

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS



Efecto bacteriostático del bicarbonato de sodio en calostro bovino refrigerado.

Por:

JOSÉ JOVINO LOPÉZ ACOSTA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Efecto bacteriostático del bicarbonato de sodio en calostro bovino refrigerado.

Por:

JOSÉ JOVINO LÓPEZ ACOSTA

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


DR. JESÚS ENRIQUE CANTU BRITO
Presidente


DR. RAMIRO GONZÁLEZ ÁVALOS
Vocal


DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ
Vocal


M.C. SILVESTRE MORENO ÁVALOS
Vocal


MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal

Coordinación de la División Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Efecto bacteriostático del bicarbonato de sodio en calostro bovino refrigerado.

Por:

JOSÉ JOVINO LOPÉZ ACOSTA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


DR. RAMIRO GONZÁLEZ ÁVALOS
Asesor Principal


DR. JUAN LEONARDO ROCHA VALDEZ
Coasesor


MG. SILVESTRE MORENO ÁVALOS
Coasesor


MVZ. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Junio 2018

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por darme salud, sabiduría y por guiarme por buenos caminos para lograr esta meta que con sacrificio y esfuerzos es ahora una realidad.

A mis padres. José Jovino López Sarmiento y Silvia Acosta Cárdenas por brindarme la oportunidad de superarme y seguir estudiando, por darme consejos y todo su apoyo incondicional día con día.

A mis hermanos. Por siempre estar ahí para mí cuando los he necesitado por hacerme sentir que no estoy solo, y por ser mi motivación para salir adelante.

A mi familia. Por apoyarme en todo lo que he necesitado a lo largo de esta carrera, al igual por brindarme consejos y motivarme a seguir con mis estudios, porque creyeron en mi cuando otras personas no lo hicieron, a todos mis familiares les estoy completamente agradecido son una gran familia mil gracias por todo.

A mi novia. Anakarem Pacheco Lucas por ser una gran persona, por apoyarme y aconsejarme en el tiempo que hemos estado juntos y por formar parte de mi vida y espero y así siga muchos años más.

Al Dr. Ramiro González Avalos. Por ser un gran maestro, por brindarme la oportunidad de trabajar en conjunto con él y por su apoyo para poder realizar mi tesis y así poder conseguir mi título como todo un MVZ.

A todos mis amigos de la Narro. Por brindarme su amistad a lo largo de estos 5 años de carrera, por permitirme formar parte de sus vidas, por apoyarme tanto dentro de la escuela como en mi vida personal a todos ellos muchas gracias son grandes personas.

A mi ALMA TERRA MATER. La cual me brindó todas las herramientas posibles durante mi formación profesional, también me brindó la oportunidad de conocer a nuevas personas que formaron parte de todo este sueño que ahora está por concluir para seguir con más metas a lo largo de mi vida mil gracias por todo

DEDICATORIAS

A mis Abuelos Paternos. Don Jovino López y Doña Marta sarmiento que siempre fueron unas excelentes personas y a pesar de su partida siguen siendo una gran motivación para todos nosotros en especial para mí, que Dios los tenga en su santa gloria.

RESUMEN

El manejo exitoso de la ternera comienza con la primera alimentación del calostro. Los becerros dependen del consumo de calostro de buena calidad para proporcionar inmunidad pasiva contra los patógenos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto bacteriostático del bicarbonato de sodio en calostro bovino refrigerado. Se utilizó el calostro de primer ordeño de vacas primíparas y múltiparas de la raza Holstein Friesian dentro de las primeras 24 h después del parto. Se utilizaron cuatro tratamientos (T): T1= testigo, T2= 10 gramos, T3= 20 gramos, T4= 30 gramos de bicarbonato de sodio por litro de calostro respectivamente. Después de incubar las placas a 30°C durante 72 horas, se calculó el número de bacterias aeróbicas mesófilas por gramo de la muestra de alimento, basándonos en el número de colonias obtenidas en caja de Petri elegidas con diluciones que den resultados significativos. Los resultados obtenidos en el presente estudio indican una diferencia significativa entre tratamientos, el tratamiento T2 resultó con mayor crecimiento de bacterias. La adición de bicarbonato de sodio en el calostro puede producir efecto bacteriostático.

