



Evaluación del efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado”

López Camino, Karen Liseth

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Torres Balarezo, Rosa Jakeline, Mgtr.

22 de septiembre del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Certificación:

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Evaluación del efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado”** fue realizado por: **López Camino, Karen Liseth**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 06 de septiembre del 2023



Ing. Torres Balarezo, Rosa Jakeline, Mgtr.

C. C: 0601995715

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos



Karen Liseth López Camino TIC antipl...

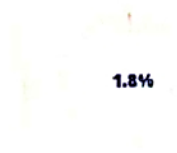
Scan details

Scan time:
September 6th, 2023 at 13:47 UTC

Total Pages:
37

Total Words:
9159

Plagiarism Detection



1.8%

Types of plagiarism		Words
● Identical	0.7%	61
● Minor Changes	0.6%	55
● Paraphrased	0.5%	48
○ Omitted Words	0%	0

AI Content Detection

N/A

Text coverage
● AI text
○ Human text



firmado electrónicamente por:
ROSA JAKELINE
TORRES BALAREZO

Ing. Torres Balarezo, Rosa Jakeline, Mgtr.

C. C: 0601995715



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría:

Yo, **López Camino, Karen Liseth**, con cédula de ciudadanía No.1751116375, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Evaluación del efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado”**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 06 de septiembre del 2023

.....
Karen Liseth López Camino

López Camino, Karen Liseth

C.C.: 1751116375



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura
Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación:

Yo, **López Camino, Karen Liseth**, con cédula de ciudadanía No. 1751116375 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Evaluación del efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 06 de septiembre del 2023

López Camino, Karen Liseth

C.C.: 1751116375

Dedicatoria

A mi familia, principalmente a mis padres quienes con su amor y apoyo incondicional hicieron que este sueño se hiciera realidad. A mi padre Washington que cuidó y protegió cada uno de mis pasos. A mi madre Yolanda que con cada uno de sus consejos ayudó a construir la mujer fuerte que soy hoy en día.

A mis hermanas Daniela y Camila que son la razón de cada una de mis alegrías, son el pilar fundamental para alcanzar cada una de mis metas, son y siempre serán mi inspiración.

A mis abuelitos a quienes quisiera abrazar en estos momentos, sin embargo, sé que junto a mi tío desde el cielo me brindaron la fuerza para seguir y concluir con este gran logro académico.

Agradecimientos

Primeramente, a Dios quien me da la oportunidad de cumplir este sueño junto a las personas que amo, quien guió mis pasos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y me permitió conocer mi querida Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, donde pude conocer profesionales de excelente calidad, que alimentaron mi cariño y respeto por la naturaleza, pero, sobre todo, tuve la oportunidad de conocer a personas extraordinarias a las que hoy puedo llamar amigos.

Mi eterna gratitud y amor a mis padres, Washington y Yolanda, porque son y siempre serán en mi vida la muestra perfecta de fortaleza, resiliencia, bondad, esperanza, apoyo y sobre todo amor incondicional. Gracias porque sin ustedes esto no habría sido posible, esto es por y para ustedes.

A la razón de mi felicidad eterna, mis hermanas Daniela y Camila, gracias por acompañarme en cada paso y cuidarme, gracias por ser el motivo de cada una de mis risas, pero sobre todo gracias porque sin darse cuenta fueron por muchas ocasiones la fuerza de impulso para levantarme y seguir adelante.

A la Ingeniera Jakeline Torres por permitirme realizar mi tesis bajo su guía, quien me brindo su conocimiento y apoyo incondicional en cada momento de este proceso. A la Ingeniera Daysi Muñoz quien fue mi guía durante la fase de laboratorio en mi trabajo de integración curricular.

A mis amigos, Rommelito, Dianita, Juanita, Panchito, Sisa, Pauli, Mario quienes me brindaron muchísimas alegrías, apoyo y momentos que guardare por siempre en mi corazón. Y a una persona muy especial, Diego por su amor y apoyo en esta etapa.

Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de autoría.....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimientos.....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	13
Resumen.....	14
Abstract.....	15
CAPÍTULO I.....	16
INTRODUCCIÓN.....	16
Antecedentes	16
Justificación.....	17
Objetivos.....	18
<i>Objetivo general</i>	18
<i>Objetivos específicos</i>	18
Hipótesis.....	18
<i>Hematología básica</i>	18
<i>Proteínas plasmáticas</i>	18
CAPÍTULO II.....	19
REVISIÓN DE LITERATURA	19

Ovinos	19
<i>Taxonomía</i>	19
<i>Alimentación y requerimientos nutricionales</i>	20
Raza Poll Dorset	21
<i>Características fenotípicas</i>	21
<i>Parámetros productivos</i>	21
<i>Características reproductivas</i>	21
Destete	22
<i>Bacillus subtilis</i>	22
Probióticos.....	23
Recolección de muestras sanguíneas en ovinos	23
Manejo y conservación de muestras	24
Parámetros bioquímicos sanguíneos	25
<i>Proteínas totales</i>	26
<i>Globulina</i>	26
<i>Albúmina</i>	26
<i>Hematocrito</i>	27
<i>Conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos</i>	27
<i>Frotis sanguíneo</i>	28
Diferenciación leucocitaria	28
<i>Neutrófilos</i>	29
<i>Basófilos</i>	29
<i>Eosinófilos</i>	30
<i>Linfocitos</i>	30
<i>Monocitos</i>	30
CAPÍTULO III	32

METODOLOGÍA	32
Localización.....	32
<i>Trabajo de campo y laboratorio</i>	32
Tamaño de la muestra	33
Tratamientos	33
Preparación de los animales.....	33
Dieta y aplicación del probiótico	35
Pruebas de laboratorio.....	35
<i>Toma de muestras de sangre</i>	36
<i>Análisis de hematocrito</i>	37
<i>Obtención de plasma</i>	38
<i>Análisis de albúmina</i>	39
<i>Análisis de proteínas totales</i>	39
<i>Análisis de globulina</i>	39
<i>Conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos</i>	40
<i>Diferenciación leucocitaria</i>	40
Análisis estadístico.....	40
Modelo experimental hematología básica	41
Modelo experimental proteínas plasmáticas	42
CAPÍTULO IV	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
Diferenciación leucocitaria	43
<i>Linfocitos</i>	43
<i>Monocitos</i>	43
<i>Basófilos</i>	44
<i>Neutrófilos</i>	45

<i>Eosinófilos</i>	46
Hematocrito	46
Albúmina.....	48
Proteínas totales	49
Globulina	51
Conteo de glóbulos blancos.....	52
Conteo de glóbulos rojos	54
CAPÍTULO V	56
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
Conclusiones.....	56
Recomendaciones	57
Bibliografía	58

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Clasificación taxonómica Ovis aries</i>	20
Tabla 2 <i>Valores de referencia de los parámetros sanguíneos en ovinos</i>	25
Tabla 3 <i>Porcentaje promedio de linfocitos por tratamiento y días</i>	43
Tabla 4 <i>Porcentaje promedio de monocitos por tratamiento y días</i>	44
Tabla 5 <i>Porcentaje promedio de basófilos por tratamiento y días</i>	45
Tabla 6 <i>Porcentaje promedio de neutrófilos por tratamiento y días</i>	45
Tabla 7 <i>Porcentaje promedio de eosinófilos por tratamiento y días</i>	46
Tabla 8 <i>Porcentaje promedio de hematocrito por tratamiento y días</i>	47
Tabla 9 <i>Análisis estadístico de hematocrito por tratamiento y días</i>	47
Tabla 10 <i>Porcentaje promedio de albúmina por tratamiento y días</i>	48
Tabla 11 <i>Análisis estadístico de albúmina por tratamiento y días</i>	49
Tabla 12 <i>Porcentaje promedio de proteínas totales por tratamiento y días</i>	50
Tabla 13 <i>Análisis estadístico de proteína total por tratamiento y días</i>	50
Tabla 14 <i>Porcentaje promedio de globulina por tratamiento y días</i>	51
Tabla 15 <i>Análisis estadístico de globulina por tratamiento y días</i>	52
Tabla 16 <i>Porcentaje promedio de conteo de glóbulos blancos por tratamiento y días</i>	53
Tabla 17 <i>Análisis estadístico del conteo de glóbulos blancos por tratamiento y días</i>	53
Tabla 18 <i>Porcentaje promedio de conteo de glóbulos rojos por tratamiento y días</i>	54
Tabla 19 <i>Análisis estadístico del conteo de glóbulos rojos por tratamiento y días</i>	55

Índice de figuras

Figura 1 <i>Visión satelital del área experimental</i>	32
Figura 2 <i>Visión satelital del área experimental de laboratorio</i>	33
Figura 3 <i>Desinfección del área de trabajo</i>	34
Figura 4 <i>Identificación de corderos</i>	34
Figura 5 <i>Adaptación de los corderos a la nueva dieta</i>	35
Figura 6 <i>Realización de frotis sanguíneo</i>	36
Figura 7 <i>Extracción de muestras de sangre</i>	37
Figura 8 <i>Realización de hematocrito</i>	38
Figura 9 <i>Obtención de plasma</i>	38
Figura 10 <i>Programa utilizado para análisis estadístico</i>	41

Resumen

El uso de probióticos en la alimentación de rumiantes se utiliza debido a sus beneficios, generando un efecto positivo en los desbalances debido a cambios dietéticos en el rumen. En este estudio se evaluó el efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado”. El experimento se basó en dos tratamientos, donde el tratamiento 0 (T0) no se aplicó el probiótico, mientras que el tratamiento 1 (T1) se aplicó 1 mL de probiótico diario durante 42 días, se utilizaron 5 corderos machos castrados por tratamiento. Se realizaron 4 análisis de laboratorio durante toda la fase experimental del estudio, cada una con un intervalo de tiempo de 21 días. Los parámetros que se analizaron fueron hematología básica y proteínas plasmáticas. Para el análisis estadístico se utilizó el software Infostat con un nivel de confiabilidad del 95% y un margen de error del 5%, se realizó la prueba de comparación de medias no paramétrica Kruskal y Wallis. Los resultados en hematocrito, conteo de glóbulos rojos y blancos, albúmina, proteínas totales y globulina si presentaron diferencias significativas entre los dos tratamientos y entre los días de análisis, viendo un efecto positivo en los animales T1. En la diferenciación leucocitaria no presentaron diferencias significativas en linfocitos, monocitos, basófilos, eosinófilos y neutrófilos. Tomando en cuenta los resultados obtenidos en este estudio se recomienda que para futuras investigaciones se apliquen diferentes dosis del probiótico y en etapas de lactancia, gestación o engorde.

