

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS



Efecto bacteriostático de extracto de cítricos en calostro bovino refrigerado

Por:

GABRIELA MONTALVO ROQUE

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Febrero 2019

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

Efecto bacteriostático de extracto de cítricos en calostro bovino refrigerado

Por:

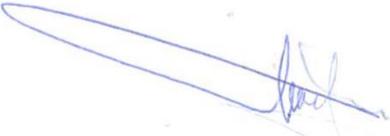
GABRIELA MONTALVO ROQUE

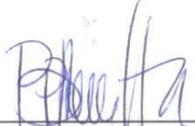
TESIS

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


MVZ. ALEJANDRO ERNESTO CABRAL MARTELL DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS
Presidente Vocal


MC. BLANCA PATRICIA PEÑA REVUELTA
Vocal


MC. RAFAEL AVILA CISNEROS
Vocal Suplente


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


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Febrero, 2019

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

Efecto bacteriostático de extracto de cítricos en calostro bovino refrigerado

Por:

GABRIELA MONTALVO ROQUE

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

A

DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS
Asesor Principal

Rafael Avila Cisneros
MC. RAFAEL AVILA CISNEROS
Coasesor

Blanca Patricia Peña Revuelta
MC. BLANCA PATRICIA PEÑA REVUELTA
Coasesor

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



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

Torreón, Coahuila, México
Febrero 2019

AGRADECIMIENTOS

A DIOS por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por darme fortaleza en los momentos de debilidad.

A MI MADRE Felisa Roque Martínez, le doy gracias a Dios por tenerte como mi mamá, gracias por ser madre y padre a la vez, gracias por el inmenso amor que me tienes, gracias por tus miles de oraciones que me guiaron para culminar este logro, gracias por estar en las buenas y las malas, todo lo que tengo no hubiera sido posible si tu no estuvieras a mi lado. Todo lo que he alcanzado te lo agradezco a ti, por apoyarme, ayudarme, por animarme y empujarme para lograr esta meta. Sin ti nada hubiera sido posible. TE AMO MAMI.

A MIS ABUELOS. Esteban Roque Cortes, María Martínez Montalvo, Gracias por el amor, la ternura y el cariño que me dieron, por todos sus consejos que me brindaron no solo de mi carrera si no de la vida, gracias por todos esos hermosos momentos que me regalaron, esos que se quedan grabados en el corazón, esos detalles que hicieron más fácil de sobrellevar la vida lejos de mi hogar, donde quiera que se encuentren los llevare siempre en mi corazón.

A MIS HERMANOS. Casi, Oscar, Alfredo, gracias por todo su apoyo que me brindaron durante toda esta etapa, que a pesar de la distancia siempre me alentaron a seguir adelante.

MIRIAM, gracias cuñadita sabes que te quiero mucho, gracias por ser parte de mi vida, por tu cariño y apoyo que me brindaste desde que llegaste a nuestra familia, por encontrar una hermana en ti buena y bondadosa, por tus miles de consejos, por animarme cuando sentía que ya no podía.

A MIS SOBRINOS Ariadna Jacqueline, José Ricardo, Jaaciel, Diego Yahir, por su inmenso cariño que me dan, los amo mis niños.

A MI ASESOR. Dr. Ramiro González Avalos por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis, por todo su apoyo, su tiempo y paciencia para llevarlo a cabo, gracias por sus consejos.

A MI ALMA TERRA MATER Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Por abrirme las puertas y darme la oportunidad de ser parte de ella, por los conocimientos dados a través de sus docentes.

DEDICATORIAS

A MADRE este logro realizado es para ti, no fue fácil el camino, pero salimos adelante, con caídas y empujones el sacrificio está dando frutos, hoy termina una etapa de este gran sueño, gracias por nunca dejarme sola.

A MIS HERMANOS Casi, Oscar, Alfredo, gracias por esos regaños y consejos que me dieron a lo largo de mi carrera, es muy satisfactorio saber que cuentas con el gran apoyo de tu familia, ustedes son parte de esto, los quiero mucho.

A MIS ABUELO (A). Esteban Roque Cortes, María Martínez Montalvo, para mis queridos viejitos, que siempre estuvieron conmigo alentándome a seguir adelante, a terminar mi sueño, a recibirme siempre con los brazos abiertos cuando teníamos la oportunidad de estar juntos, por las risas y abrazos que me reconfortaban a no rendirme, fueron una base fundamental en esta etapa de mi vida, ojala hubiésemos podido disfrutar de este gran logro, pero aquí estoy cumpliéndolo y donde quiera que estén se los dedico con todo el amor y cariño los amare por siempre.

