

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



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.

Ovinos

Son pequeños rumiantes. Generan diversos productos como carne, leche, lana y estiércol.

Están adaptados al pastoreo sobre praderas naturales, su alimentación se basa en plantas forrajeras, manteniéndose muy bien con pastos cortos y finos.

En Ecuador existen 528828 cabezas de ganado ovino, registrando una mayor concentración en la Sierra con el 93.73%, le sigue la Costa con 5.94% y la Amazonia registra una el 0.33%.

- Chimborazo
- Cotopaxi
- Azuay
- Tungurahua

Raza Poll Dorset



Es 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, produce un vellón de lana mediana. Es una raza prolífica, la cual posee longevidad y produce corderos fuertes de crecimiento y madurez mediana.

Se han utilizado en la nutrición de rumiantes, generando un efecto positivo al solucionar los desbalances debido a cambios dietéticos en el rumen.

Probióticos

Mejoran la ingesta de materia seca y la productividad, aumenta la digestibilidad de la fibra y estabilizan el pH del rumen.

Cambian la dinámica de la población microbiana, disminuyendo el crecimiento de microorganismos patógenos y promoviendo el crecimiento de la microflora beneficiosa.



Bacillus subtilis

Es una valiosa fuente de enzimas industriales, como amilasas y proteasas.

Ha demostrado características probióticas ya que inhibe patógenos, como *Clostridium*, *Streptococo* y *Escherichia coli*. Es una bacteria de gran importancia por su papel en el control de enfermedades infecciosas, mejorando así rendimiento productivo en los animales

Parámetros bioquímicos sanguíneos

Proteínas totales

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, las globulinas y las albuminas.

Globulina

Las globulinas actúan como receptoras de membranas en los linfocitos β , y son empleados por el sistema inmune para identificar y neutralizar virus y bacterias

Albumina

Juegan un papel importante en el transporte de bilirrubina, aniones, ácidos grasos, varias hormonas. Ayuda a mantener la sangre sin que se filtre de los vasos sanguíneos a otros tejidos.

Hematocrito

Es la cantidad de glóbulos rojos en una masa de volumen respecto al volumen total de la sangre.

Conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos

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. Luego de cargar la cámara de Neubauer se debe permitir que las células se asienten para poder contarlas.

Diferenciación leucocitaria

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

Neutrófilos

Son la primera defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas.

Basófilos

Reacción de hipersensibilidad como alergias y anafilaxia

Eosinófilos

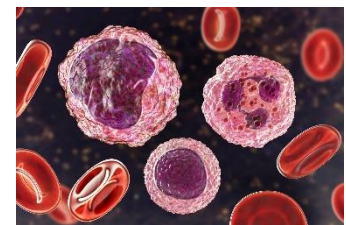
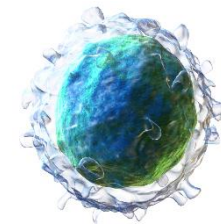
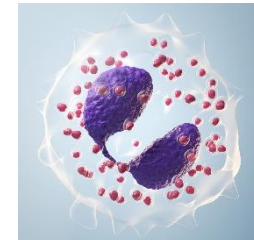
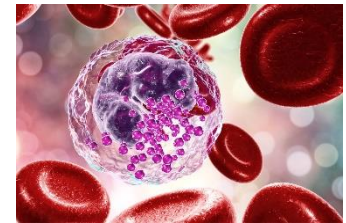
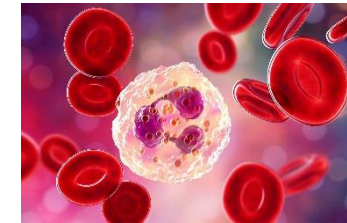
Combaten las sustancias relacionadas con una infección parasitaria que el sistema inmunitario ha marcado para destruir.

Linfocitos

Linfocitos T son los responsables de la inmunidad celular. Los linfocitos B son los responsables de la inmunidad humoral.

Monocitos

Migran a los tejidos y configuran el sistema fagocítico mononuclear así que ayudan a destruir patógenos.



Ubicación

Hacienda “El Prado”, Carrera Agropecuaria de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, que se localiza en la parroquia de San Fernando, Cantón Rumiñahui, Provincia Pichincha.