Palabras clave: CORDEROS, HEMATOLOGÍA, MUESTRAS, PROBIÓTICOS

Abstract

The use of probiotics in ruminants' feed has risen in recent years due to their benefits, generating a positive effect on the imbalances caused by dietary changes in the rumen.

This study evaluated the effects of adding a probiotic carrier of the *Bacillus subtilis* strain on blood parameters in lambs at "El Prado" farm. The experiment was based on two treatments. In treatment 0 (T0) the probiotic was not applied, whereas in treatment 1 (T1) 1mL of probiotic was applied daily for a 42-day period. During this procedure five castrated male lambs were utilized per treatment. Throughout the experimental phase of the study, four laboratory analyses were performed, each within 21-day intervals. The analyzed parameters were basic hematology and plasmatic proteins.

For the statistical analysis, the program Infostat was employed, which has a 5% error margin, the test was performed with Kruskal and Wallis nonparametric mean comparison. The results demonstrated a significant difference in hematocrits, leukocytes and erythrocytes count, albumin, total proteins, as well as globulin between both treatments, while also showing positive effects in T1 lambs. On the other hand, leukocyte differentiation did not present a considerable difference in lymphocytes, monocytes, basophiles, eosinophiles, and neutrophiles. Considering the results obtained throughout this study, it is advised that for future research different doses of the probiotic, forms of it and different strains.

Keywords: LABS, HEMATOLOGY, SAMPLES, PROBIOTICS.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La cría y aprovechamiento de ovejas en Ecuador se remonta a la época de la conquista, cuando los colonizadores españoles introdujeron estos animales como fuente de alimento. A medida que encontraron un entorno favorable para su crecimiento, se dispersaron por todo el continente americano. En la actualidad, la explotación ovina constituye una de las principales fuentes de ingresos y sustento para los agricultores, especialmente aquellos de medianas y pequeñas dimensiones. Las ovejas son reconocidas como el ganado preferido por las personas de escasos recursos económicos (Cajilema, 2017).

La percepción de la calidad, tanto en el ganado vivo como en su procesamiento, varía entre países. Este concepto complejo ha sido objeto de diversas definiciones. Según algunos expertos, la calidad se define en función de cómo el producto cumple con las demandas del mercado, mientras que para otros adquiere un sentido económico. Otro enfoque considera la calidad natural del producto, que se determina por los componentes que lo conforman y permiten su caracterización. Además, una definición más amplia consiste en asignar un valor relativo al producto en función de ciertos parámetros utilizados en la descripción y clasificación de la canal, como diferentes criterios establecidos (Cajilema, 2017).

Los parámetros sanguíneos desempeñan un papel crucial en el diagnóstico de enfermedades debido a que reflejan el estado fisiológico y bioquímico del organismo. Estos parámetros son evaluados a través de análisis de sangre, que proporcionan información sobre diversos aspectos de la salud. Los parámetros sanguíneos pueden ayudar a detectar y diagnosticar enfermedades de diferentes maneras como la detección de anomalías a través de los valores de referencia establecidos para los parámetros normales así permiten identificar desviaciones significativas que pueden indicar la presencia de una enfermedad, también se utilizan para la evaluación de la función de órganos específicos, para el diagnóstico

de enfermedades específicas algunos parámetros sanguíneos son específicos de ciertas enfermedades. Los parámetros sanguíneos se utilizan para controlar la evolución y el tratamiento de enfermedades crónicas, como enfermedades cardiovasculares o los trastornos hematológicos. Los cambios en los valores pueden indicar la efectividad del tratamiento o la progresión de la enfermedad.

Justificación

La producción ovina en Ecuador es una actividad importante en varias regiones del país, especialmente en la Sierra y la Amazonía. Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2021) se registró una población ovina de alrededor de 1,6 millones de cabezas. La producción ovina en el país se utiliza principalmente para la producción de carne, leche y lana. Los ovinos se crían en pequeñas y medianas explotaciones familiares y también en grandes empresas especializadas en la producción de carne ovina.

El destete es un proceso importante que consiste en separar a los corderos de sus madres para que puedan crecer y desarrollarse de manera independiente. Este proceso se realiza generalmente cuando los corderos tienen 60 días de edad. Esta práctica tiene varios beneficios como mejorar la producción de leche de las ovejas, beneficia a la eficiencia de la producción y permite controlar el crecimiento de la población. Sin embargo, puede ser un proceso estresante que puede causar varios problemas de salud en los animales. Algunos de los problemas más comunes son la pérdida de peso, diarrea, estrés y comportamiento anormal.

Bacillus subtilis es una bacteria beneficiosa en la alimentación animal que se utiliza comúnmente como aditivo probiótico en la producción ovina y en otros animales. Se ha demostrado que la adición de *Bacillus subtilis* en la dieta de los corderos en el destete tiene varios beneficios como fortalecer el sistema inmunológico, reduce el estrés, reduce la presencia de diarreas, minimiza la incidencia de problemas de salud y mejora la digestión de los alimentos, mejorando su crecimiento y desarrollo.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado”.

Objetivos específicos

Incluir el probiótico a base de *Bacillus subtilis* en la dieta de corderos en la Hacienda “El Prado” para evaluar su efecto sobre la hematología básica.

Adicionar el probiótico a base de *Bacillus subtilis* en la dieta de corderos en la Hacienda “El Prado” para evaluar su efecto sobre las proteínas plasmáticas.

Hipótesis

Hematología básica

H0: La hematología básica en todos los tratamientos fue similar en el presente estudio.

H1: La hematología básica en al menos uno de los tratamientos difirió de los otros tratamientos en el presente estudio.

Proteínas plasmáticas

H0: Las proteínas plasmáticas en todos los tratamientos fue similar en el presente estudio.

H1: Las proteínas plasmáticas en al menos uno de los tratamientos difirió de los otros tratamientos en el presente estudio.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

Ovinos

Los ovinos son pequeños animales rumiantes. La crianza de ovinos permite la generación de diversos productos como carne con alto contenido de proteína, leche, lana y estiércol (Sáenz, 2007).

En la actualidad, la producción ovina es una actividad que se genera a nivel mundial. La lana constituye el 5% de fibra textil del mundo y las principales majadas se ubican principalmente en Australia, China, y Nueva Zelanda. Los principales importadores son los países de Europa, Estados Unidos y Japón. El comercio internacional de carne ovina es escaso, representando sólo el 12% de la producción (Cruz, 2017).

Según el INEC (2021), en el Ecuador existen 528828 cabezas de ganado ovino, registrando una mayor concentración de animales en la región Sierra del país con el 93.73%, la Costa con 5.94% y la Amazonia registra el 0.33%. Las provincias con mayor número de ganado son Chimborazo, Cotopaxi, Azuay y Tungurahua. Se menciona que a nivel nacional se realiza la venta de 32943 ovinos, donde 8271 son animales menores de seis meses de edad y 24673 mayores a los seis meses.

Los ovinos salen a la venta de acuerdo a edad y peso; para animales grandes con edades de 17 meses, peso 72 lb tienen un precio de \$ 104,60; para la venta de carne el costo/lb es \$ 2,20 a 3, piel \$ 2,38 c/u y vísceras \$ 10,80 c/u. La producción de lana ha tenido un efecto positivo obteniendo un precio por kg de \$ 1,20 a \$ 1,50 por su calidad (Quishpi, 2021).

Taxonomía

Se clasificó a las ovejas domésticas en 1758 en la especie *Ovis aries*. Aunque posteriormente se demostró que las ovejas domésticas actuales y su antepasado silvestre, el muflón oriental (*Ovis orientalis*), pertenecían a una misma especie y debía asignárseles un único nombre científico. La clasificación zoológica de los ovinos se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1*Clasificación taxonómica Ovis aries*

Reino	Animal
Filum	Cordados
Subfilum	Vertebrados
Clase	Mamíferos
Subclase	Artiodáctilos
Familia	Bóvidos
Genero	Ovis
Especie	Aries
Denominación	<i>Ovis aries</i>

Nota. Recuperado de (Cruz, 2017).

Alimentación y requerimientos nutricionales

Los ovinos están adaptados a pastorear sobre praderas naturales donde su alimentación se basa en plantas forrajeras, manteniéndose muy bien con pastos cortos y finos. Cabe recalcar que, durante el período previo al parto, la buena alimentación permite evitar la mortandad de vientres gestantes por toxemia de preñez. El 70 % del peso corporal del cordero al nacimiento es desarrollado durante el último tercio de la gestación, mejorando la alimentación en este período, se logra aumentar el peso al nacer (Cruz, 2017).

A partir del mes de edad, el cordero dependerá, no sólo de la leche de su madre, sino que además se iniciará en el consumo del forraje. La calidad y cantidad del mismo incidirá directamente sobre el peso de los corderos al destete. Paulatinamente los corderos incrementan el consumo de forrajes y disminuyen la dependencia de la leche materna, hasta llegar al destete. Durante el período post destete, los corderos tienen prioridad en cuanto a la calidad de los pastoreos.

Raza Poll Dorset

Características fenotípicas

Según Quishpi (2021), los ovinos Poll Dorset son una raza de doble propósito, con una excelente condición corporal que retribuye a un animal de tamaño mediano; su cara, orejas y patas son blancas, sin lana; produce un vellón de lana mediana, desprovisto de fibras negras. Es una raza prolífica que produce abundante leche, la cual posee longevidad y produce corderos fuertes de crecimiento y madurez mediana, que presentan buen desarrollo muscular, importante en la canal.