A MIRIAM fuiste un gran apoyo en el transcurso de toda la carrera, no tengo las palabras para agradecerte todo lo que as echo por mí, solo me queda decirte
GRACIAS

RESUMEN

Por muchos años, se ha reconocido que uno de los factores críticos para asegurar una adecuada transferencia de inmunidad pasiva en terneras es el consumo de una calidad y cantidad adecuada de calostro durante las primeras horas de vida. Pero recientemente se ha indicado que la contaminación bacteriana es también un factor. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto bacteriostático del extracto cítrico en calostro de bovino refrigerado. Se utilizó el calostro de primer ordeño de vacas primíparas y múltiparas de la raza Holstein Friesian dentro de las 24 h después del parto. Para observar el efecto del extracto de cítricos sobre el crecimiento de bacterias presentes en el calostro se utilizaron cuatro tratamientos (T): T1=testigo, T2= 2.5 mL, T3= 5 mL, T4= 10 mL de extracto de cítricos, por cada litro de calostro. El análisis microbiológico de las muestras consistió en el recuento de bacterias mesófilas aerobias en placa de acuerdo a la NOM-092-SSA1-1994. El análisis estadístico para el recuento se realizó completamente al azar, utilizando del paquete estadístico de Olivarez-Saenz (2012). Se utilizó de valor $P < 0.05$ para considerar diferencia estadística. Los resultados del estudio encontraron una carga bacteriana en las muestras de calostro de 105,200 hasta 176,900 UFC/mL en calostro con o sin extracto de cítricos, por lo tanto no existió diferencia estadística. El extracto de cítrico no mostro efecto bacteriostático en calostro bovino.

Palabras claves: Coliformes, Contaminación, Bacterias, Extracto de cítricos, Inmunoglobulinas

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	iii
RESUMEN	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
1. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivo	3
1.2. Hipótesis	3
2. REVISION DE LITERATURA	4
2.1. Composición del calostro	4
2.2. Manejo del calostro	7
2.3. Inmunoglobulinas y sistema inmune de la ternera	8
2.4. Agentes patógenos en el calostro bovino	10
2.5. Extracto de cítricos	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5. CONCLUSIONES	17
6. LITERATURA CITADA	18

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1. Característica y composición del calostro y leche del ganado Holstein. 6
- Cuadro 2. Características de las diferentes calidades de calostro, evaluados mediante calostrómetro. 8
- Cuadro 3. Promedio del conteo de bacterias en calostro suplementado con extracto de cítricos. 15

1. INTRODUCCION

La placenta de la vaca constituye una barrera inmunológica que no permite el paso de las macromoléculas de inmunoglobulinas (Ig) hacia la sangre del feto. Al nacer, el becerro se halla desprotegido ante los microorganismos patógenos del medio extrauterino (Kruse 1970 a, b; Stott *et al.*, 1981). Sin embargo, durante las dos o tres semanas anteriores al parto, la vaca acumula en el calostro o primera secreción mamaria una cantidad suficiente de Ig, lo que constituye un factor inmunológico insustituible para la supervivencia del becerro desde los primeros instantes de su vida (Quigley 2001a).

El calostro es el principal y primer suministro que aporta los nutrientes esenciales después del nacimiento del becerro por otra parte es una fuente importante de Ig o anticuerpos, cuya absorción es primordial para protegerlos contra infecciones entéricas, ya que estas son la principal razón de muerte durante las primeras semanas de vida (Wells *et al.*, 1996). Durante mucho tiempo se ha establecido que para resguardar una adecuada transferencia de inmunidad pasiva en becerras, es fundamental el suministro de calostro en una cantidad necesaria y que conste de una buena calidad durante las primeras horas de vida (Stott *et al.*, 1979a, b; Stott y Fellah, 1983).

El calostro está representado por IgG1 la cual constituye el 80%, las IgG2 el 7%, IgA alcanza el 8% y la IgM solamente representa el 5% del total (Larson *et al.* 1980; Sasaki *et al.* 1983; Besser *et al.*, 1985; Butler, 1995).

Un factor importante que afecta la susceptibilidad del ternero al nacimiento, son los patógenos presentes en el calostro como; *Mycobacterium avium* ssp.

Paratuberculosis, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* spp. Y *Salmonella* spp. Estos agentes causales regularmente se presentan por la descamación directa de la glándula mamaria, contaminación post-ordeño, o proliferación de bacterias en calostro por un resguardo inadecuado. (Godden *et al.*, 2006).

El primer punto de control para alimentar un calostro con una baja carga bacteriana es precaver la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación. Existe además una serie de estrategias para prevenir la proliferación bacteriana en el calostro almacenado como la refrigeración, el congelamiento y el uso de agentes conservantes como el sorbato de potasio en calostro fresco (Stewart *et al.*, 2005). Un procedimiento adicional para reducir o eliminar los patógenos bacterianos y cuyo uso se ha intensificado es la pasteurización de calostro fresco (McMartin *et al.*, 2006).