Trabajo de campo

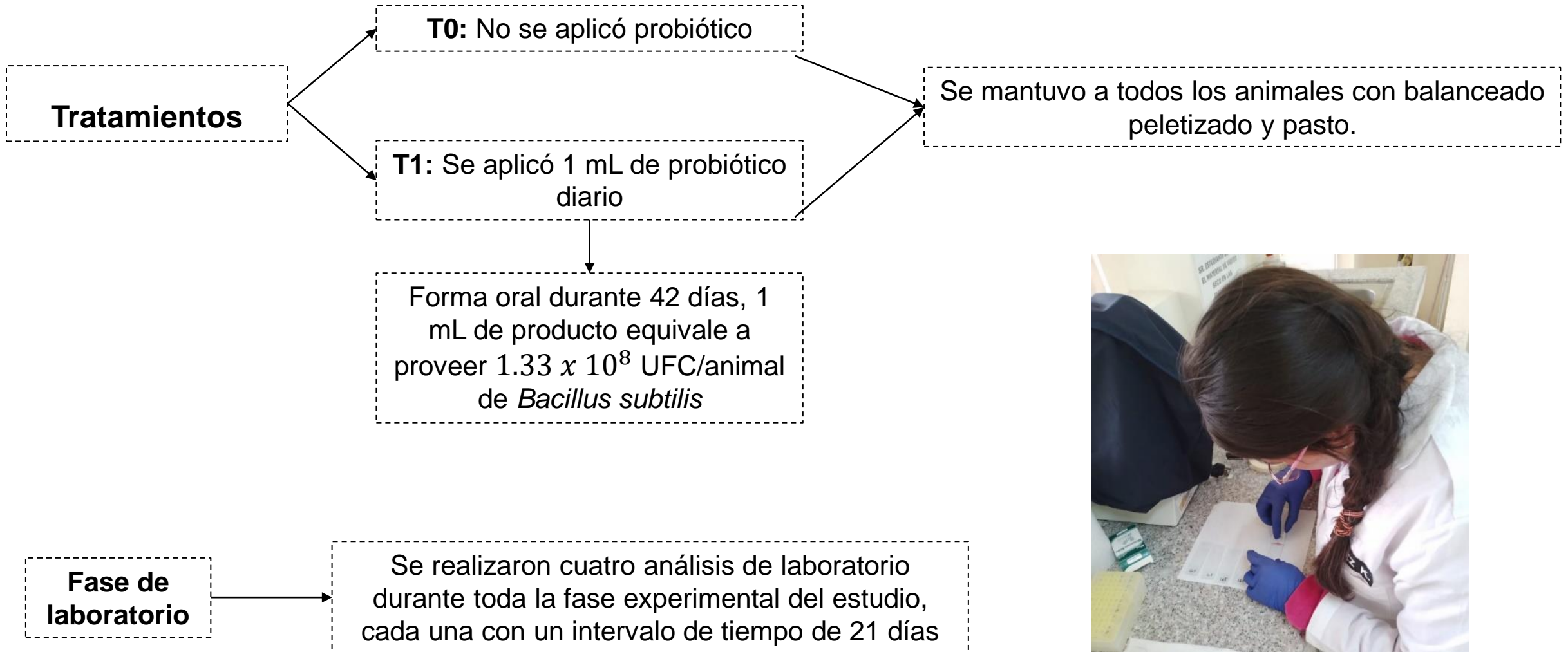


Fase de laboratorio

Tamaño de la muestra

Se utilizaron 10 corderos machos castrados, 5 animales por cada tratamiento.





Toma de muestras de sangre

Fueron tomadas en la mañana con los animales en ayuno, extrayendo la sangre de la vena yugular, se utilizó tubos tapa lila y se recolectó 3 mL.



Obtención de plasma

Se tomó 100 μ L de sangre de cada muestra y se colocó en microtubos, se centrifuga por 10 minutos a 3600 rpm.