Parámetros productivos

Para esta raza el peso promedio de lana se encuentra en valores mínimos de 1,5 kg para la categoría de borregas de año y máximos de 6,9 kg en carneros de 3 años. En condiciones de establecimientos comerciales se ha obtenido ganancias diarias de 470 grs/día durante los primeros 90 días de vida en condiciones de corderos únicos, al pie de la madre pastoreando sobre praderas de alto nivel nutritivo (Quishpi, 2021). El peso promedio al nacimiento es de 5.6 kg, mientras que el peso al destete en el caso de hembras es de 36.9 kg y en machos 37.2 kg, alcanzando un peso en hembras adultas de 68 a 91 kg y los machos de 102 a 123 kg.

Características reproductivas

Poll Dorset es una raza precoz, buena fertilidad y prolificidad moderada. Es ideal para producción de corderos tempranos. Es recomendada para cruzamientos con razas doble propósito, para la formación de madres híbridas de ciclo amplio y mayor precocidad o bien en cruza terminales sobre hembras F1 o puras de línea materna para corderos terminales. Tiene una fertilidad del 100%, con un índice de natalidad máximo de 166%, mínimo de 139% y un porcentaje de destete un 95% (Instituto Nacional de Innovación Agraria [INIA], 2010).

Destete

El destete se basa en el reemplazo de la leche por alimentos sólidos (balanceado o forraje) y la independencia completa de la cría. Al inicio, las ovejas madres permiten que los corderos se alimenten de leche a voluntad y se va reduciendo gradualmente esta frecuencia a medida que avanzan en la lactancia. Con el crecimiento del cordero, los amamantamientos disminuyen y la distancia entre oveja y cría aumenta. Durante este periodo, el cordero se adapta a la comida sólida y su sistema ruminal se desarrolla más (Ungerfer, 2016).

El mismo autor menciona que la edad de destete natural de los corderos se basa en la producción de leche de las madres, y también puede ser influenciada por la nutrición de las ovejas.

Bacillus subtilis

B. subtilis, una bacteria en forma de bastoncillo, se encuentra comúnmente en el suelo, fuentes de agua y en asociación con las plantas. Esta bacteria aeróbica tiene la capacidad de formar endosporas. Tanto *B. subtilis* como sus parientes cercanos son valiosas fuentes de enzimas industriales, como amilasas y proteasas. Su capacidad para secretar estas enzimas en concentraciones de gramos por litro genera un gran interés comercial. Por lo tanto, *B. subtilis* se utiliza en estudios sobre la secreción de proteínas y se ha desarrollado como huésped para la producción de proteínas heterólogas (Kunst *et al.*, 1997).

B. subtilis normalmente no se encuentran en el tracto gastrointestinal, las esporas que pueden resistir la digestión de las enzimas digestivas pueden alcanzar el tracto intestinal y crecer en el intestino. *B. subtilis* ha demostrado características probióticas porque se ha evidenciado que inhibe patógenos, como *Clostridium*, *Campylobacter*, *Streptococo* y *Escherichia coli*. Cabe recalcar que es una bacteria de gran importancia por su papel en el control de enfermedades infecciosas, mejorando así el rendimiento productivo en los animales (Sun *et al.*, 2013).

Probióticos

El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2006).

En rumiantes, la microbiota ruminal es responsable de proporcionar aproximadamente el 70 % de los requerimientos diarios de energía. Los microorganismos que forman parte de la microbiota del rumen, poseen diversas enzimas con la capacidad de hidrolizar carbohidratos estructurales que no son digeribles por los animales y producir ácidos grasos de cadena corta, los cuales tienen un papel muy importante en la salud y nutrición animal (Molina, 2019).

Algunos cultivos microbianos principalmente el uso de probióticos se han utilizado en la nutrición de rumiantes, generando un efecto positivo al solucionar los desbalances debido a cambios dietéticos en el rumen. La utilización de probióticos microbianos en rumiantes mejoran la ingesta de materia seca y la productividad, además que su inclusión en las dietas mejora la utilización de forrajes de mala calidad, aumenta la digestibilidad de la fibra y estabiliza el pH del rumen. Los probióticos influyen en el tracto intestinal con la simbiosis de bacterias beneficiosas, sobre la salud del huésped que también puede implicar la estimulación del crecimiento y contribuyen a una mayor productividad (Delgadillo *et al.*, 2022).

Uno de los mecanismos de los probióticos consiste en cambiar la dinámica de la población microbiana, disminuyendo el crecimiento de microorganismos patógenos y promover el crecimiento de microflora beneficiosa. Poblaciones microbianas benéficas en el tubo digestivo, se han asociado con aumento en el rendimiento del animal, lo que refleja una digestión más eficiente y mejora en la inmunidad (Mookiah *et al.*, 2014).

Recolección de muestras sanguíneas en ovinos

Para la recolección de muestras hay que tener presente 3 puntos importantes, el primer punto es seleccionar una muestra significativa, el segundo es tomar muestras que sean

características de la enfermedad o pruebas que se desea analizar y el último punto es evitar que las muestras se contaminen. Es de suma importancia que las muestras estén correctamente etiquetadas con la identificación de cada animal, la fecha en la que se realizó la toma y el nombre de la persona que lo hizo. Para realizar las pruebas de hematología básica es necesario utilizar tubos al vacío de tapa lila que contienen EDTA, en este caso hay que tomar ciertas precauciones para evitar hemolisis, como no utilizar agujas húmedas y nunca olvidar la homogenización invirtiendo el tubo mínimo 5 veces para mezclar la sangre con el anticoagulante (Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria [SENASAG], 2016).

Los animales seleccionados se pesan y luego son inmovilizados con ayuda de dos personas. Se depila la zona lateral izquierda del cuello donde se encuentra la vena yugular con tijera y bisturí estéril, desinfectándose posteriormente con alcohol al 70%. Se hace un torniquete para que la vena yugular sobresalga y el flujo sanguíneo aumente, con el equipo vacutainer se introduce la aguja de forma paralela en la vena y se aplasta el tubo vacío para que la sangre ingrese al mismo hasta la cantidad requerida. Se libera el animal y se los traslada a su rebaño suministrándole una dieta reforzada (Bencomo *et al.*, 2008).

Manejo y conservación de muestras

Para el almacenamiento y transporte de muestras deben ser refrigeradas a 4 °C durante un período máximo de 24 h. No se deben realizar contajes celulares en muestras sanguíneas con más de 3 días, así estén bajo refrigeración ya que se las consideran muestras viejas. Las muestras sanguíneas para análisis hematológico no deben ser congeladas, ya que estos métodos generan hemólisis en las muestras. La prolongación del contacto entre la sangre y el anticoagulante altera la morfología de los elementos celulares sanguíneos, por esta razón se recalca la importancia de la homogenización de la sangre con el anticoagulante al momento de la recolección (Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón [CCMIJU], 2018).

Parámetros bioquímicos sanguíneos

Las proteínas plasmáticas desempeñan un papel central en el metabolismo proteico del organismo debido a su relación con el metabolismo hepático y su interacción con otros tejidos. Como resultado, tanto las proteínas totales como sus fracciones son herramientas útiles para el diagnóstico y pronóstico de ciertos procesos patológicos, así como para evaluar el estado nutricional. Sin embargo, es importante tener en cuenta que las alteraciones en estos parámetros no son específicas de una enfermedad en particular (Ramos *et al.*, 1993).

También mencionan que en animales con procesos infecciosos o parasitarios crónicos, los niveles de proteínas totales pueden incrementarse debido al aumento de gammaglobulinas se experimentan cambios significativos debido a la presencia de hipoalbuminemia. Las alteraciones hepáticas tienen un impacto negativo en la síntesis proteica, mientras que los problemas renales pueden resultar en la pérdida de proteínas a través de la orina. Bajo estrés calórico, los ovinos activan mecanismos para contrarrestar los efectos, como la disminución del consumo de materia seca, incrementan la frecuencia respiratoria y en el consumo de agua. Estos cambios fisiológicos traen como consecuencia la activación de respuestas biológicas en el sistema nervioso autónomo y en la respuesta inmune.

Tabla 2

Valores de referencia de los parámetros sanguíneos en ovinos

Hematocrito	28-40 %
Leucocitos	$4 - 12 \times 10^3/\text{mm}^3$
Neutrófilos	$0,7 - 6 \times 10^3/\text{mm}^3$
Linfocitos	$2 - 9 \times 10^3/\text{mm}^3$
Monocitos	$0 - 0,75 \times 10^3/\text{mm}^3$
Eosinófilos	$0 - 1,0 \times 10^3/\text{mm}^3$

Nota. Recuperado de (Soriano, 2016).

Proteínas totales

Zapata (2020), alega que los iones y las proteínas son los principales contribuyentes a la presión osmótica del plasma sanguíneo, lo cual ayuda al mantenimiento del sistema cardiovascular. Existen dos grupos de proteínas plasmáticas, las globulinas y las albúminas.

El incremento en las proteínas totales puede deberse a la deshidratación la cual presenta una hemoconcentración por vómitos o diarreas, también por un aumento en el nivel de globulina, como en enfermedades hepáticas avanzadas, infecciones crónicas. Mientras que la disminución de las proteínas totales se debe siempre a un nivel bajo de la albúmina. Un bajo nivel de proteínas en la sangre origina una reducción en la presión osmótica coloidal del plasma que puede producir edema (Zapata, 2020).

Globulina

Las funciones de las globulinas son la neutralización de enzimas proteolíticas tipo tripsina, transportan el colesterol y vitaminas liposolubles, participan en la coagulación sanguínea y disminuyen en las hepatopatías, intervienen en el transporte de hormonas tiroideas, trabajan en la inhibición de proteasas, fijan la hemoglobina, el cobre y conservan el hierro, transportan lípidos, aumentan en las hiperlipemias y disminuyen en las enfermedades hepáticas graves, es decir que las globulinas intervienen en el sistema inmunológico del cuerpo de los ovinos (Barrero y Riera, 2001).

Las globulinas o inmunoglobulinas actúan como receptoras de membranas en los linfocitos β , y son empleados por el sistema inmune para identificar y neutralizar virus y bacterias (Cárdenas *et al.*, 2023).