La adopción de sistemas de pasteurización a nivel de finca ha reportado resultados significativos en la salud de los becerros y en los ingresos económicos del productor (Jamaluddin *et al.*, 1996; Godden *et al.*, 2006). Sin embargo, una de las principales preguntas que surgen con la pasteurización de calostro es con respecto a si la pasteurización causa degradación de las inmunoglobulinas presentes en el calostro. Si la pasteurización resulta en un grado inaceptable de pérdida de anticuerpos en el calostro, entonces la pasteurización puede crear un alto riesgo de falla en la transferencia de inmunidad en las terneras, haciendo este procedimiento impráctico de adoptar comercialmente (Godden *et al.*, 2003).

1.1. Objetivo

Evaluar el efecto del ácido cítrico como bacteriostático en calostro bovino refrigerado.

1.2. Hipótesis

La adición de ácido cítrico al calostro bovino refrigerado disminuye la reproducción de bacterias.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Composición del calostro

Un calostro de buena calidad se produce por vacas con un estado nutricional adecuado (Dawson *et al.*, 1999; Tizard 1987; Wren 1996), es el primer producto de la glándula mamaria de los bovinos después del parto, contiene factores de crecimiento, linfocitos y nutrientes de primera calidad (Xu *et al.*, 2014), siendo la energía y los aminoácidos algunos de los nutrientes más importantes en el desarrollo de los componentes del sistema inmune (Dawson *et al.*, 1999; Tizard 1987; Wren 1996).

Además contiene factores de crecimiento que actúan como promotores de desarrollo de las vellosidades intestinales del neonato. Según Xu *et al.* (2014), es la principal fuente inmunitaria contra patógenos, teniendo en cuenta que su consumo no solo suministra inmunoglobulinas. Una suplementación o nutrición inadecuada durante el período seco, generaría una disminución de Ig en el calostro, lo que influye sobre la absorción de las mismas en el ternero (Orskov, 1990).

Durante los últimos días de gestación, altas cantidades de Ig son transmitidas de la glándula mamaria al calostro (Larson *et al.*, 1980). No obstante, existen factores que influyen en la concentración de Ig en el calostro de las vacas, como la raza, el número de parto, la vacunación y el largo periodo seco (Weaver *et al.*, 2000; Baumrucker *et al.*, 2010; Morrill *et al.*, 2012).

Naturalmente, la vaca y el ternero están preparados para complementarse entre sí, tanto en la producción y absorción de Ig, respectivamente. Puede asegurarse que es primordial la producción de Ig por la vaca en el calostro, también es muy importante la capacidad del ternero neonato para absorber y digerir todos

los nutrientes desde el momento del nacimiento (Stott *et al.*, 1979; Le Jan 1996; Smith 2004).

Durante las primeras 24 h del parto, la vaca produce calostro (Foley y Otterby 1978; Quigley 2001a)., es la primera secreción generada por la glándula mamaria, posee elevadas concentraciones de Ig o anticuerpos, los cuáles le confieren a la ternera protección inmunológica durante las primeras semanas de vida (Nousiainen *et al.*, 1994), pasadas estas horas, se considera leche de transición, debido a que pierde sus cualidades naturales para convertirse en leche (Foley y Otterby 1978; Quigley 2001a).

El calostro constituye el factor inmune por excelencia. Puede asegurarse que es el elemento principal para la supervivencia del ternero neonato, para su desarrollo y para la obtención de nutrientes desde las primeras horas de vida (Otterby y Linn 1981; Rajala y Castrén 1995). Rosero (2004) ha señalado que lo más relevante del calostro es el recubrimiento con lactoferrina en la pared interna del intestino. La calidad es muy importante, si este es bajo, la supervivencia no sobrepasa 29 %, pero si es alto puede alcanzar hasta 94 % más de viabilidad. El calostro es la primera fuente nutricional de los terneros, contiene el doble de los sólidos totales presentes en la leche (Hadorn 1997).

Aparte de Ig, el calostro provee al ternero recién nacido carbohidratos, grasas y proteínas que actúan como combustible metabólico; también aporta vitaminas y minerales que se encargan como cofactores en procesos enzimáticos y en el mantenimiento de las funciones generales del organismo (Morris *et al.*, 2012). El calostro también es una fuente importante de leucocitos y factores bioactivos, como

la insulina, y el factor similar a la insulina I y II que afectan el desarrollo gastrointestinal posnatal (Blum y Baumrucker, 2008; Nonnecke *et al.*, 2012).