Palabras clave: calostro, bacterias, bovino, inmunidad, neonato.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	iii
RESUMEN	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	3
1.2 Hipótesis.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Calidad del calostro bovino.....	6
2.2 Estrategias de conservación del calostro.....	7
2.3 Pasteurización de calostro.....	8
2.4 Refrigeración y congelación de calostro	8
2.5 Uso de conservadores	9
3. MATERIALES Y METODOS	11
4. RESULTADOS Y DISCUSION	13
5. CONCLUSIONES	15
6. LITERATURA CITADA	16

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1. Promedio del conteo de bacterias encontradas en cada una de las muestras con su respectiva hora y cantidad aplicada de bicarbonato de sodio. 14

1. INTRODUCCIÓN

El calostro, la primera secreción producida por la glándula mamaria después del parto, es especialmente rico en inmunoglobulinas (Ig) o anticuerpos, los cuáles proveen a la becerro su protección inmunológica durante las primeras semanas de vida (Nousiainen *et al.*, 1994). El calostro contiene más de 10^6 inmunocélulas maternas viables por mililitro, incluyendo linfocitos T y B, neutrófilos, macrófagos, factores de crecimiento y hormonas como la insulina y el cortisol (Le Jan, 1996).

Además el calostro es la primera fuente de nutrientes para la ternera después del nacimiento. Contiene casi el doble de los sólidos totales presentes en la leche, el contenido de proteína y grasa es mayor, pero la concentración de lactosa es menor, las vitaminas y minerales se encuentran también en mayores cantidades (Hadorn y Blum, 1997).

Las becerros nacen sin inmunidad pasiva debido a que la placenta de los bovinos no permite el traspaso de anticuerpos de la madre a la becerro durante la gestación. Por lo tanto, el consumo de calostro es fundamental para lograr una adecuada transferencia de inmunidad pasiva y protección contra enfermedades importantes en las primeras semanas de vida hasta que la becerro sea capaz de producir su propia inmunidad. El consumo de calostro de manera adecuada reduce el riesgo de morbilidad y mortalidad, mejora la ganancia de peso y la eficiencia alimentaria, reduce la edad del primer parto, mejora la producción durante la primera y segunda lactancia, y disminuye el riesgo de eliminación durante la primera lactancia (Godden, 2008).

El intestino delgado de la becerro recién nacida posee la capacidad de absorber moléculas grandes intactas, como Ig y otras proteínas, solamente durante las

primeras 24 horas de vida (Stott y Menefee, 1978; Larson *et al.*, 1980; Hopkins y Quigley III, 1997; Morin *et al.*, 1997). Transcurrido este tiempo, se da lo que se conoce como el cierre intestinal (Bush y Staley, 1980). La absorción de suficientes Ig que provean a la becerro de inmunidad pasiva debe ocurrir durante las primeras 24 horas de vida. Por esta razón, alcanzar un consumo temprano y adecuado de un calostro de alta calidad, es el factor independiente más importante de manejo que determina la salud y sobrevivencia de las becerras (Nocek *et al.*, 1984; Hopkins y Quigley III, 1997).

A pesar de que los factores inmunológicos presentes en el calostro son de vital importancia para una adecuada salud y un buen desarrollo de las becerras, la contaminación bacteriana puede opacar dichos beneficios. Algunos de los patógenos que pueden estar presentes en el calostro, ya sea provenientes de la glándula mamaria o de la contaminación en el manejo del mismo y que pueden ser transmitidos a las terneras incluyen: *Mycobacterium avium* spp. Paratuberculosis, *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp., *Listeria monocytogens*, *Campylobacter* spp., *Mycobacterium bovis* y *Escherichia coli* (Dominguez *et al.*, 1997; Stabel *et al.*, 2001; Stabel, 2004; Stewart *et al.*, 2005; Godden *et al.*, 2006). Estos agentes infecciosos pueden ocasionar enfermedades como la enteritis y septicemia. También se ha sugerido que la presencia de bacterias en el intestino delgado podría interferir con la absorción de inmunoglobulinas provenientes del calostro (Stewart *et al.*, 2005). Se ha agregado bicarbonato de sodio (NaHCO_3) al calostro acidificado y fermentado para que actúe como tampón. (Foley *et al.*, 1978) demostraron que la adición de NaHCO_3 al calostro fermentado mejoró la absorción de inmunoglobulina en el becerro recién nacido. También se ha observado que el bicarbonato de sodio

tiene un efecto bacteriostático en ciertas especies de bacterias como *Escherichia coli* 0111 que se encuentra en el calostro bovino (Griffiths y Humphreys, 1977).