Albúmina

Usca (2022), menciona que la albúmina es una proteína de estructura terciaria sintetizada por el hígado a partir de aminoácidos y catabolizada por todos los tejidos activos. La Albúmina se sintetiza a nivel de los hepatocitos. Es la principal proteína que se encuentra en el suero y constituye el 35% a 50% de la proteína total del mismo.

La misma autora recalca que dentro del organismo la albúmina cumple diversas funciones como el mantenimiento de la presión oncótica, el transporte de hormonas, transporte de ácidos grasos libres, de fármacos y drogas, unión competitiva con iones de calcio, control de pH, y reguladores de líquidos extracelulares. El valor promedio de albúmina es de 3 a 4,5 g/dL.

Hematocrito

De acuerdo con Álvarez (2010), el hematocrito es la cantidad de glóbulos rojos en una masa de volumen respecto al volumen total de la sangre. Las unidades que se emplean para expresarlo son en porcentajes y el sistema internacional utiliza la unidad L/L. La sangre es considerada un tejido en suspensión, es por ello que las células sanguíneas son sólidas y ocupan un volumen espacial, pero están flotando en un líquido. La sangre en reposo forma un sedimento, entre más o menos células existan en la sangre, se observará un sedimento más o menos espeso, respectivamente. Este es el principio del hematocrito, la medición exclusivamente a los glóbulos rojos.

Los valores normales de hematocrito en ovinos se encuentran entre 28 a 40%. Valores más bajos de lo normal indican anemia y más alto indican poliglobulia. El hematocrito puede aumentar en procesos de estrés, ansiedad o en adaptación a zonas de gran altura. El valor del hematocrito puede sufrir una disminución cuando los animales son sometidos a ayuno o aquellos que cursan con pérdida de sangre importante, como un shock hemorrágico (Herrera y Unda, 2021).

González (2017), nos indica que para llevar a cabo esta técnica se llena de sangre un tubo de microhematocrito y se sella por un extremo con plastilina. Cuando se calcula el volumen de eritrocitos en el total de la muestra centrifugada, se obtiene el hematocrito.

Conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos

El conteo de glóbulos se lo lleva a cabo con la ayuda de la cámara de Neubauer. El recuento se realiza sobre diferentes áreas de la retícula de la cámara y luego se multiplica por la dilución que se haya realizado. Luego de cargar la cámara de Neubauer se debe permitir que

las células se asienten para poder contarlas, para esto se debe esperar 2 minutos aproximadamente. El conteo de glóbulos rojos se realiza en el cuadrado central, en cinco grupos de las 16 casillas, contando las cuatro esquinas y el centro. Para los glóbulos blancos, se efectúa el recuento en los cuatro cuadrados grandes de las esquinas. Para indicar el número de glóbulos presentes en la muestra de sangre, deben considerarse los factores de dilución, el tamaño de las cámaras y la técnica del recuento (Rossi, 2017).

Frotis sanguíneo

El frotis sanguíneo es un método que permite el estudio cualitativo de los diferentes componentes sanguíneos, inclusiones intra o extracelular de parásitos o bacterias sanguíneas y la estimación de recuentos de plaquetas. Para realizar el frotis por el método del portaobjetos se debe homogenizar la muestra, se toma sangre con un aplicador y se deposita una gota pequeña sobre un extremo del portaobjetos, se apoya el extremo del portaobjeto extensor sobre la superficie del portaobjetos para frotis, y por delante de la gota de sangre se hace retroceder el portaobjetos extensor hacia la gota de sangre, sin separarlo de la superficie del portaobjetos de frotis, una vez el portaobjetos extensor haya hecho contacto con la sangre se inclina de modo que ambos formen un ángulo de 45° , cuando la sangre haya corrido por capilaridad, se procede a la extensión con un movimiento rápido y continuo, se extiende el portaobjetos extensor hacia delante, cubriendo $2/3$ del portaobjetos para frotis, hay que secarlo moviéndolo en el aire (Gallo, 2014).

Diferenciación leucocitaria

En las pruebas sanguíneas es de suma importancia la cuantificación e identificación correcta de los grupos celulares como plaquetas, glóbulos rojos, proteínas y glóbulos blancos. Los glóbulos blancos son los responsables del sistema de defensa, de esta forma las concentraciones de leucocitos podrían indicar la presencia de infecciones o ciertas enfermedades. Los glóbulos blancos se dividen en dos grandes grupos, los granulocitos y agranulocitos (López, 2017).

Los granulocitos son los tipos más comunes de glóbulos blancos. Son pequeños y contiene gránulos dentro del citoplasma. Los granulocitos presentan una subdivisión: neutrófilos, basófilos y eosinófilos. Mientras que los agranulocitos no presentan gránulos en el citoplasma, tampoco disponen de una membrana y se clasifican en linfocitos y monocitos (López, 2017).

Neutrófilos

Los neutrófilos se originan en la médula ósea a partir de células mieloides. El citoplasma de los neutrófilos presenta numerosos gránulos de tamaño pequeño. Se liberan a circulación desde médula ósea en respuesta a la demanda tisular existente, la cual queda patente por medio de numerosas sustancias humorales circulantes (González, 2017).

El porcentaje óptimo de neutrófilos en ovinos debe ser menor al 50%, cuando este porcentaje aumenta está asociada a procesos inflamatorios agudos, normalmente purulentos y de origen infeccioso, lesión tisular extensa, y otros procesos no inflamatorios, como la hemólisis o las hemorragias agudas. Cuando el porcentaje disminuye puede ser inducida por niveles altos de corticosteroides circulantes (Soriano, 2016).

Basófilos

Los basófilos presentan un núcleo oval o escotado y heterocromatina periférica. Los gránulos de basófilos son muy grandes y tienen una morfología irregular, contienen heparina e histamina. Sus principales funciones son la reacción de hipersensibilidad como alergias y anafilaxia, en este proceso se genera vasodilatación, permiten la unión de antígenos a sus Ig-E (Universidad de Buenos Aires [UBA], 2021). Los basófilos son vistos raramente en la sangre periférica de animales sanos (Rossi, 2017).

Yaguna (2020), menciona que es muy raro encontrar un aumento del número de basófilos, ya que es poco habitual encontrarlos en la circulación periférica. Sin embargo, en el caso de estar presente se lo asocia con eosinofilia y se puede encontrar en determinadas alergias, dirofilariosis, mastocitoma.

Eosinófilos

Los eosinófilos son pequeños granulocitos, con un diámetro de 10-15 μm , su núcleo es bilobulado, al igual que los neutrófilos se originan en la médula ósea, al salir de la medula salen totalmente diferenciados. Circulan en la sangre, pero normalmente se encuentran en pequeñas cantidades, concentrándose en porcentajes de 3 a 6 con respecto al total de granulocitos de la médula ósea. Los eosinófilos tienen un metabolismo muy activo (Brito *et al.*, 2003).

Linfocitos

Los linfocitos son más comunes en el sistema linfático que en el flujo sanguíneo en ovinos. Los linfocitos se pueden clasificar por su tamaño, es decir que pueden presentar dos rangos de tamaño, los linfocitos pequeños pueden tener un tamaño aproximado de 7-8 μm , mientras que los linfocitos grandes pueden tener un tamaño de 12-15 μm . La forma de su núcleo es excéntrica. Los linfocitos también se pueden clasificar en tres tipos, las células NK, células T y células B (López, 2017).

Las células NK o también llamados linfocito asesino natural o linfocito granuloso gigante, producen la muerte de las células por citotoxicidad e inducción de apoptosis. Los linfocitos T son los responsables de la inmunidad celular, cuando son activados por el antígeno, secretan citocinas o también citotoxinas. Actúan principalmente contra patógenos intracelulares, hongos y tumores. Los linfocitos B son los responsables de la inmunidad humoral ya que, al ser activados por los antígenos, se transforma en célula plasmática que secreta inmunoglobulinas y actúan principalmente contra bacterias extracelulares (Vega, 2009).

Monocitos

Rodríguez (2012), menciona que, entre las células del sistema inmune innato, los monocitos representan uno de los grupos más importantes y heterogéneos por sus características e implicación en diversos procesos de la respuesta a la infección. Los monocitos durante la inflamación, migran desde la sangre hasta los tejidos linfoides y el hígado en respuesta a señales derivadas del tejido causadas por la infección o por daño el tisular. Los

monocitos se originan en la medula ósea a partir del llamado progenitor común mieloide de tipo granulocítico-monocítico (González, 2017). Los monocitos tienen un tamaño de 15-20 μm , su núcleo es de forma irregular, a menudo con vacuolas. Es la célula más grande de todos los leucocitos (Mejía, 2018).

Las principales funciones de los monocitos son que migran a los tejidos y configuran el sistema fagocítico mononuclear así que ayudan a destruir patógenos, facilitan el remodelado tisular y participan en la presentación de antígenos como macrófagos tisulares, macrófagos de Kupffer, neumonocitos del tipo III y las células de Langerhans que se encuentran en la piel (Universidad de Buenos Aires [UBA], 2021).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

Localización

Trabajo de campo y laboratorio

El trabajo de campo se realizó en la Hacienda “El Prado”, en el taller de Ovinos ubicado en la zona de Pailones, mientras que el trabajo de laboratorio se hizo en el laboratorio de Acuicultura, ambos ubicados en la Carrera Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, que se localiza en la parroquia de San Fernando, Cantón Rumiñahui, Provincia Pichincha.

Figura 1

Visión satelital del área experimental



Nota. Representación de la ubicación donde se realizó la fase experimental, recuperado de (Google Maps, 2023).

Figura 2

Visión satelital del área experimental de laboratorio



Nota. Representación de la ubicación donde se realizó la fase experimental de laboratorio, recuperado de (Google Maps, 2023).

Tamaño de la muestra

Se utilizaron 10 corderos machos castrados, 5 animales por cada tratamiento. Al tener esta cantidad de animales dentro de los tratamientos se garantiza que la muestra para el análisis estadístico del estudio sea significativa.