Cabe resaltar como la concentración de proteínas y péptidos disminuye rápidamente después del comienzo de la lactancia (Hadorn 1997). De la misma manera, la concentración de Ig baja significativamente en los ordeños posteriores (Cuadro 1) (Oyeniyi y Hunter 1978; Stott *et al.* 1981; Davis y Drackley 1998).

Cuadro 1. Característica y composición del calostro y leche del ganado Holstein (Elizondo, 2007).

Variable	Calostro (ordeño post – parto)			
	1	2	3	Leche
Gravedad específica	1.056	1.045	1.035	1.032
Sólidos totales	23.9	17.9	14.1	12.5
Grasa	6.7	5.4	3.9	3.6
Sólidos no grasos	16.7	12.2	9.8	8.6
Proteína total	14.0	8.4	5.1	3.2
Caseína	4.8	4.3	3.8	2.5
Albumina	0.9	1.1	0.9	0.5
Inmunoglobulinas	6.0	4.2	2.4	0.09
IgG, g/dl	3.2	2.5	1.5	0.06
Nitrógeno no proteico	8.0	7.0	8.3	4.9
Lactosa	2.7	3.9	4.4	4.9
Calcio	0.26	0.15	0.15	0.13
Potasio	0.14	0.13	0.14	0.15
Sodio	0.14	0.13	0.14	0.15
Vit A. µg/dl	295	190	113	34
Vit E. µg/g de grasa	84	76	56	15
Rivoflavina µg/ml	4.83	2.71	1.85	1.47
Colina mg/ml	0.70	0.34	0.23	0.13

2.2. Manejo del calostro

El cuidado insuficiente que se le brinda al manejo y nutrición de las terneras, se manifiesta en una serie de problemas que pasan inadvertidos hasta que empiezan a producir leche incluso, la mayoría de productores no crea una relación entre lo que pasó en la época de crianza con el desempeño productivo y reproductivo del animal adulto. Generalmente, la baja producción de una vaca se atribuye a causas genéticas o de alimentación y raras ocasiones a problemas ocurridos durante la etapa de crianza y desarrollo (Martínez, 2003). Los primeros días de vida de la ternera son los de mayor riesgo para su sobrevivencia, por lo que se debe tener especial cuidado.

El manejo de la ternera neonata debe comenzar con el cuidado de la vaca seca. Períodos secos cortos (menos de 45 días) y el no secado, provoca que las vacas no produzcan suficientes inmunoglobulinas en el calostro para proteger a su cría contra enfermedades (INIFAP, 2014). Según Stewart *et al.* (2005), el primer punto de control para mantener un calostro con una baja carga bacteriana es prevenir la contaminación durante el ordeño, almacenamiento y proceso de alimentación. Se ha demostrado que las bacterias presentes en el calostro almacenado o en la leche pueden comenzar a multiplicarse rápidamente si se almacena a temperatura ambiente, aun en refrigeración habrá crecimiento, aunque este será más lentamente. Si el calostro no es administrado dentro de 1-2 horas de la recolección, debe ser rápidamente refrigerado (hasta 48 horas) o congelado.

El tiempo que se lleva en suministrar el calostro al neonato es de vital importancia para una absorción eficaz. Durante las primeras horas de vida, la porosidad intestinal para los receptores FcR permite que las macromoléculas tales

como las inmunoglobulinas, puedan llegar a torrente sanguíneo en cuanto llegan al duodeno (Baumrucker, 2010). Se sugiere proporcionar al ternero el 10% de su peso corporal en las primeras 2 a 4 horas del nacimiento, para que posteriormente suministrarle otra toma del 4-5% de su peso antes de las 12 horas de vida (Vázquez-Flores *et al.*, 2018). La eficacia en la absorción está definido por la calidad inmunológica, microbiológica, así como el suministro eficiente del calostro, de preferencia en mamila (cuadro 2) (Quigley *et al.*, 2002).

Cuadro 2. Características de las diferentes calidades de calostro, evaluados mediante calostrómetro (Tomado Elizondo-Salazar, 2007)

Calidad	Sección del calostrómetro	Cantidad de inmunoglobulinas (mg/ml)
pobre	Roja	Mayor a 22
Regular	Amarilla	22 a 50
Bueno	Verde	Mayor a 50

Aquellos terneros que no reciben calostro tienen 74 veces más probabilidades de morir que un becerro que consume más cantidad. La mortalidad según Wells *et al.*, (1996), se puede disminuir en 31% en las primeras tres semanas de vida de la becerro, con ofrecer 2.5 L calostro en menos de 4 horas posparto.