1.1 Objetivos

Evaluar el efecto bacteriostático del bicarbonato de sodio en calostro bovino refrigerado.

1.2 Hipótesis

El bicarbonato de sodio impedirá la reproducción bacteriana en el calostro bovino refrigerado.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

El organismo posee una serie de barreras físicas, químicas y biológicas que desempeñan un papel importante en la defensa contra patógenos. La primera de ellas: la piel, es una barrera absoluta contra los gérmenes. Son también barreras externas las vellosidades nasales, que impiden el paso de agentes extraños; y las mucosas que producen sustancias antimicrobianas. Los agentes patógenos que logran entrar al cuerpo se encuentran con una segunda línea de defensa, que consiste en células fagocíticas que destruyen dichos elementos. Una tercera línea de defensa como respuesta a la presencia de una sustancia extraña (antígeno) son los anticuerpos o inmunoglobulinas, las cuáles son proteínas producidas por los linfocitos, que son uno de los diversos tipos de células blancas producidas en la médula ósea por el proceso de hematopoyesis (Kindt *et al.*, 2007).

El calostro, la primera secreción producida por la glándula mamaria después del parto, es especialmente rico en Ig o anticuerpos, los cuáles proveen a la ternera su protección inmunológica durante las primeras semanas de vida (Nousiainen *et al.*, 1994). Este mismo contiene una alta concentración de Ig que son transferidas desde el torrente sanguíneo de la madre (Sasaki *et al.*, 1977; Larson *et al.*, 1980). Se encuentran principalmente 3 tipos de Ig a saber: G, M y A. La mayoría de Ig en el calostro bovino son de la clase G, más específicamente G¹ (Muller y Ellinger, 1981). El sistema inmune de la ternera al nacimiento es inmaduro e incapaz de producir suficientes Ig para combatir infecciones (Sasaki *et al.*, 1983). La adquisición de Ig a través de la absorción intestinal protege a la ternera de las enfermedades hasta que su propio sistema inmune llegue a ser completamente funcional (Robinson *et al.*, 1988).

La absorción de suficientes Ig que provean a la becerro de inmunidad pasiva debe ocurrir durante las primeras 24 horas de vida. Por esta razón, alcanzar un consumo temprano y adecuado de un calostro de alta calidad, es el factor independiente más importante de manejo que determina la salud y sobrevivencia de las terneras (Nocek *et al.*, 1984; Hopkins y Quigley III, 1997).

Las becerros recién nacidas dependen de la absorción de las Ig presentes en el calostro dentro de las primeras horas de vida para protegerse contra enfermedades infecciosas en la etapa temprana de vida, este proceso es conocido como transferencia de inmunidad pasiva (Godden *et al.*, 2012). Además de Ig el calostro provee al neonato carbohidratos, grasas y proteínas que funcionan como combustible metabólico; también aporta vitaminas y minerales que trabajan como cofactores en procesos enzimáticos y en el mantenimiento de las funciones generales del organismo (Morris *et al.*, 2012).

Una variedad de factores afectan la transferencia de inmunidad pasiva, entre los más importantes se encuentran el tiempo que transcurre desde que la becerro nace hasta que consume el calostro y la masa de Ig consumida, que a su vez se ve afectada por el volumen consumido y la concentración de Ig presentes en el mismo (Godden *et al.*, 2009ab).

Adecuadas concentraciones séricas de Ig entre las 24 y 48 horas de vida se han asociado con una disminución en la morbilidad y mortalidad en el periodo pre-destete, mejora en la ganancia de peso, edad reducida al primer parto y mayor producción de leche en la etapa de lactancia (Weaver *et al.*, 2000; Faber *et al.*, 2005).

Durante los últimos días de gestación, grandes cantidades de Ig son transferidas de la glándula mamaria al calostro (Larson *et al.*, 1980). Sin embargo, muchos factores pueden influir sobre la concentración de Ig en el calostro de vacas lecheras, entre ellos están la raza, el número de parto, la vacunación y el largo del periodo seco (Weaver *et al.*, 2000; Baumrucker *et al.*, 2010; Morrill *et al.*, 2012).

El calostro contiene más de 10^6 inmunocélulas maternas viables por mililitro, incluyendo linfocitos T y B, neutrófilos, macrófagos, factores de crecimiento y hormonas como la insulina y el cortisol (Le Jan, 1996).