Tratamientos

El estudio tuvo como base la aplicación de un probiótico aportador de *Bacillus subtilis*. Se trabajó con dos tratamientos, el T0 donde no se aplicó el probiótico y el T1 donde se aplicó 1 mL de probiótico diario. Cada tratamiento tuvo 5 animales.

Preparación de los animales

La muestra para el experimento fue de 10 corderos machos. La identificación de los animales fue con aretes que contenían el número de animal y el tratamiento al que pertenecían. El peso inicial de los animales fue de 18.84 kg. Se mantuvo a los animales con el sistema de manejo y calendario sanitario del taller de Ovinos. Se desinfectó toda el área antes y durante la fase experimental.

Figura 3

Desinfección del área de trabajo



Nota. Representación de la desinfección del área de trabajo. Autoría propia.

Figura 4

Identificación de corderos



Nota. Representación de identificación de corderos. Autoría propia.

Dieta y aplicación del probiótico

La dieta se basó en la adición diaria de 4% de balanceado peletizado en relación al peso promedio del rebaño, se ajustó la cantidad de balanceado acorde al crecimiento de los corderos. Y se mantuvo a todos los animales con balanceado y pasto para garantizar el cumplimiento del requerimiento nutricional.

En el destete se suministró 1 mL de probiótico diario de forma oral durante 42 días, 1 mL de producto equivale a proveer 1.33×10^8 ufc/animal de *Bacillus subtilis*.

Figura 5

Adaptación de los corderos a la nueva dieta



Nota. Representación de la adaptación de corderos a la nueva dieta.

Autoría propia.

Pruebas de laboratorio

Se realizaron cuatro análisis de laboratorio durante toda la fase experimental del estudio, cada una con un intervalo de tiempo de 21 días. El primer análisis se realizó para tener una línea base para el experimento. En el segundo y tercer análisis ya se adicionó el probiótico en la dieta. El último análisis se retiró el probiótico de la dieta.

Figura 6

Realización de frotis sanguíneo



Nota. Representación de frotis sanguíneo.

Autoría propia.

Toma de muestras de sangre

Las muestras de sangre fueron tomadas en la mañana con los animales en ayuno, extrayendo la sangre de la vena yugular con la técnica de vacutainer, para lo cual se utilizaron tubos tapa lila con anticoagulante EDTA de 5 mL, sin embargo, la recolección de sangre solo fue de 3 mL por cada animal, que fue la cantidad necesaria para realizar todas las pruebas de laboratorio (Hematocrito, conteo de glóbulos rojos, conteo de glóbulos blancos, obtención de albúmina, globulina, proteínas totales y diferenciación leucocitaria como neutrófilos, basófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos). Una vez obtenidas las muestras, correctamente etiquetadas se las transportaron al laboratorio de Acuicultura en un cooler que contenía frío-gel a -4 grados Celsius para garantizar la cadena de frío, se procesaron las muestras el mismo día que fueron recolectadas.

Figura 7

Extracción de muestras de sangre



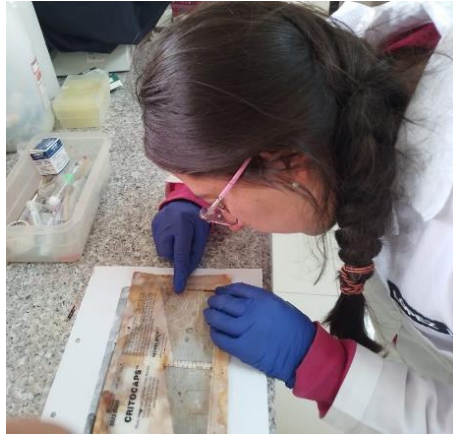
Nota. Representación de extracción de muestra de sangre. Autoría propia.

Análisis de hematocrito

Se utilizaron tres capilares para cada muestra de sangre de los animales. Se absorbió una muestra de sangre de acuerdo con la lectura de la tabla Critocaps, es decir, que los capilares se llenaron tres cuartas partes, para luego ser sellados con plastilina, posteriormente se colocó dentro de los tubos de ensayo los cuales se encontraban previamente rotulados. Las muestras se centrifugaron en una centrifugadora normal a 2700 rpm durante 10 minutos. Después se realizó la lectura de la columna de sangre, que da como resultado un empaquetamiento máximo de los eritrocitos. El VGA o volumen de sangre se realiza para conocer el volumen de glóbulos rojos con relación al total de la sangre, esto permite detectar enfermedades de la sangre.

Figura 8

Realización de hematocrito



Nota. Lectura de hematocrito.

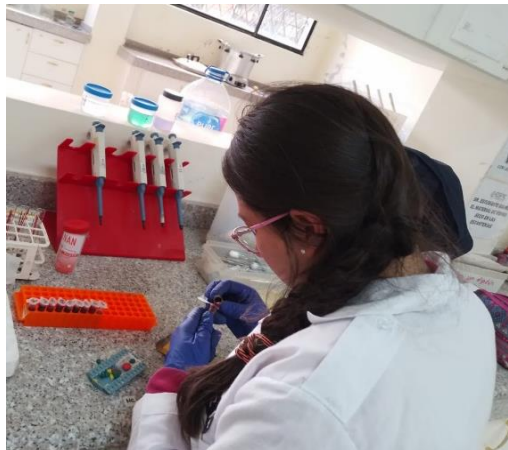
Autoría propia.

Obtención de plasma

Para la obtención del plasma de sangre se tomó 100 μ L de sangre de cada muestra con la ayuda de una micropipeta y se colocó en microtubos previamente rotulados, a continuación, se metió en la micro centrifuga por 10 minutos a 3600 rpm.

Figura 9

Obtención de plasma



Nota. Obtención de plasma. Autoría propia.

Análisis de albúmina

La lectura de este análisis se desarrolló mediante la utilización del kit Human Albumin liquicolor, donde se colocó 1 mL de reactivo en cada tubo de ensayo previamente etiquetado, adicionalmente en los tubos se colocó 10 µL de plasma sanguíneo de cada muestra, mientras que a un tubo se adiciono 10 µL del estándar.

Las muestras deben ser incubadas a 20 – 25 °C por un lapso de 5 minutos. Estas muestras fueron leídas a través de un espectrofotómetro a 578 nm, el cual fue encerado con el blanco y calibrado con el estándar, para el análisis se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Albúmina (g. dL}^{-1}\text{)} = 4 X \frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Estándar}}$$

Análisis de proteínas totales

Este análisis mide el conjunto total de dos proteínas encontradas en la porción líquida del plasma, tanto albúmina y globulina. Esta lectura se realizó utilizando el kit Human Total Protein liquicolor. Donde se colocó 1 mL de reactivo en los tubos de ensayo previamente etiquetados, el primer tubo corresponde al blanco, el segundo tubo pertenece al estándar en el cual se adiciono 20 µL del estándar, mientras que en los demás tubos se debe añadió 20 µL del plasma sanguíneo. Las muestras deben ser incubadas por un lapso de 10 minutos a 20 a 25 °C, las lecturas se hicieron a través de un espectrofotómetro a 546 nm, que fue calibrado con el estándar y encerado con el blanco. Para el análisis se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Proteína total (g. dL}^{-1}\text{)} = 8 X \frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Estándar}}$$

Análisis de globulina

Para el análisis de globulina se trabajó con la cantidad de albúmina y proteínas totales previamente obtenidas en las pruebas de laboratorio, de esta forma se aplicó la fórmula:

$$\text{Globulina} = \text{Proteínas totales} - \text{Albúmina}$$

Conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos

Para realizar el conteo de glóbulos rojos y blancos se debe emplear la solución de Natt-Herrick, para ser usada como mancha y diluyente. Se utilizó una dilución 1:200 de la sangre, mediante la utilización de una micropipeta para añadir 5 μL de sangre a 1 ml de la solución para después ser mezclada, con la sangre diluida se depositó 20 μL en una cámara de recuento de Neubauer. Se dejó en reposo durante 5 minutos, para luego ser observada en el microscopio para realizar el recuento con el lente de 40x. El conteo de eritrocitos se realizó en los cinco cuadrados, situados en las cuatro esquinas y el cuadro central del retículo central de la cámara, mientras que el conteo leucocitario se realizó en los cuadros centrales grandes.

El número de eritrocitos contabilizados se multiplicó por 10000 y fue expresado en $\text{cél} \times 10^6 / \mu\text{L}$, mientras que el número de leucocitos contados se multiplicó por 2000 y se expresó en $\text{cél} \times 10^4 / \mu\text{L}$.

Diferenciación leucocitaria

Para la diferenciación leucocitaria se realizó un frotis sanguíneo. En el borde de un portaobjetos se colocó 2.5 μL de sangre entera, con ayuda de un extensor se extendió la sangre por el portaobjetos, se dejó secar y se fijó la muestra con etanol, posteriormente se hizo la tinción de la muestra con colorante Giemsa. Se observó en el microscopio el frotis sanguíneo, se realizó la identificación y conteo de 100 glóbulos blancos y se procedió a calcular el porcentaje de linfocitos, monocitos, basófilos, neutrófilos y eosinófilos.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa Infostat para realizar el análisis estadístico con un nivel de confiabilidad del 95% y un margen de error del 5%, en primer lugar se analizó la normalidad y homocedasticidad de los datos, se realizó una prueba no paramétrica Kruskal y Wallis para las variables hematocrito, albúmina, proteína, globulina, conteo de glóbulos blancos y conteo de glóbulos rojos para observar si en los resultados existieron diferencias significativas entre tratamientos y entre fechas de análisis de laboratorio.

Para el caso de los resultados de diferenciación leucocitaria se trabajó con el software Excel para obtener el porcentaje de linfocitos, monocitos, basófilos, neutrófilos y eosinófilos existentes en cada tratamiento y si existió una diferencia entre los análisis.

Adicionalmente se utilizó el programa Infostat para obtener los resultados de medidas resumen como la media y la desviación estándar de las variables, datos importantes para realizar y obtener la discusión del estudio.