2.3. Inmunoglobulinas y sistema inmune de la ternera

El calostro contiene grandes cantidades de inmunoglobulinas que son transportadas desde el torrente sanguíneo de la madre (Larson *et al.* 1980; Sasaki *et al.* 1983). En éste se encuentran principalmente tres tipos de Ig: G, M y A, el conjunto de Ig en el calostro bovino son de la clase G, particularmente G1 (Muller y Ellinger 1981). El calostro está representado por IgG1 la cual constituye el 80%, las IgG2 el 7%, IgA alcanza el 8% y la IgM solamente representa el 5% del total (Larson

et al. 1980; Sasaki *et al.* 1983; Besser *et al.*, 1985; Butler, 1995). La distribución de las diferentes clases de Ig en el calostro es variable entre vacas (Stott *et al.* 1981; Petrie 1984).

La inmunidad pasiva a través del calostro materno es fundamental para la salud y supervivencia del ternero en las primeras semanas de vida y, a largo plazo para una eficiente producción láctea. La cría bovina presenta una condición de agamaglobulinemia al nacimiento, por el tipo de placentación sindesmocorial que presenta (Wooding *et al.*, 1994).

Con referencia a Stott *et al.* (1981) existen diferencias en absorción, pueden ser causadas por uno o más de los siguientes factores: 1) cuando a las terneras se les ofrece calostro en biberones, habitualmente no toman calostro tan pronto después del nacimiento como cuando se dejan con la madre para que ingieran; 2) en muchas ocasiones, el consumo de calostro es mayor cuando se deja con la madre que cuando se le suministra; y 3) el hecho de que las terneras permanezcan con sus madres por algunas horas, tiene un efecto fisiológico y psicológico positivo.

Sin embargo en estudios realizados se han demostrado que terneras con falla en la transferencia de Ig obtuvieron bajas ganancias de peso en los primeros meses de vida, además de sufrir severos incidentes de diarreas al mismo tiempo presentaban riesgo para el desarrollo de neumonías dando como resultado mayor mortalidad (Nocek *et al.* 1984; Robison *et al.* 1988; Wells *et al.* 1996; Virtala *et al.* 1999).

Se han realizado métodos para determinar con exactitud el estado de la TIP en terneros. Estas técnicas incluyen la medición directa de Ig séricas a través del a inmunodifusión radial u otras pruebas de ELISA (Filteau *et al.* 2003). Así pues

existen otros métodos indirectos para estimar la concentración de Igs como la medición de las proteínas totales en suero por refractometría, ya que durante la primera semana de vida, los mayores componentes de las proteínas séricas totales son las inmunoglobulinas procedentes del calostro (Wallace *et al.* 2006, Trotz-Williams *et al.* 2008).

2.4. Agentes patógenos en el calostro bovino

La contaminación microbiana en el calostro también es un problema porque se ha demostrado que puede interferir con la absorción pasiva de los anticuerpos a través del intestino y en la circulación, reduciendo la transferencia pasiva de inmunidad en el ternero (James *et al.*, 1981: Poulson *et al.*, 2002: Stewart *et al.* 2005).

Distintos patógenos pueden ser transmitidos en el calostro, ya sea por descamación directa de la glándula mamaria, contaminación post-ordeño, o proliferación bacteriana en calostro almacenado inadecuadamente. 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). Estos agentes patógenos pueden desarrollar enfermedades como la enteritis y septicemia (Stewart *et al.* 2005).

2.5. Extracto de cítricos

El uso de antimicrobianos (conservadores) es un hábito frecuente en la industria de los alimentos, por varios años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis o como en el caso de los sulfitos),

dando como resultado el rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por tal motivo ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. En esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los habitualmente utilizados (Nychas, 1995).

Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias. Dentro de proceso que se lleva acabo lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin alterar la calidad sensorial y seguridad (Beuchat y Golden, 1989).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura alteran la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Nychas, 1995).

El ácido cítrico es un producto con una progresiva demanda mundial, por esta razón se ha estudiado su elaboración a partir de diferentes sustratos como la melaza de caña, melaza de remolacha, desechos de cebada, almidón, desechos de piñas, sacarosa, glucosa, tuzas de maíz y suero de leche, entre otros. Se ha reportado que la sacarosa es la fuente de carbono más favorable seguida por glucosa, fructosa y lactosa (López y col. 2006).

Además Smid y Gorris, (1999), señalan que el modo de acción de éstos compuestos fenólicos no ha sido determinado, éstos pueden inactivar enzimas esenciales, reaccionar con la membrana celular o alterar la función del material genético y se ha observado que las grasas, proteínas, concentraciones de sal, pH y temperatura afecta la actividad antimicrobiana de estos compuestos. Los

elementos activos de los aceites esenciales pueden variar en su composición, ya que ésta puede verse afectada por ciertas variables como el genotipo de la planta, las diferentes metodologías de extracción, localización geográfica, así como las condiciones ambientales y agronómicas.

