina en fincas lecheras del trópico alto colombiano. *Revista Veterinaria*, 26 (2), 124-130. [https://www.researchgate.net/profile/Olimpo\\_Oliver-](https://www.researchgate.net/profile/Olimpo_Oliver-)

Espinosa/publication/295703708\_Determinacion\_de\_factores\_de\_riesgo\_involucrados\_en\_diarrea\_neonatal\_bovina\_en\_fincas\_lecheras\_del\_tropico\_alto\_colombiano/links/56cca6c208ae4d8d6496af74/Determinacion-de-factores-de-riesgo-involucrados-en-diarrea-neonatal-bovina-en-fincas-lecheras-del-tropico-alto-colombiano.pdf?origin=publication\_detail

Pulido, O., Andrade, R., Rodríguez, I. y García, D. (2014). Prevalencia y posibles factores de riesgo en la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium spp* en bovinos de Boyacá, Colombia. *Revista México ciencias pecuarias*, 5 (3). 357-364.

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242014000300008](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242014000300008)

Quiroga, P y Orejarena, N. (2013). *Determinación de algunos parámetros hematológicos y de química sanguínea en terneros Cebuínos menores de 20 días del Magdalena Medio* (Tesis de pregrado). Universidad de la Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Bogotá- Colombia.

Ramírez, A. (2015). *Técnicas de diagnóstico de Cryptosporidium spp en animales domésticos* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón-Coahuila. México

Radostits, O., Mayhew, I. y Houston, D. (2002). *Examen y diagnóstico clínico en Veterinaria*. Harcourt, S.A.

Rey, L. y Velásquez, G. (2017). *Evaluación de pruebas de turbidez de sulfato de zinc y de precipitación de sulfito de sodio como determinantes diagnósticos de la transferencia*

*pasiva de inmunoglobulinas en potros de 12 a 36 horas de nacidos* (Tesis de pregrado).

Universidad Cooperativa de Colombia, Meta- Villavicencio.

Sagaró, E. (2007). Diarrea persistente. *Colombia Médica- Universidad del Valle- Cali (Colombia)*, 38 (1), 66-70. <https://www.redalyc.org/pdf/283/28309910.pdf>

Sandoval, R., Delgado, A., Chavera, A., Choez, K., García, C., Ruiz, L. y Arévalo, I. (2017). Brote de alta mortalidad en terneros lecheros por diarrea neonatal producida por *Cryptosporidium spp* asociado a bacteriemia en un establo lechero de Lima. *Revista Inv. Vet Perú*, 28 (3), 757-763. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n3/a31v28n3.pdf>

Sánchez, G. (2010). *Estudio comparativo de la refractometría y la técnica de sulfito de sodio para la determinación de proteína plasmática en becerras Holstein* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila, México.

Sánchez, R., Romero, J. y Rosannigo, C. (2013). *Epidemiología y control de Coccidios y Cryptosporidium spp*  
[https://www.researchgate.net/publication/305479096\\_Epidemiologia\\_y\\_control\\_de\\_Coccidios\\_y\\_Cryptosporidium](https://www.researchgate.net/publication/305479096_Epidemiologia_y_control_de_Coccidios_y_Cryptosporidium)

Silva, B., Chácará, L., Rodríguez, K., Monteiro, C., Alves de Oliveira, M. y Cavalcante de Sousa, S. (2018). Occurrence of *Cryptosporidium spp* and its association with ponderal development and diarrhea episodes in Nellore mixed breed cattle. *Acta Veterinaria Brasilica*, 13 (1), 24-29.

<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/7977/9917>

Tello, A. y Zedeño, J. (2015). *Relación de la densidad del calostro y la refractometría del suero sanguíneo en el desarrollo de terneros hasta los 60 días de nacidos* (Tesis de pregrado). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras.

Tepán, R. (2011). *Diarrea neonatal de los terneros* (Monografía de pregrado). Universidad de Cuenca, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Cuenca- Ecuador.

Tiranti, K., Vissio, C. y Larriestra, A. (2015). Patrón de Riesgo de la Incidencia de Diarrea y Mortalidad en Terneros de Lechería en Córdoba, Argentina. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 30 (1-2), 1-9.  
<https://revistas.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/39184/40812>

Yepes, M y Prieto, 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, Facultad de ciencias agropecuarias, programa de Zootecnia, Bogotá- Colombia.

Vargas, O., Elizondo, J y Noguera, L. (2014). Factores relacionados con la falla en transferencia de inmunidad pasiva en terneras y terneros de lechería en la región central norte de Costa Rica. *Nutrición Animal Tropical*, 8 (1). 68-79.  
<https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/nutrianimal/article/view/14905/14182>

## ANEXOS

## ANEXO A

Tabla 1. Datos de la madre

<b>Identificación</b>	
<b>Raza</b>	
<b>Edad</b>	
<b>Número de partos</b>	
<b>Facilidad del parto</b>	
<b>Retención de placenta</b>	

## ANEXO B

Tabla 2. Datos del ternero

<b>Fecha de nacimiento</b>		<b>Hora</b>	
<b>Identificación</b>			
<b>Sexo</b>	<b>Macho: ____</b>	<b>Hembra: ____</b>	
<b>Raza</b>			
<b>Peso al nacimiento</b>			
<b>Hora de consumo de calostro</b>			
<b>Cantidad (L)</b>			
<b>Frecuencia (#veces al día)</b>			
<b>Forma de administración</b>	<b>Amamantamiento:</b> ____	<b>Tetero: ____</b>	



## ANEXO C

**Tabla 3.** Examen clínico del ternero

Examen clínico			Sistemas	N	A	NE
Actitud			General			
Condición corporal			Piel y anexos			
Temperatura			Musculo esquelético			
Frecuencia cardiaca			Sistema respiratorio			
Frecuencia respiratoria			Sistema vascular			
Pulso			Sistema digestivo			
Color de las mucosas			Sistema linfático			
Tiempo de llenado capilar			Sistema nervioso			
Tiempo de llenado yugular			Sistema urinario			
Motilidad intestinal/ruminal						
Peso						