Figura 10

Programa utilizado para análisis estadístico

Caso	DIAS	MUESTRA	REPETICION	Hematocrito	Albumina	Proteina	Globulina	RBC	WBC	RABS
1	0	TO	1	32,00	2,76	4,32	1,56	220000	60000	
2	0	TO	2	30,30	2,75	4,68	1,93	2750000	38000	
3	0	TO	3	22,00	2,38	4,50	2,12	1850000	44000	
4	0	TO	4	28,33	2,97	4,88	1,91	270000	18000	
5	0	TO	5	26,67	2,88	4,50	1,62	1120000	18000	
6	0	T1	1	26,00	2,44	4,14	1,70	920000	36000	
7	0	T1	2	28,00	2,71	3,76	1,05	410000	24000	
8	0	T1	3	17,00	1,86	5,23	3,37	340000	26000	
9	0	T1	4	33,67	2,11	4,42	2,31	510000	36000	
10	0	T1	5	5,00	1,85	3,71	1,86	630000	30000	
11	21	TO	1	35,00	2,84	3,93	1,09	7670000	18000	
12	21	TO	2	37,00	2,41	4,25	1,84	8620000	12000	
13	21	TO	3	35,00	3,07	3,84	0,77	8580000	14000	
14	21	TO	4	37,00	2,97	5,28	2,31	7200000	28000	

Nota. Programa utilizado para la realización de los análisis estadísticos del experimento. Autoría propia.

Modelo experimental hematología básica

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Hematología básica de la ij -ésima unidad experimental

μ = media general de la hematología básica en la población

T_i = efecto del i -ésimo tratamiento sobre la hematología básica

e_{ij} = error experimental asociado a la ij -ésima unidad experimental

Modelo experimental proteínas plasmáticas

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Proteínas plasmáticas de la ij-ésima unidad experimental

μ = media general de proteínas plasmáticas en la población

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento sobre las proteínas plasmáticas

e_{ij} = error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diferenciación leucocitaria

Linfocitos

El porcentaje de linfocitos en el tratamiento 0 y en el tratamiento 1 se encontraron sobre el rango ideal en el día 0 cuando se comenzó con la fase experimental de acuerdo a los valores registrados por Yaguna (2020), donde el porcentaje de linfocitos se encontró entre el 45 y el 65%, debido al aumento de las cantidades de linfocitos se presumía la presencia de una infección viral, sin embargo, en el día 21, 42 y 63 se redujo el porcentaje como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3

Porcentaje promedio de linfocitos por tratamiento y días

Días	0	21	42	63
T0	81,8	69,9	68,4	62,2
T1	80,7	73,2	68,1	62,8

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento 1. Autoría propia.

Sin embargo, en la prueba de comparaciones no paramétrica de Kruskal y Wallis no existieron diferencias significativas entre los tratamientos.

Monocitos

Yaguna (2020), reportó un porcentaje de monocitos entre 6,35 y 13% en su estudio de la estimación de parámetros hematológicos en corderos durante la fase de cría en Córdoba. En la Tabla 4 se puede observar los resultados de los porcentajes de monocitos obtenidos en este estudio, donde los resultados del tratamiento 1 se encuentran dentro de los niveles óptimos, sin embargo en el tratamiento 0 en los días 21, 42 y 63 existió un incremento en los niveles de monocitos, debido a sus funciones inmunorreguladoras y de fagocitosis se podría señalar que

hubo un mayor número de monocitos debido a que existía una destrucción de bacterias o microorganismos complejos como hongos o protozoarios en animales que no estaban consumiendo el probiótico, según lo señalado por Herrera y Unda (2021). En el análisis estadístico no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla 4

Porcentaje promedio de monocitos por tratamiento y días

Días	0	21	42	63
T0	5,8	14,3	13,5	17,0
T1	5,9	9,0	7,0	11,6

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento 1. Autoría propia.

En la prueba de comparación de medias no paramétrica de Kruskal y Wallis para el caso de monocitos no existieron diferencias significativas entre los animales bajo el tratamiento 0 y el tratamiento 1.

Basófilos

En la Tabla 5 se observan los resultados del porcentaje de basófilos, donde los corderos bajo el tratamiento 0 presentan valores entre 0,6 – 2,3%, mientras que en el tratamiento 1 el rango fue de 0,4 - 1,2%. Según los valores de referencia utilizados por Mejía (2018), los porcentajes de basófilos oscilan entre el 0 y el 4%, basándonos en estos valores, los corderos bajo el tratamiento 0 y el tratamiento 1 se encuentran dentro de este rango, sin evidencias estadísticas de que exista una diferencia significativa entre los tratamientos para el caso de basófilos. Teniendo presente que el aumento de la cantidad de estas células se da en cuadros alérgicos, se determinó que dentro del experimento no existió alergias en los animales de los dos tratamientos. Teniendo muy presente que los basófilos y eosinófilos forman parte de los leucocitos conocidos como granulocitos. Los basófilos son un tipo de leucocito que tiene una función relevante en la protección inmunitaria y la reparación de heridas.

Tabla 5*Porcentaje promedio de basófilos por tratamiento y días*

Días	0	21	42	63
T0	1,5	1,9	2,3	0,6
T1	1,2	0,7	0,5	0,4

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1. Autoría propia.

En la prueba de comparación de medias no paramétrica de Kruskal y Wallis no existieron diferencias significativas entre los tratamientos 0 y 1.

Neutrófilos

Los neutrófilos al ser la primera línea de defensa de los organismos, cumplen el papel de fagocitosis. En la Tabla 6, se muestran los resultados del porcentaje de neutrófilos, donde el rango se encuentra entre 7.1 a 19.8%, estos datos se encontraron dentro de la normalidad durante toda la fase experimental en los dos tratamientos, ya que no hubo diferencias significativas. Yaguna (2020), registro en su investigación porcentajes de neutrófilos que varían entre el 5 y el 45%, valores similares a los obtenidos en este estudio. Utilizando los valores de referencia de López (2017), donde el promedio de neutrófilos fue 36,20%, se llegó a la conclusión que no existió la presencia de infecciones graves sobre los animales.

Tabla 6*Porcentaje promedio de neutrófilos por tratamiento y días*

Días	0	21	42	63
T0	7,1	10,4	9,0	14,0
T1	7,7	12,0	19,7	19,8

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1. Autoría propia.

Para el caso de neutrófilos, en la prueba de comparación de medias no paramétrica de Kruskal y Wallis no existieron diferencias significativas entre los tratamientos 0 y 1.

Eosinófilos

En la Tabla 7, se visualizan los porcentajes promedio de eosinófilos en el tratamiento 0 y en el tratamiento 1, inicialmente el tratamiento 1 tuvo un porcentaje de 3,8 el cual fue incrementando hasta alcanzar un promedio de 6,8% en el día 42, al llegar al día 63 (21 días de retiro del probiótico) el promedio disminuyó a 6,2%. Valores similares a los obtenidos por Mejía (2018), donde los valores de referencia para el caso de eosinófilos oscilan entre el 0 y el 6%, los valores se encontraron dentro del rango normal en el experimento y no se presentaron diferencias significativas entre los dos tratamientos.

Tabla 7

Porcentaje promedio de eosinófilos por tratamiento y días

Días	0	21	42	63
T0	4,5	5,1	4,8	5,3
T1	3,8	3,5	6,8	6,2

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1. Autoría propia.

En la prueba de comparación de medias no paramétrica de Kruskal y Wallis no existieron diferencias significativas entre los animales bajo el tratamiento 0 y el tratamiento 1 para el caso de eosinófilos.

Hematocrito

Los valores normales de hematocrito en ovinos se encuentran entre 28 a 40%. Se puede observar en la Tabla 8 que al iniciar en ambos tratamientos los hematocritos se encontraban bajos, sin embargo, a partir del día 21 existió un incremento en los valores de hematocrito en los dos tratamientos hasta terminar con la fase experimental. Las medias se encontraron entre 32%, valores similares a los obtenidos por Angulo *et al.* (2011), donde la media general fue 31,24% en ovinos criollos, de igual forma Yaguna (2020), registro en ovinos criollos en la fase de cría un hematocrito promedio de 31,60%.

Tabla 8*Porcentaje promedio de hematocrito por tratamiento y días*

Días	Tratamiento	Medias (%)	D.E.
0	T0	27,86	3,84
0	T1	26,97	11,20
21	T0	35,40	1,67
21	T1	30,20	8,17
42	T0	33,53	2,08
42	T1	34,20	3,41
63	T0	30,90	7,78
63	T1	31,64	3,93

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1, medias en porcentajes, D.E (Desviación estándar).

Autoría propia.

Tabla 9*Análisis estadístico de hematocrito por tratamiento y días*

Días/Tratamiento	Medias (%)			
0:T1	21,93	A		
0:T0	27,86	A	B	
63:T1	31,64	A	B	C
21:T1	30,20	A	B	C
63:T0	30,90	A	B	C
42:T0	33,53		B	C
42:T1	34,20			C
21:T0	35,40			C

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Autoría propia.

La prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis presentados en la Tabla 9, arrojo como resultados que si existieron diferencias significativas entre los animales del tratamiento 0 y del tratamiento 1 y entre fechas de análisis.

Albúmina

En Tabla 10 se muestran los valores obtenidos en este estudio, donde el promedio está dentro del rango de 1,96 – 2,81 $g. dL^{-1}$. Ramos *et al.* (1993), registro en corderos valores promedio de albúmina de 3,54 $g. dL^{-1}$ con una desviación estándar de $\pm 0,41$. En este caso, no se pudo contrastar con el autor debido a que no se encontró estudios bajo la misma condición con la que se trabajó, por esta razón existió una variación en la cantidad de albúmina en este estudio con relación al autor.

Tabla 10

Porcentaje promedio de albúmina por tratamiento y días

Días	Tratamiento	Medias ($g. dL^{-1}$)	D.E.
0	T0	2,75	0,22
0	T1	2,19	0,38
21	T0	2,81	0,25
21	T1	2,53	0,39
42	T0	2,42	0,44
42	T1	2,19	0,38
63	T0	1,96	0,39
63	T1	2,05	0,25

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1, medias en $g. dL^{-1}$, D.E (Desviación estándar). Autoría propia.