El mecanismo de ataque de los antimicrobianos dentro de una célula se lleva a cabo en partes y/o funciones importantes para la sobrevivencia de la célula. Puede llevarse a cabo en la pared celular, membrana celular, en la síntesis de proteína, en su genética y en la síntesis de su genética. Esto puede causar daños irreparables a una célula. Cabe resaltar que varios de los antimicrobianos aún no se conocen el modo de acción, pero al actuar de forma diferente, las combinaciones de estos pueden llevar a mejores resultados (Davidson y Branen, 1993).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrollará del 15 de junio al 15 de julio del 2018, en un establo comercial 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. Inmediatamente después de la colecta, se determinará la densidad de este producto, utilizando un calostrómetro (Biogenics Inc., Mapleton, Or., USA ®), a una temperatura de 22 °C al momento de la medición. El calostro con densidad ≥ 50 mg•mL⁻¹ de Ig se combinará hasta acumular la cantidad de 15 L (un lote).

Para observar el efecto del extracto de cítricos sobre el crecimiento de bacterias en el calostro se utilizará cuatro tratamientos: T1= testigo, T2= 2.5 mL, T3= 5 mL, T4=10 mL de extracto de cítricos por L de calostro respectivamente.

El análisis microbiológico de las muestras consistió en el recuento de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) de acuerdo a la NOM-113-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994), analizadas por duplicado, que se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología del departamento de salubridad e higiene de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro unidad laguna. La búsqueda y aislamiento de los microorganismos patógenos de interés sanitario se llevó a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002 (Secretaría de Salud, 2002) que considera Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado.

El análisis estadístico para los coliformes se realizará mediante una prueba de rango de Wilcoxon, ambos análisis se realizarán utilizando el paquete estadístico de Olivares-Sáenz (2012). Se utilizará el valor de $P < 0.05$ para considerar diferencia estadística.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados obtenidos de las muestras en el presente estudio (Cuadro 2) en relación al conteo de bacterias presentes en el calostro, de acuerdo al análisis estadístico no existe diferencia significativa entre los tratamientos. Rebasando los límites recomendados por los especialistas en la alimentación del calostro, que contenga menos de 100,000 de UFC/ml de bacterias totales en placa (McGuirk y Collins, 2004).

Cuadro 3. Promedio del conteo de bacterias en calostro suplementado con extracto de cítricos.

Tratamientos	Hora de toma de muestra posterior al ordeño					Media
	0	5	10	15	20	
Testigo	42500 ^a	199,900 ^a	205,000 ^a	215,500 ^a	222,500 ^a	176,900 ^a
2.5 mL	195500 ^a	121,500 ^a	131,000 ^a	162,500 ^a	183,500 ^a	158,800 ^a
5 mL	147500 ^a	131,000 ^a	125,300 ^a	115,500 ^a	105,500 ^a	124,960 ^a
10 mL	147500 ^a	135,500 ^a	101,500 ^a	95,500 ^a	46,000 ^a	105,200 ^a

Por desgracia, el conteo de bacterias en el calostro promedio suministrado en establos comerciales con frecuencia es muy superior a este punto (Johnson *et al.*, 2007; Swan *et al.*, 2007). En un estudio de hatos lecheros de Wisconsin, el 82 % de muestras analizadas superó el límite máximo de 100,000 UFC•mL⁻¹ TPC (Johnson *et al.*, 2007).

Debido a las características del calostro y composición química, rico en carbohidratos, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y otros elementos, además poseer un pH cercano a la neutralidad, por estas cualidades crea un medio idóneo para el crecimiento de bacterias contaminantes. A pesar de ser recogida

asépticamente y procedentes de una animal sano, siempre contienen 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). Una fuente de contaminación es el equipo sucio, el calostro está limpio cuando se recolecta directamente de la vaca, pero se contamina durante su manipulación y almacenamiento, el calostro es transferido de un recipiente a otro en un promedio de 2,5 veces, antes de ser suministrado aumentando la contaminación bacteriana (Quigley, 2011).

5. CONCLUSIONES

En relación a los resultados obtenidos en la presente investigación permite concluir que la aplicación de extracto de cítricos al calostro bovino no es estadísticamente diferente en relación a la carga bacteriana. Se observó una disminución en la población de bacterias en donde se utilizó el extracto de cítricos a diferencia del testigo. Por lo cual se sugiere llevar a cabo más investigaciones sobre el tema, utilizando diferentes dosis y en combinación con la refrigeración, congelación o pasteurización del calostro para determinar la mejor combinación.