Estos factores de crecimiento y hormonas juegan un papel importante en la estimulación del desarrollo del tracto gastrointestinal y otros sistemas en la ternera recién nacida (Davis y Drackley, 1998). Si se presenta algún problema en la absorción de Ig, particularmente IgG¹, se observará como resultado una baja concentración de Ig en el suero sanguíneo y un aumento en la incidencia de enfermedades y muerte (Nocek *et al.*, 1984; Hancock, 1985; Robinson *et al.*, 1988).

2.1 Calidad del calostro bovino

El calostro producido por animales de primer parto, generalmente tiene una concentración menor de Ig que el producido por vacas con mayor número de partos. Una razón es que las vacas de primer parto han sido expuestas a antígenos por menor tiempo, que vacas con más lactancias. El mecanismo de transporte de Ig hacia la glándula mamaria puede también estar menos desarrollado que en el de vacas adultas (Devery y Larson, 1983).

Diversos estudios han demostrado que la concentración de Ig en el calostro aumentó linealmente con el número de lactancias hasta llegar a la cuarta, momento

en el cuál se estabiliza (Oyeniyi y Hunter, 1978; Devery y Larson, 1983; Robinson *et al.*, 1988).

Otro factor de variación es el relacionado con la longitud del periodo seco. Si el periodo seco es muy corto (menor a tres semanas), no habrá tiempo suficiente para acumular Ig en la glándula mamaria (Nousiainen *et al.*, 1994).

El calostrómetro está calibrado en intervalos de 5 mg/ml y clasifica al calostro en pobre (rojo) para concentraciones menores a 22 mg/ml, moderado (Amarillo) para concentraciones entre 22 y 50 mg/ml; y excelente (verde) para concentraciones mayores a 50 mg/ml (Fleenor y Stott, 1980; Shearer *et al.*, 1992).

Un aspecto importante es que la lectura del calostrómetro depende altamente de la temperatura del calostro. (Mechor *et al.*, 1991) llevaron a cabo un estudio cuyo objetivo fue investigar el efecto de la temperatura en lecturas de calostrómetro para estimar la concentración de inmunoglobulina en el calostro bovino. Dicho estudio determinó que las lecturas difirieron en 0,8 mg/ml por cada grado centígrado en el cambio de la temperatura, por lo que la lectura debe hacerse cuando el calostro se encuentra a temperatura ambiente (20-25°C).

2.2 Estrategias de conservación del calostro

Un factor muy importante que afecta la calidad del calostro son los diversos patógenos que pueden ser transmitidos en el calostro, ya sea por descamación directa de la glándula mamaria, contaminación post-ordeño, o proliferación de bacterias en calostro almacenado inapropiadamente. Algunos de los patógenos que se pueden encontrar en calostro son: *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp. y *Salmonella* spp. (Godden *et al.*, 2006).

El primer punto de control para alimentar un calostro con una baja carga bacteriana es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación. Existe además una serie de estrategias para prevenir la proliferación de bacterias en el calostro almacenado como la refrigeración, el congelamiento y el uso de agentes conservadores como el sorbato de potasio en calostro fresco (Stewart *et al.*, 2005).

2.3 Pasteurización de calostro

La pasteurización de calostro bovino a temperaturas y tiempos usados convencionalmente para leche de consumo humano puede reducir o eliminar importantes patógenos bacterianos como *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp. y *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis* (Stabel, 2001).

La pasteurización del calostro en los establos presenta una medida de control para reducir o eliminar la transferencia de patógenos presentes en el mismo. En un estudio realizado por (Godden *et al.*, 2006), donde muestras de calostro contaminadas fueron pasteurizadas a 60°C por 120 min, se determinó que *Mycoplasma bovis*, *E. coli*, *L. monocytogens* y *Salmonella enteritidis* no fueron detectados después de 30 min de pasteurización. Los mismos autores no encontraron diferencias significativas al comparar concentraciones de IgG antes y después de la pasteurización.

2.4 Refrigeración y congelación de calostro

En las unidades de producción donde solamente se alimenta con calostro de buena calidad, necesitan tener una reserva para ofrecer a aquellas becerras nacidas de vacas que produzcan calostro de baja calidad. Éste puede ser refrigerado (4°C) por una semana sin que pierda su calidad. Por su parte, el calostro en exceso se puede

congelar y almacenar hasta por un año sin que pierda actividad o disminuya el contenido de Ig (Davis y Drackley, 1998).