Tabla 11*Análisis estadístico de albúmina por tratamiento y días*

Días/Tratamiento	Medias ($g. dL^{-1}$)		
63:T0	1,96	A	
63:T1	2,05	A	
42:T1	2,19	A	
0:T1	2,19	A	
42:T0	2,42	A	B
21:T1	2,53	A	B
0:T0	2,75		B
21:T0	2,81		B

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Autoría propia.

Durante la fase experimental existieron diferencias significativas entre los tratamientos para la variable albúmina, si bien los dos tratamientos se mantuvieron en un rango normal, el tratamiento 0 presentó cambios extremos a diferencia del tratamiento 1 donde el nivel de albúmina se mantuvo constante para los animales bajo el efecto del probiótico.

Proteínas totales

En este estudio los promedios de proteínas totales en plasma estuvieron en un rango de 3,51 – 6,29 $g. dL^{-1}$. Mientras que los valores referenciales que se utilizaron para determinar la cantidad de proteínas totales, se obtuvieron del manual de química sanguínea de Zapata (2020), donde los promedios oscilan entre 5,2 – 7,9 $g. dL^{-1}$ en ovinos. Si bien los rangos en todos los tratamientos y todas las fechas no se encontraron dentro de los niveles referenciales, pero hay que tener en cuenta que en este estudio se está observando el efecto de un probiótico, por esta razón existió una diferencia entre los valores del manual y los obtenidos en este estudio. Cabe recalcar que en el día 42 existió un incremento en la cantidad de proteínas totales en el tratamiento 1, como se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12*Porcentaje promedio de proteínas totales por tratamiento y días*

Días	Tratamiento	Medias (g. dL ⁻¹)	D.E.
0	T0	4,58	0,21
0	T1	4,25	0,62
21	T0	4,30	0,57
21	T1	3,51	0,74
42	T0	4,50	0,40
42	T1	6,29	1,33
63	T0	3,76	0,68
63	T1	3,98	0,62

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1, medias en g. dL⁻¹, D.E (Desviación estándar). Autoría propia.

Tabla 13*Análisis estadístico de proteína total por tratamiento y días*

Días/Tratamiento	Medias (g. dL ⁻¹)				
21:T1	3,51	A			
63:T0	3,76	A	B		
63:T1	3,98	A	B	C	
0:T1	4,25	A	B	C	
21:T0	4,30	A	B	C	D
42:T0	4,50		B	C	D
0:T0	4,58			C	D
42:T1	6,29				D

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Autoría propia.

En el caso de las proteínas totales existieron diferencias significativas entre los tratamientos y entre los días en las que se realizaron las pruebas de laboratorio. La prueba no

paramétrica nos muestra que existió una mayor cantidad de proteínas totales con el tratamiento 1 a los 42 días del experimento y el día con menor cantidad de proteínas totales fue el día 21 en el tratamiento 1, es decir que existió un incremento radical del nivel de proteínas en el tratamiento 1 a lo largo de 21 días con aplicación del probiótico.

Globulina

En la Tabla 14, se observa los valores promedios de globulinas obtenidas en este estudio, que se mantuvieron entre $0,98 - 4,10 \text{ g. dL}^{-1}$ durante toda la fase experimental, datos similares a los obtenidos por Cárdenas *et al.* (2023), donde los valores se encontraron entre $1,23 - 5,13 \text{ g. dL}^{-1}$. Es decir que la globulina se mantuvo dentro de los rangos esperados durante la fase experimental.

Tabla 14

Porcentaje promedio de globulina por tratamiento y días

Días	Tratamiento	Medias (g. dL^{-1})	D.E.
0	T0	1,83	0,23
0	T1	2,06	0,86
21	T0	1,50	0,61
21	T1	0,98	0,87
42	T0	2,08	0,57
42	T1	4,10	1,19
63	T0	1,80	0,36
63	T1	1,93	0,56

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1, medias en g. dL^{-1} , D.E (Desviación estándar). Autoría propia.

Tabla 15*Análisis estadístico de globulina por tratamiento y días*

Días/Tratamiento	Medias			
	(g. dL⁻¹)			
21:T1	0,98	A		
21:T0	1,50	A	B	
63:T0	1,80	A	B	
0:T0	1,83	A	B	
63:T1	1,93	A	B	
0:T1	2,06	A	B	C
42:T0	2,08		B	C
42:T1	4,10			C

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Autoría propia.

La variable globulina de igual forma presentó diferencias significativas entre los tratamientos y entre días de evaluación. Existió una mayor cantidad de globulina en el día 42 con el tratamiento 1.

Conteo de glóbulos blancos

En este estudio con ovinos de raza Poll Dorset los resultados fueron que, al iniciar el experimento, el tratamiento 0 tuvo un promedio de 9,2 cél x 10⁴/ μL y para el tratamiento 1 fue 9,1 cél x 10⁴/ μL como se muestra en la Tabla 16. Durante la fase experimental las medias de los animales bajo el tratamiento 0 fueron más elevadas que los animales del tratamiento 1. A partir del día 21 al día 63 la cantidad de glóbulos blancos en todos los animales estuvieron dentro de los valores de referencia. Mejía (2018), en su estudio en ovinos criollos obtuvo una media de 6,9 cél x 10⁴/ μL con una desviación estándar de ± 1.

Tabla 16*Porcentaje promedio de conteo de glóbulos blancos por tratamiento y días*

Días	Tratamiento	Medias (cél x 10 ⁴ / μL)	D.E.
0	T0	9,2	1,7
0	T1	9,1	5,5
21	T0	8,7	6,2
21	T1	6,6	2,1
42	T0	8,4	3,3
42	T1	5,1	4,1
63	T0	5,7	2,1
63	T1	5,3	5,4

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1, medias en cél x 10⁴/ μL, D.E (Desviación estándar). Autoría propia.

Tabla 17*Análisis estadístico del conteo de glóbulos blancos por tratamiento y días*

Días/Tratamiento	Medias (cél x 10 ⁴ / μL)		
42:T1	5,1	A	
63:T1	5,3	A	
63:T0	5,7	A	B
21:T1	6,6	A	B
42:T0	8,4	A	B
21:T0	8,7		B C
0:T1	9,1		C
0:T0	9,2		C

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Autoría propia.

Para la variable glóbulos blancos se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, existiendo una menor cantidad de glóbulos blancos en el tratamiento 1.

Conteo de glóbulos rojos

En el conteo de glóbulos rojos, los primeros análisis tanto para el tratamiento 0 como para el tratamiento 1 se encontraron bajo el límite de normalidad como se muestra en la Tabla 18, según los rangos referenciales (7,7- 11,5 cél x 10⁶/ µL) utilizados por Mejía (2018).

La misma autora menciona que en sus resultados el promedio de glóbulos rojos fue de 9,6 cél x 10⁶/ µL, valores similares a los obtenidos en esta investigación donde el promedio para el tratamiento 0 fue de 9,05 cél x 10⁶/ µL y de 8,55 cél x 10⁶/ µL para el tratamiento 1.

Hay que tener presente que su función es transportar oxígeno a los tejidos corporales e intercambiarlo por dióxido de carbono, el cual es transportado y eliminado por los pulmones. Los glóbulos rojos se forman en la médula ósea roja de los huesos.

Tabla 18

Porcentaje promedio de conteo de glóbulos rojos por tratamiento y días

Días	Tratamiento	Medias (cél x 10 ⁶ / µL)	D.E.
0	T0	7,6	1,07
0	T1	7,5	2,2
21	T0	10,3	6,1
21	T1	8,3	1,8
42	T0	8,2	2,8
42	T1	10,5	3,6
63	T0	10,1	3,4
63	T1	7,9	5,7

Nota. T0: tratamiento 0, T1: tratamiento1, medias en cél x 10⁶/ µL, D.E (Desviación estándar). Autoría propia.

Tabla 19

Análisis estadístico del conteo de glóbulos rojos por tratamiento y días

Días/Tratamiento	Medias (cél x 10⁶/ μL)		
0:T1	7,5	A	
0:T0	7,6	A	
63:T1	7,9	A	B
21:T1	8,3		B
42:T0	8,2		B
63:T0	10,1		B
21:T0	10,3		B
42:T1	10,5		B

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Autoría propia.

Existieron diferencias significativas entre la primera prueba de laboratorio y las tres pruebas posteriores, existiendo un aumento de glóbulos rojos a lo largo del experimento, sin embargo, en los días 21, 42 y 63 no existieron diferencias significativas. Adicionalmente se observa una disminución de glóbulos rojos en el tratamiento 1 en el día 63. Según la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis existió un mayor número de glóbulos rojos a los 42 días con el tratamiento 1.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- En el presente estudio fue posible determinar el efecto de la adición de un probiótico aportador de cepa de *Bacillus subtilis* sobre parámetros sanguíneos en corderos en la Hacienda “El Prado” mediante el análisis de hematología básica como hematocrito, conteo de glóbulos rojos y blancos y diferenciación leucocitaria al igual que el análisis de proteínas plasmáticas como albúmina, proteínas totales y globulina. Se observó el efecto en los dos tratamientos existiendo diferencias significativas en diferentes parámetros del estudio.
- Se realizó un análisis de hematología básica, se observaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento: la media de hematocrito en el tratamiento 0 fue de 31,92%, mientras que en el tratamiento 1 fue de 30,7%. En cuanto al recuento de glóbulos rojos, también se identificaron diferencias significativas. El promedio en el tratamiento 0 fue de 9,05 células x 10⁶/μL, mientras que en el tratamiento 1 fue de 8,55 células x 10⁶/μL. Respecto al recuento de glóbulos blancos, se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. La media de glóbulos blancos en el tratamiento 0 fue de 8 células x 10⁴/μL, mientras que en los corderos del tratamiento 1 fue de 6,53 células x 10⁴/μL. En relación con la diferenciación leucocitaria, no se encontraron diferencias significativas en los subgrupos de linfocitos, monocitos, basófilos, eosinófilos y neutrófilos.
- En cuanto a las proteínas plasmáticas, se evidenciaron diferencias significativas en los niveles de globulina, albúmina y proteínas totales. En el caso de la albúmina, los valores en el tratamiento 0 variaron entre 1,93 y 2,81 g. dL⁻¹, mientras que en el tratamiento 1 se encontraron en el intervalo de 2,05 a 2,53 g. dL⁻¹. Respecto a la globulina, en el

tratamiento 0 los valores fluctuaron entre 1,5 y 2,08 $g. dL^{-1}$, mientras que en el tratamiento 1 se extendieron desde 0,98 hasta 4,1 $g. dL^{-1}$. En relación con las proteínas totales, los ejemplares del tratamiento 0 presentaron valores en el rango de 3,76 a 4,58 $g. dL^{-1}$, mientras que los del tratamiento 1 se ubicaron entre 3,51 y 6,29 $g. dL^{-1}$.