Hematocrito

Las muestras se centrifugaron a 2700 rpm durante 10 minutos. Después se realizó la lectura de la columna de sangre



Análisis de proteínas totales

Se utilizó el kit Human Total Protein liquicolor. Las lecturas se hicieron a través de un espectrofotómetro a 546 nm

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

Análisis de albúmina

Se utilizó el kit Human Albumin liquicolor. Estas muestras fueron leídas a través de un espectrofotómetro a 578 nm

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

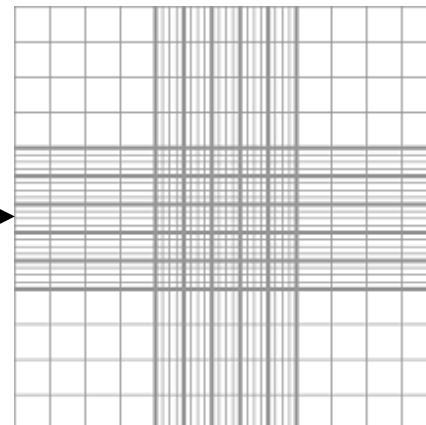
Análisis de globulina

Se trabajó con la cantidad de albúmina y proteínas totales previamente obtenidas

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

Conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos

Se empleó la solución de Natt-Herrick. Se depositó 20 μ L de la sangre diluida en una cámara de recuento de Neubauer.



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

Diferenciación leucocitaria

Se realizó un frotis sanguíneo, posteriormente se hizo la tinción de la muestra con colorante Giemsa. Se observó en el microscopio, 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%. 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 diferenciación leucocitaria se trabajó en Excel para obtener el porcentaje de linfocitos, monocitos, basófilos, neutrófilos y eosinófilos.

Neutrófilos

Neutrófilos %

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

Yaguna (2020), porcentaje entre el 5 y el 45%

Eosinófilos

Eosinófilos %

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

Mejía (2018), porcentajes oscilan entre el 0 y el 6%

Basófilos

Basófilos %

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

Mejía (2018), porcentajes oscilan entre el 0 y el 4%

Linfocitos

Linfocitos %

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

Yaguna (2020), porcentaje entre el 45 y el 65%

Monocitos

Monocitos %

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

Yaguna (2020) reporto un porcentaje de monocitos entre 6,35 y 13%

No se encontraron diferencias significativas en cada uno de los subgrupos

Días/Tratamiento	Medias (%)			
0:T1	26,97	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

Los valores normales de hematocrito en ovinos se encuentran entre 28 a 40%. 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 un hematocrito promedio de 31,60%.

Conteo de glóbulos blancos

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

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

Glóbulos rojos

RESULTADOS

Días/Tratamiento	Medias (cél x 10 ⁶ / 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

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.

Albumina

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

Globulina

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

Proteínas totales

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

Existieron diferencias significativas entre los tratamientos, el tratamiento 0 presentó cambios extremos a diferencia del tratamiento 1 donde el nivel de albúmina se mantuvo constante.

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.

Existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Hubo una mayor cantidad de proteínas totales con el tratamiento 1 a los 42 días.

- 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 y proteínas plasmáticas.
- No se encontraron diferencias significativas en la diferenciación de leucocitos en subgrupos como linfocitos, monocitos, basófilos, eosinófilos y neutrófilos.

	TRATAMIENTO 0	TRATAMIENTO 1	Unidades
Hematocrito	31,92	30,7	%
Glóbulos rojos	8,05	9,55	Cél x 10 ⁶ /uL
Glóbulos blancos	8	6,53	Cél x 10 ⁴ /uL

	TRATAMIENTO 0	TRATAMIENTO 1	Unidades
Albúmina	2,37	2,29	g.dL
Globulina	1,79	2,54	g.dL
Proteínas totales	4,17	4,9	g.dL

- 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.

Se recomienda realizar un análisis más detenido para entender mejor las diferencias significativas encontradas en los resultados de hematología básica y proteínas plasmáticas. Sería útil investigar cómo estas variaciones pueden estar relacionadas con los tratamientos utilizados en el estudio. Dado que las proteínas plasmáticas son importantes para varias funciones biológicas, explorar más a fondo podría arrojar luz sobre los efectos de los tratamientos y su impacto 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.



Ingeniera Jakeline Torres

Ingeniera Daysi Muñoz

Ingeniero Diego Vela

Doctor Edwin Pino