Existe la posibilidad de conservar calostro de mejor calidad para suministrarlo a los terneros recién nacidos. El calostro puede ser refrigerado a 1–2°C por una semana, sin que la concentración de Ig disminuya. Otra opción es congelar hasta por un año, sin provocar una disminución significativa de las Ig. El congelador debe estar a una temperatura constante de -20°C, asegurándose que no existan periodos de descongelamiento. La forma óptima para descongelarlo es mediante la inmersión en agua tibia cuya temperatura no debe superar los 50°C, lo que permitirá una descongelación lenta, por medio de este método se puede conservar el calostro por un tiempo prolongado sin modificar la composición nutricional y de inmunoglobulinas. Se debe envasar el calostro en bolsas con una capacidad máxima de 2 litros, las cuales deben ir correctamente marcadas con la información de la vaca, número de parto, calidad del calostro y fecha de recolección. No es recomendable utilizar congeladores que formen hielo, ya que estos tienen ciclos en los cuales la temperatura fluctúa y el calostro puede descongelarse parcialmente, esto acortará la vida útil de almacenamiento del calostro o puede incluso comprometer la calidad final de éste (Fortín *et al.*, 2009).

2.5 Uso de conservadores

La mayor parte de los antimicrobianos alimentarios solamente son bacteriostáticos o fungistáticos, en lugar de bactericidas o fungicidas, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una

combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de alimentos en general (Blanchard, 2000).

En otras industrias del sector alimenticio se usa, tanto el ácido cítrico como sus sales, como saborizante y conservante. En el sector farmacéutico el ácido cítrico y sus sales se usan para la fabricación de pastillas o polvos efervescentes, también se aprovecha su efecto antioxidante, antimicrobiano y anticoagulante. Otros sectores que usan ácido cítrico son: industria cosmética, industria textil, industria agrícola e industria de detergentes; principalmente para la elaboración de detergentes biodegradables (Rivada, 2008).

Los ácidos carboxílicos son los ácidos orgánicos, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, ya sea en su forma original o en la de alguno de sus derivados (ésteres, amidas y anhídridos). El ácido cítrico (ácido 2-hidroxi-1, 2, 3-propanotricarboxílico), es uno ácido orgánico que puede ser considerado natural, sin embargo también puede ser sintetizado vía laboratorio, es un ácido orgánico que se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales, se presenta en forma de ácido de frutas en el limón, mandarina, lima, toronja, naranja, piña, ciruela, guisantes, melocotón, así como en los huesos, músculos y sangre de animales. Es considerado un ácido carboxílico versátil y ampliamente utilizado en el campo de la alimentación, de los productos farmacéuticos y cosméticos, entre otros (Muños *et al.*, 2014).

El bicarbonato de sodio se ha utilizado como un método para amortiguar el calostro acidificado y fermentado. (Foley y Otterby, 1978) observaron que los terneros neonatos que recibían calostro amortiguado tenían concentraciones séricas de IgG

más elevadas que los terneros alimentados con calostro fermentado. (Bullen et al., 1972) informaron que el calostro bovino que contenía bicarbonato de sodio suplementario había aumentado la actividad bacteriostática. Adición de bicarbonato de sodio al calostro fermentado (Jenny *et al.*, 1983) y al calostro acidificado (Eppard *et al.*, 1982) mejoró el consumo de alimento en comparación con el calostro acidificado o fermentado que no contenía bicarbonato de sodio.

3. MATERIALES Y METODOS

El estudio se desarrollará del 20 de febrero al 30 de marzo del 2018, en un establo del municipio de Francisco I. Madero en el Estado de Coahuila; éste se localiza a una altura de 1100 msnm. Entre los paralelos 26° 17' y 26° 38' de latitud norte y los meridianos 103° 18' 103° 10' de longitud oeste (INEGI, 2009).

Se utilizará el calostro de primer ordeño de vacas primíparas y multíparas de la raza Holstein Friesian dentro de las primeras 24 h después del parto. Se utilizarán cuatro tratamientos (T): T1= testigo, T2= 10 gramos, T3= 20 gramos, T4= 30 gramos de bicarbonato de sodio por litro de calostro respectivamente. Desde la hora cero que fue cuando se colocó el bicarbonato a cada litro de calostro se tomaron muestras de 100 ml de cada litro esto se realizó cada 5 horas hasta recolectar 5 muestras de cada tratamiento.