- Por lo anteriormente expuesto, se puede indicar que, dentro de algunos parámetros sanguíneos como hematocrito, proteínas plasmáticas, conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos, si se mejoraron por la adición del probiótico en la dieta de los corderos.

Recomendaciones

- Es importante destacar que, en función de los resultados observados en hematología básica y proteínas plasmáticas, se recomienda un análisis más profundo para comprender mejor las implicaciones de estas diferencias significativas. Sería beneficioso investigar cómo estas variaciones en los niveles de albúmina, globulina, proteínas totales y hematología básica podrían estar relacionadas con los tratamientos aplicados en el estudio. Además, considerando que las proteínas plasmáticas desempeñan roles cruciales en diversas funciones biológicas, una mayor exploración podría proporcionar una comprensión más completa de los efectos de los tratamientos y su influencia en la salud de los animales.
- Con los resultados obtenidos en esta investigación, si se recomienda la adición del probiótico en la dieta de los corderos en el momento del destete.

Bibliografía

- Álvarez, P. (2010). Análisis de hemograma: Hematología Básica. *Estudios sanguíneos*, 1(1), 1-30. <http://www.vetpraxis.net/wp-content/uploads/2010/10/1.hematologia-basica.pdf>
- Angulo, L. M., Cardona, J. y Vergara Garay, O. (2011). Analysis of Metabolic Profile in Pregnant Creole Sheep in Extensive Grazing Conditions. *Revista científica FCV*, 21(4), 335-339. <https://www.redalyc.org/pdf/959/95918727008.pdf>
- Barrero, M. y Riera, J. (2001). La proteinograma en medicina clínica. *Laboratorio de Bioquímica Clínica. Hospital de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat. Barcelona*, 38(9), 404–409. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-el-proteinograma-medicina-clinica-13022954>
- Bencomo, L., Álvarez, Y., Medina, N., Pérez, J. y González, I. (2008). Obtención de sangre total ovina con fines diagnósticos. *Revista electrónica de veterinaria*, 9(3), 1-7. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63612840012.pdf>
- Brito, F., Yamazaki, M., Espinosa, S., Vázquez, Ó., Huerta, J. y Berrón, R. (2003). Eosinófilos: Revisión de la literatura. *Alergia, asma e inmunología*, 12(2), 56-62. <https://www.medigraphic.com/pdfs/alergia/al-2003/al032d.pdf>
- Cajilema Zhulema, D. A. (2017). *Evaluación de la condición corporal y el rendimiento a la canal de los ovinos faenados en el camal municipal de la ciudad de Riobamba*. [Trabajo de Titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/7210>
- Cárdenas, L., Sánchez, C., Ruíz, A., Pérez, G., López, R., Vite, C. y López, R. (2023). Effect of selenium source on productive behavior, serum and muscle selenium content, and serum level of albumin, α -, β - and δ -globulins in Pelibuey sheep. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 14(2), 476–487. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i2.6244>
- Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón. (2018). Manejo y conservación de muestras. *Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón*. 1(1), 1-3.

- https:// analisisclnicos.ccmiju.com/images/stories/catalogo-pruebas/MANEJO_Y_CONSERVACION_DE_MUESTRAS.pdf
- Cruz, R. (2017). Manual de producción ovina. *Sitio Argentino de producción animal*, 1(1), 1-22.
https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina/270-manual.pdf
- Delgadillo, L., Bañuelos Rómulo, Gallegos, P., Meza, C. y Valladares, B. (2022). Bacterias y protozoarios ruminales presentes en ovinos suplementados con probióticos identificados por conteo y PCR punto final. *Abanico Veterinario*, 12(1), 1-18.
<https://doi.org/10.21929/abavet2022.6>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación estudio FAO alimentación y nutrición. *FAO*, 92(5), 1-14. <https://www.fao.org/3/a0512s/a0512s00.pdf>
- Gallo, C. (2014). *Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico veterinario* [Trabajo de Titulación, Universidad Nacional Agraria].
- González Cara, C. A. (2017). *Validación del analizador hematológico Lasercyte en burros sanos* [Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba]. <http://hdl.handle.net/10396/14823>
- Herrera Arias, L., y Unda López, M. (2021). *Determinación de parámetros hematológicos y química sanguínea en ovinos*. [Tesis de Grado, Universidad de los Llanos].
<https://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/2813>
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (2021). *Número de cabezas de ganado ovino y ventas*. Estudios a nivel nacional del Ecuador en la producción agropecuaria,
https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/webinec/Estadisticas_agropecuarias/espac/Publicacionesespac/%C3%8Dndice%20de%20publicaci%C3%B3n%20ESPAC%202021.xlsx

- Instituto Nacional de Innovación Agraria. (2010). INIA tierra adentro. Zona mediterránea central de Chile: Alcances productivos de razas y cruza ovina. *Revista especial de ganadería*, 1(1) 60-61. <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/5159>
- Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A. M., Alloni, G., Azevedo, V., Bertero, M. G., Bessiè Res, P., Bolotin, A., Borchert, S., Borriss, R., Boursier, L., Brans, A., Braun, M., Brignell, S. C., Bron, S., Brouillet, S., Bruschi, C. V, Caldwell, B. y Danchin, A. (1997). The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature Macmillan Publishers Ltd*, (390). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9384377/>
- López Puigdollers, D. (2017). *Caracterización y clasificación de glóbulos blancos mediante descriptores locales de imágenes* [Tesis de Maestría, Universidad Jaume I]. <https://docplayer.es/73254193-Characterizacion-y-clasificacion-de-globulos-blancos-mediante-descriptores-locales-de-imagenes.html>
- Mejía Vasquez, G. (2018). *Valores hematológicos de referencia en ovinos (Ovis aries) criollos de Cajamarca* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Cajamarca]. <http://hdl.handle.net/20.500.14074/2736>
- Molina, A. (2019). Probiotics and their mechanism of action in animal feed. *Agronomía Mesoamericana*, 30(2), 601–611. <https://doi.org/10.15517/am.v30i2.34432>
- Mookiah, S., Sieo, C. C., Ramasamy, K., Abdullah, N. y Ho, Y. W. (2014). Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 341–348. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6365>
- Quishpi Coronel, J. H, (2021). *Situación actual de la producción ovina en el Ecuador*. [Trabajo de Titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16261>
- Ramos, J., Gómez, J. y Verde, M. (1993). Proteínas séricas y fracciones proteicas en ovejas y corderos de raza Rasa Aragonesa: *Valores de referencia y modificaciones fisiológicas*.

- In *Acta Veterinaria*, 5(1), 5-9. https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/14292/1/0214-039X_5_27.pdf
- Rodríguez Muñoz, Y. (2012). *Caracterización de subpoblaciones de monocitos proinflamatorios y proangiogénicos en la sangre periférica de pacientes con hepatitis crónica C: implicación en el establecimiento y progresión de la enfermedad*. [Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid]. <http://hdl.handle.net/10486/11239>
- Rossi Rosa, A. S. (2017). *Caracterización del hemograma en ovinos de raza Corriedale alimentados sobre campo natural*. [Tesis de Grado, Universidad de la República Uruguay]. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/24950/1/FV-32840.pdf>
- Sáenz, A. (2007). Manual de ovinos y caprinos. *Universidad Nacional Agraria Facultad de Ciencias Animales*, 2(1), 1-57. <https://cenida.una.edu.ni/textos/nl01s127o.pdf>
- Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad Alimentaria. (2016). Manual de recolección, conservación y envío de muestras al laboratorio para diagnóstico de enfermedades comunes de los animales. *Manual de recolección*, 1(1), 1-7. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Self-declarations/Archives/Anexo_4._Manual_de_toma_y_remision_de_muestras.pdf
- Soriano Cabré, M. (2016). *Estudio de las alteraciones hematológicas en ovejas afectadas por diferentes patologías* [Tesis de Grado, Universidad Zaragoza]. <https://zaguan.unizar.es/record/60450>
- Sun, P., Wang, J. Q. y Deng, L. F. (2013). Effects of *Bacillus subtilis* natto on milk production, rumen fermentation and ruminal microbiome of dairy cows. *The Animal Consortium*, 7(2), 216–222. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001188>
- Universidad de Buenos Aires. (2021). *Seminario de Histología, Embriología, Biología Celular y Genética* [Diapositivas Power Point]. <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2020-03/SH2%202020%20-%20Seminario%20%20Tecnica%20Histologica.pdf>

- Ungerfer, R. (2016). Destete artificial en ovinos: respuesta de estrés y bienestar animal. *Revision Artificial weaning in sheep: stress response and animal welfare. ANIMAL Rev México Ciencias Pecuarias* 7(3), 361-375.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242016000300361
- Usca Farinango, W. A. (2022). *Perfil bioquímico sanguíneo de ovinos (Ovis aries) en la provincia de Chimborazo* [Trabajo de Titulación, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17542>
- Vega, G. (2009). Linfocitos. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 52(6), 276-277.
www.medigraphic.comwww.medigraphic.org.mx
- Yaguna Guerra, C. J. (2020). Estimación de parámetros hematológicos en corderos (*Ovis aries*) de pelo, durante la fase de cría en Córdoba [Tesis de Pregrado, Universidad de Córdoba]. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/5097>
- Zapata, M. (2020). Manual de química sanguínea veterinaria. *Suiza Vet Diagnostico veterinario*. 1(1), 13–24. <http://www.suizavet.com/manuales/bioquimica.pdf>