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.
- Besser, T., Garmedia, A., McGuire, T. y Gay, C. 1985. Effect of Colostral Immunoglobulin G1 and Immunoglobulin M Concentrations on Immunoglobulin Absorption in Calves. *J. Dairy Sci.* 68(8):2033-2037.
- Beuchat, L. R. y Golden, D. A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol.* 43(1):134-142.
- Butler, J. E. 1995. Antigen receptors, their immunomodulation and the immunoglobulin genes of cattle and swine. *Livestock Production Science.* 42(2-3):105-121.
- Blum, J. W. y Baumrucker, C. R. 2008. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF binding proteins, and other endocrine factors in milk: Role in the newborn. En: Z. Bösze, editor, *Bioactive components of milk*. Springer, NY, USA. p. 397-422.
- Davidson, P. M. y Branen, A. L. 1993. *Antimicrobials in foods*. Marcel Dekker, Inc New York. Eds.
- Dawson, L. E. R., Carson, A. F., Kilpatrick, D. J. 1999. The effect of the digestible undegradable protein concentration of concentrated and protein source offered to ewes in late pregnancy on colostrum production and lamb performance. *Anim Feed Sci Tech.* 82:21-36.
- Davis, C. L. y Drackley, J. K. 1998. *The development, nutrition, and management of the young calf*. Iowa State University Press. Ames, Iowa. EE.UU. Pp. 308
- Foley, J. A. y Otterby, D. E. 1978. Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrums. A review. *J. Dairy Sci.* 61:1033.
- Godden, S. M., Smith, S., Feirtag, J. M., Green, L. R., Wells, S.J. y Fetrow, J. P. 2003. Effect of On-Farm Commercial Batch Pasteurization of Colostrum on Colostrum and Serum Immunoglobulin Concentrations in Dairy Calves. *J. Dairy Sci.* 86:1503-1512

- Godden, S. M., McMartin, S., Feirtag, J. M., 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.
- 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.
- INIFAP. 2014. Crianza de becerras para sistemas familiares/semitecnificados de producción de leche. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. INIFAP. Ajuchitlán, Colón, Querétaro. P. 20.
- James, R. E., Polan, C. E. y Cummins, K. A. 1981. Influence of administered indigenous microorganisms on uptake of [iodine-125] gamma-globulin in vivo by intestinal segments of neonatal calves. *J Dairy Sci.* 64(1):52-61.
- Jamaluddin, A. A., Hird, D. W., Thurmond, M. C. y Carpenter, T. E. 1996. Effect of preweaning feeding of pasteurized and nonpasteurized milk on postweaning weight gain of heifer calves on a Californian dairy. *Prevent. Vet. Med.* 28:91-99.
- Kruse, V. 1970a. Absorption of immunoglobulins from colostrum in newborn calves. *Anim. Prod.* 12:627.
- Kruse, V. 1970b. Yield of colostrum and immunoglobulin in cattle at the first milking after parturition. *Anim. Prod.* 12:619.
- 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 component of mammary secretions and neonatal immunity. A review *Vet. Res.* 27:403.
- Martínez, A. 2003. Manual de crianza de becerras. 2da edición. Grupo Editores Agropecuarios. Estado de México, México. 144 p.
- McMartin, S., Godden, S., Metzger, L., Feirtag, J., Bey, R., Stabel, J., Goyal, S., Fetrow, J., Wells, S. y Chester-Jones, H. 2006. Heat treatment of bovine

- colostrum. I: Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. *J. Dairy Sci.* 89:2110-2118.
- Morrill, 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.
- Nychas, G. J. E. 1995. Natural Antimicrobials from plants. En: *New Methods of food preservation*. G.W. Gould (Ed.). Blakie Academia y Professional. Glasgow. Pp.1-21.
- Nocek, J. E., Braund, D. G. y Warner, R. G. 1984. Influence of neonatal colostrums administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrums on calf gain health, serum protein. *J. Dairy Sci.* 67:319-333.
- Nonnecke, B. J., Waters, W. R., Goff, J. P. y Foote, M. R. 2012. Adaptive immunity in the colostrum-deprived calf: Response to early vaccination with *Mycobacterium bovis* strain bacile Calmette Guerin and ovalbumin. *J. Dairy Sci.* 95:221-239.
- Nousiainen, J., Korhonen, H., Syvaaja, E. L., Savolainen, S., Saloniemi, H. y Halonen, H. 1994. The effect of colostrum, immunoglobulin supplement on the passive immunity, growth and health of neonatal calves. *Agric. Sci.* 3:421-428.
- Orskov, E. R. 1990. *Nutrición de los rumiantes: principios y práctica*. Acribia. Ilustrada. Pp. 119.
- Oyeniya, O. O. y Hunter, A. G. 1978. Colostrum constituents including immunoglobulins in the first three milkings postpartum. *J. Dairy Sci.* 61:44-48.
- Otterby, D. E. y Linn, J. E. 1981. Advances in nutrition and management of calves and heifers. *J. Dairy Sci.* 64:1365.
- Petrie, L. 1984. Maximizing the absorption of calostrum immunoglobulins in the newborn dairy calf. *Vet. Rec.* 114:157-163.