Evaluación del contenido microbiano en alimentos, por conteo de colonias en placa.

Este método se basa en la hipótesis de que las células microbianas que contienen una muestra mezclada con un medio de Agar forman, cada una, colonias visibles y separadas. Para ello se mezclan diluciones decimales de la muestra del alimento homogeneizado con el medio. Después de incubar las placas a 30° c durante 72 horas, se calcula el número de bacterias aeróbicas mesófilas por gramo de la muestra de alimento, basándonos en el número de colonias obtenidas en caja de Petri elegidas con diluciones que den resultados significativos.

Procedimiento

1. Homogenizar la muestra agitando vigorosamente el recipiente.
2. Transferir 10 ml o gramos a un frasco con 90 ml de diluyente y agitar.
3. Efectuar diluciones usando alícuotas de 1 ml en tubos con 9 ml de diluyente.
4. Al concluir cada dilución, inocular 1 ml de esta en una caja de Petri antes de preparar la siguiente dilución.

5. Agregar a cada caja de Petri de 12 a 15 ml de medio de cultivo (manteniendo de 43 a 45° C en baño de agua) correspondiente al grupo microbiano en estudio.
6. Inmediatamente incorporar el inóculo al medio mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás hacia adelante. Evitar el derrame del líquido y su contacto con la cubierta de la caja. El tiempo transcurrido desde la primera preparación de la primera dilución hasta la incorporación del medio de cultivo a todas las cajas, no excederá de 20 minutos.
7. Incubar a 30° C por 72 horas.

Recuento de colonias

La parte culminante del ensayo es el recuento de las colonias, del acierto con que se hayan seguido los lineamientos en cada uno de los estados precedentes dependerá el desarrollo, distribución y características de un número de colonias dentro de los límites que se reconocen generalmente confiables para esta técnica.

Se contaron las colonias de bacterias en cada una de las cajas de Petri a las cuales se les fue aplicado la muestra con su respectiva dilución, se descartó la dilución 1:100 y solo fueron utilizadas las diluciones 1:1000, 1:10000 y 1:100000.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio (Cuadro 1) en relación al conteo de bacterias presentes en el calostro, se observó una diferencia significativa entre tratamientos. El efecto bacteriostático encontrado en el calostro al aplicarle el bicarbonato de sodio fue variable de acuerdo a las cantidades aplicadas, habiendo

encontrado una disminución en la muestra a la cual le fue aplicado 20 gramos de bicarbonato.

Cuadro 1. Promedio del conteo de bacterias encontradas en cada una de las muestras con su respectiva hora y cantidad aplicada de bicarbonato de sodio.

	Hora del muestreo					media	Significancia
	15:30	20:30	01:30	06:30	11:30		
Testigo	214,83 3	403,00 0	445,66 7	438,33 3	400,00 0	380,00 0	(P>0.05)
10 gr	515,00 0	637,83 3	536,66 7	545,83 3	391,66 7	524,80 0	(P<0.02)
20 gr	299,33 3	317,33 3	327,33 3	369,00 0	461,33 3	354,60 0	(P>0.05)
30 gr	495,66 7	473,50 0	303,66 7	352,83 3	300,33 3	384,60 0	(P>0.05)

La leche es un producto biológico rico en carbohidratos, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y otros elementos, y posee un pH cercano a la neutralidad. Por estas cualidades, se constituye en un medio adecuado de cultivo para muchas bacterias contaminantes. A pesar de ser recogida asépticamente y procedente de un animal sano, siempre contiene células provenientes de la sangre y de la glándula mamaria, además de los diversos microorganismos que habitan normalmente en el canal del pezón (Elizondo Salazar *et al.*, 2008).

El bicarbonato de sodio amortigua la acidificación, producida por la actividad fermentativa de bacterias, es decir contrarresta el pH ácido y lo vuelve más alcalino (Cobos *et al.*, 2005)

En el estudio de Candanosa en el 2005, observo el patrón de fermentación que sugiere que la adición de bicarbonato de sodio puede permitir menor resistencia a los ácidos de las bacterias celuloíticas (Candonosa *et al.*, 2005).

5. CONCLUSIONES

En relación a los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir que la adición de bicarbonato de sodio al calostro puede tener un efecto bacteriostático, se observó diferencia estadística entre los tratamientos, el T2 fue donde se observó mayor crecimiento bacteriano. Se sugiere realizar más estudios donde se incluya la toma de muestras en un rango mayor a 24 horas.