- Poulsen, K. P., Hartmann, F. A. y McGuirk, S. M. 2002. Bacteria in colostrum: impact on calf health. Abstr. 52 in Proc. 20th American College of Internal Veterinary Medicine. Dallas, TX. Pp. 773.
- Quigley, J. 2001 a. Alimentación con calostro. Fundamentos acerca de las inmunoglobulinas del calostro. Calfnote '03 Disponible: Calfnotes.com <http://www.calfnotes.com>. Consultado: enero de 2019.
- Quigley, J., Kost, C. J. y Wolfe, T. M. 2002. Absorption of Protein and IgG in Calves Fed a Colostrum Supplement or Replace R1. J. Dairy Sci. 85(5):1243-1248.
- Rajala, P. y Castrén, H. 1995. Serum immunoglobulins concentrations and health of dairy calves in two management systems from birth to 12 weeks of age. J. Dairy Sci. 78:2737.
- Robison, 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(5):1283-1287.
- Rosero, N. R. 2004. Alimentación de terneros. Disponible: <http://kogi.udea.edu.com> Consultado: enero de 2019.
- Sasaki, M., Davis, C. L. y Larson, B. L. 1983. Immunoglobulin IgG1 metabolism in new born calves. J. Dairy Sci. 60:623-626.
- Smid, E. J. y Gorris, G. 1999. Natural Antimicrobials for Food Preservation. Handbook of Food Preservation. Marcel Dekker. New York.
- Stott, G. H., Fleenor, W. A. y Kleese, W. C. 1981. Colostral immunoglobulin concentration in two fractions of first milking postpartum and five additional milkings. J. Dairy Sci. 64:459-465.
- Stott, G. H. y Fellah, A. 1983. Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. J. Dairy Sci. 66:1319-1328.
- Stott, G. H., Wiersma F., Menefee B. E. y Radwanski, F. R. 1979. Influence of environmental on passive immunity in calves. J. Dairy Sci. 59:1306.
- Stott, G. H., Marx, D. B., Menefee, B. E. y Nightengale, G. T. 1979a. Colostral immunoglobulin transfer in calves II. The rate of absorption. J. Dairy Sci. 62:1766-1773.

- Stott, G. H., Marx, D. B., Menefee, B. E. y Nightengale, G. T. 1979b. Colostral immunoglobulin transfer in calves III. Amount of absorption. *J. Dairy Sci.* 62:1902-1907.
- 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.
- Smith, M. 2004. Evaluación de un sistema de alimentación integrado de terneros neonatos en una lechería de la zona central. Tesis. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile, Chile.
- Tizard, I. 1987. Propiedades generales de las respuestas inmunitarias. *Inmunología Veterinaria*. 3ª ed. México DF: Nueva interamericana SA-McGraw-Hill. P.4-11.
- Trotz-Williams, L. A., Leslie, K. E. y Peregrine, A. S. 2008. Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *J. Dairy Sci.* 91:3840-3849.
- Vázquez-Flores, S. A., Geiger, A., Olamendi-Uresti, A. E., Aguilar-López, D. M., Díaz-Avila, L.E. y Lucio-Rodríguez, C. 2018. Determinación de IgG en suero sanguíneo de machos Holstein alimentados con calostro de vaquillas suplementado con calostro deshidratado. *J. Dairy Sci.*
- Virtala, A. M., Grohn, Y. T., Mechor, G. D. y Erb, H. N. 1999. The effect of maternally derived immunoglobulin G on the risk of respiratory diseases in heifers during the first 3 months of life. *Prevent. Vet. Med.* 39:25-37.
- Wallace, M. M., Jarvie, B. D., Perkins, N. R. y Leslie, K. E. 2006. A comparison of serum harvesting methods and type of refractometer for determining total solids to estimate failure of passive transfer in calves. *Can. Vet. J.* 47:573-575.
- 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.

Wells, S. J., Dargatz, D. A. y Ott, S. L. 1996. Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. *Prevent. Vet. Med.* 29(1):9-19.

Wren, G. 1996. Nutrición, estrés e inmunología [en línea]. *Veterinaria Bovina*. [Citado enero 2019]. URL: <http://www.org.es/eianez/inmunoco/> cap-15.

Xu, M. L., Kim, H. J. y Kim, H. J. 2014. Effect of dietary bovine colostrum on the responses of immune cells to stimulation with bacterial lipopolysaccharide. *Archives of pharmacal research.* 37(4):494-500.