6. LITERATURA CITADA

- Baumrucker, C. R., Burkett, A. M., Magliaro-Macrina, A. L. y Dechow, C. D. 2010. Colostrogenesis: mass transfer of immunoglobulin G1 into colostrum. *J. Dairy Sci.* 93:3031-3038.
- Blanchard, J. 2000. Los antimicrobianos naturales refuerzan la seguridad en los alimentos. [En línea] <http://www.directoalpaladar.com/2006/10/28-los-antimicrobianos-naturales-refuerzan-la-seguridad-en-los-alimentos> [fecha de consulta 06 marzo 2016].
- Bullen, J. J., Rogers, H. J. y Leigh, L. 1972. Iron-binding proteins in milk and resistance to *Escherichia coli* infections in infants. *BMJ* 1:69-75.
- Bush, L. J. y Staley, T. E. 1980. Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *J. Dairy Sci.* 63:672-680.
- Candonosa, E., Mendoza, G. y Salcedo, R. 2005. Efecto de bicarbonato de sodio y glucosa sobre la fermentación ruminal, equilibrio ácido base y química sanguínea en borregos. [En línea] <http://www.redalyc.org/pdf/959/95915107.pdf> [fecha de consulta 20 de mayo 2018].
- Cobos, M., Guerra, E., López, S., Báez, J., Gonzales, S. y Mendoza, G. 2005. Evaluación in vitro de dos amortiguadores y un ionoforo sobre variables fermentativas y microbiológicas. [En línea] <http://www.redalyc.org/pdf/302/30239101.pdf> [fecha de consulta 16 de mayo 2018].
- Davis, C. L. y Drackley, J. K. 1998. The development, nutrition, and management of the young calf. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Devery, J. E. y Larson, B. L. 1983. Age and previous lactations as factors in the amount of bovine colostral immunoglobulins. *J. Dairy Sci.* 66:221-226.
- Dominguez, E., Pérez, M. D. y Calvo, M. 1997. Effect of heat treatment on the antigen-binding activity of anti-peroxidase immunoglobulins in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 80:3182-3187.

- Elizondo-Salazar, J. A., Jayarao, M. B. y Heinrichs, J. A. 2008. Pasteurización de calostro: efecto sobre la carga bacteriana y la concentración de inmunoglobulinas G. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. 9(9):1-9.
- Eppard, P. J., Otterby, D. E., Lundquist, R. G. y Linn, J. G. 1982. Influence of sodium bicarbonate on growth and health of young calves. J. Dairy Sci. 65:1971-1978.
- Faber, S. N., Faber, N. E., McCauley, T. C. y Axe, R. L. 2005. Effects of colostrum ingestion on lactational performance. Prof. Anim. Sci. 21:420-425.
- Fleener, W. A. y Stott, G. H. 1980. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. J. Dairy Sci. 63:973-977.
- Foley, J. A. y Otterby, D. E. 1978. Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrum: A review. J. Dairy Sci. 61:1033-1060.
- Foley, J. A., Hunter, A. G. y Otterby, D. E. 1978. Absorption of colostrum proteins by newborn calves fed unfermented, fermented, or buffered colostrum. J. Dairy Sci. 61:1450-1456.
- Godden, S. 2008. Colostrum Management for Dairy Calves. Vet Clin Food Anim. 24:19-39.
- Godden, S., McMartin, S., Feirtag, J., Stabel, J., Bey, R., Goyal, S., Metzger, L., Fetrow, J., Wells, S. y Chester-Jones, H. 2006. Heat treatment of bovine colostrum. II. Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. J. Dairy Sci. 89:3476-3483.
- Godden, S. M., Haines, D. M. y Hagman, D. 2009a. Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. I: Dose effect of feeding a commercial colostrum replacer. J. Dairy Sci. 92:1750-1757.
- Godden, S. M., Smolenski, D. J., Donahue, M., Oakes, J. M., Bey, R., Wells, S., Sreevatsan, S., Stabel, J. y Fetrow, J. 2012. Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. J. Dairy Sci. 95:4029-4040.

- Godden, S. M., Haines, D. M., Konkol, K. y Peterson, J. 2009b. Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrum fed. *J. Dairy Sci.* 92:1758-1764.
- Griffiths, E. y Humphreys, J. 1977. Bacteriostatic effect on human milk and bovine colostrum on *Escherichia coli*: Importance of bicarbonate. *Infect. Immun.* 15:396-401.
- Hadorn, U. y Blum, J. W. 1997. Effects of feeding colostrum, glucose or water on the first day of life on plasma immunoglobulin G concentrations and γ glutamyltransferase activities in calves. *J. Vet. Med. A.* 44:531-537.
- Hancock, D. D. 1985. Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds. *J. Dairy Sci.* 68:163-183.
- Hopkins, B. A. y Quigley III, J. D. 1997. Effects of method of colostrum feeding and colostrum supplementation on concentrations of immunoglobulin G in the serum of neonatal calves. *J. Dairy Sci.* 80:979-983.
- Jenny, B. F., Hodge, S. E., O'Dell, G. D. y Eilers, J. E. 1983. Influence of colostrum preservation and sodium bicarbonate on performance of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 67:313-318.
- Kindt, T. J., Goldsby, R. A. y Osborne, B. A. 2007. *Kuby Immunology*. 6 ed. W. H. Freeman and Company. New York, U. S. A.
- Larson, B. L., Heary, H. L. y Devery, J. E. 1980. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 63:665-671.
- Le Jan, C. 1996. Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Vet. Res.* 27:403-417.
- Mechor, G. D., Grohn, Y. T. y Van Saun, R. J. 1991. Effect of temperature on colostrometer readings for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 74:3940-3943.

- Morin, D. E., McCoy, G. C. y Hurley, W. L. 1997. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *J. Dairy Sci.* 80:747-753.
- Morril, K. M., Conrad, E., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J. y Tyler, H. 2012. Nationwide evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States. *J. Dairy Sci.* 95:3977-4005.
- Muller, L. D. y Ellinger, D. K. 1981. Colostral immunoglobulin concentrations among dairy breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 64:1727-1730.
- Muños, V. A., Sáenz, G. A., López, L. L., Cantú, S. L. y Barajas, B. L. 2014. Ácido cítrico: compuesto interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila.* 6(12):1-6.
- Nocek, J. E., Braund, D. G. y Warner, R. G. 1984. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on calf gain, health, y serum protein. *J. Dairy Sci.* 67:319-333.
- Nousiainen, J., Korhonen, H., Syvaoja, E. L., Savolainen, S., Saloniemi, H. y Halonen, H. 1994. The effect of colostral, immunoglobulin supplement on the passive immunity, growth and health of neonatal calves. *Agric. Sci. Finly* 3:421-428.
- Oyeniya, O. O. y Hunter, A. G. 1978. Colostral constituents including immunoglobulins in the first three milkings postpartum. *J. Dairy Sci.* 61:44-48.
- Rivada, N. F. J. 2008. Planta industrial de producción de ácido cítrico a partir de melazas de remolacha. Universidad de Cádiz. Cádiz, España.
- Robinson, J. D., Stott, G. H. y Denise, S. K. 1988. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. *J. Dairy Sci.* 71:1283-1287.
- Sasaki, M., Davis, C. L. y Larson, B. L. 1977. Immunoglobulin IgG1 metabolism in new born calves. *J. Dairy Sci.* 60:623-626.

- Sasaki, M., Davis, C. L. y Larson, B. L. 1983. Immunoglobulin IgG1 metabolism in new born calves. *J. Dairy Sci.* 60:623-626.
- Shearer, J., Mohammed, H. O., Brenneman, J. S. y Tran, T. Q. 1992. Factors associated with concentrations of immunoglobulins in colostrum at the first milking post-calving. *Prevent. Vet. Med.* 14:143-154.
- Stabel, J. R. 2001. On-Farm batch pasteurization destroys *Mycobacterium paratuberculosis* in waste milk. *J. Dairy Sci.* 84:524-527.
- Stabel, J. R., Hurd, S., Calvente, L. y Rosenbusch, R. F. 2004. Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. In Raw Milk by a Commercial On-Farm High Temperature, Short-Time Pasteurizer. *J. Dairy Sci.* 87:2177-2183.
- Stewart, S., Godden, S. M., Bey, R., Rapnicki, P., Fetrow, J., Farnsworth, R., Scanlon, M., Arnold, Y., Clow, L., Mueller, K. y Ferrouillet, C. 2005. Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 88:2571-2578.
- Stott, G. H. y Menefee, B. E. 1978. Selective absorption of immunoglobulin IgM in the newborn calf. *J. Dairy Sci.* 61:461-466.
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E. y Barrington, G. M. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 14:569-577.