

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**EFFECTO BENÉFICO DE LOS PROBIÓTICOS, EN EL COMPLEJO ENTÉRICO
NEONATAL, NIVEL DE IG SÉRICAS Y RECuento DE LEUCOCITOS, EN
CRÍAS DE ALPACAS (VICUGNA PACOS) DEL INIA -PUNO**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. ESPERANZA HANCCO VALERO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TESIS

Efecto benéfico de los probióticos, en el complejo entérico neonatal, nivel de Ig
séricas y recuento de leucocitos, en crías de alpacas (vicugna pacos) del INIA -
Puno

PRESENTADA POR:

Bach. ESPERANZA HANCCO VALERO

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE:

Mg. Enrique Calmet Uría

PRIMER MIEMBRO:

Mg. Sc. José Luis Málaga Pumarica

SEGUNDO MIEMBRO:

Mg. Sc. Diannett Benito Lopez

DIRECTOR:

Mg. Sc. Alberto Soto Quispe

ASESOR:

Mg. Sc. Oscar David Oros Butrón

Área : Salud Animal

Tema : Probióticos inmunoglobulinas en alpacas

Dedicatoria

A MIS PADRES

Ignacio Hanco Tupa

Sabina Damiana Valero Miranda

Por toda la confianza, cariño, paciencia y apoyo durante mi carrera, gracias por todo, los quiero mucho.

A MIS HERMANAS

Andrea Marleny por su cariño y apoyo brindado, gracias.

Agradecimientos

A mi querida Universidad Nacional del Altiplano – Puno, mi alma mater.

A mi Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por mi formación profesional.

Al centro de investigación y Producción INIA – Quimsachata y al proyecto 063 – PNIA por darme el 100% del financiamiento y las facilidades para realizar este trabajo de investigación.

Mi especial agradecimientos y gratitud a mi asesor. Mg. Sc. OSCAR DAVID OROS BUTRON por su apoyo en la elaboración de este proyecto, el tiempo, la paciencia y por sus consejos, gracias por todo.

Mi profundo agradecimiento al Mg. Sc.: Alberto Soto Quispe.

Mi profundo agradecimiento a los Dres.: Oscar Cárdenas Minaya y Rómulo Sapana, Julio Malaga por su apoyo y asesoramiento

Mi profundo agradecimiento a los Dres.: M. Agr. Enrique Calmet Uría, Mg. Sc. José Luis Málaga Pumarica y Mg. Sc. Diannett Benito López, quienes enriquecieron la presente publicación a través de sus lecturas, comentarios y sugerencias.

A todos mis verdaderos amigos (as): Juan Riquelme, Eddy, Juan, Raúl, Maricruz, Gaby.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	8
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
I.INTRODUCCIÓN	13
II.REVISIÓN DE LITERATURA.	15
2.1. MARCO TEORICO	15
2.1.1. Alpaca	15
2.1.2. El complejo entérico neonatal.	16
2.1.3. Causas de Mortalidad Neonatal	17
2.1.4. Enterotoxemia (Síndrome hemorrágico enterotoxemico).	17
2.1.5. Enteritis Infecciosa Neonatal	18
2.1.6. Probióticos.	18
2.1.7. Inmuglobulinas.....	19
2.1.8. Sangre.....	20
2.2. ANTECEDENTES.	25
2.2.1. Morbilidad y mortalidad neonatal.....	25
2.2.2. Determinación del tiempo de producción de Ig G crías de alpacas. ..	26
2.2.3. Efecto del plasma sanguíneo vía oral en la concentración de Ig G en la alpaca perinatas.....	27
2.2.4. Valores hematológicos, bioquímicos sanguíneos y urinarios en crías de alpacas Huacaya (Vicugna pacos) menores de dos meses.	28

2.2.5. Cambios hematológicos, bioquímica sanguínea y cortisol sérico en crías de alpacas de guanaco (lama guanicoe) en cautiverio desde el nacimiento al destete.....	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. Ubicación.....	29
3.2. Material Experimental.	29
3.2.1. Tamaño de Muestra.....	29
3.3. Materiales	30
3.3.1. Solución probiótica.....	30
3.3.2. Materiales de identificación.....	30
3.3.3. Materiales de medida.....	30
3.3.4. Material de laboratorio.	30
3.3.5. Reactivos de laboratorio.....	31
3.3.6. Materiales de escritorio.....	31
3.4. METODOLOGIA DE ESTUDIO.....	31
3.4.1. Probióticos:	31
3.4.2. Metodología del muestreo.....	33
3.4.3. Control de mortalidad y morbilidad de las crías.	33
3.4.4. Sulfato de Zinc.....	34
3.4.5. Recuento de leucocitario.....	35
3.4.6. Análisis Estadístico.	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1. TASA DE MORBILIDAD Y MORTALIDAD EN CRÍAS DE ALPACAS.....	37

4.1.1. Tasa de Morbilidad en crías de alpacas.	37
4.1.2. Tasa de mortalidad en crías de alpacas.	39
4.2. INMUNOGLOBULINA TOTAL.	40
4.3. SERIE BLANCA SANGUINEA.....	42
4.3.1. NEUTRÓFILOS.....	42
4.3.2. MONOCITOS SANGUINEO	44
4.3.3. LINFOCITOS	46
V. CONCLUSIONES.....	49
VI. RECOMENDACIONES	50
VII. REFERENCIAS	51
VIII. ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Tasa de morbilidad en crías de alpacas por efecto de probióticos ...	38
Figura 2: Tasa de mortalidad en crías de alpacas por efecto de probióticos ...	39
Figura 3: Niveles de inmunoglobulina en crías de alpacas.	41
Figura 4: Porcentaje de monocitos en crías de alpacas por efecto de probiotico.	43
Figura 5: Porcentaje de monocitos en crías de alpacas.....	45
Figura 6: Porcentaje de linfocitos en crías de alpacas por efecto de probiotico.	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de crías para el estudio	30
Tabla 2: tasa de morbilidad en crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata según suministro de probióticos.....	37
Tabla 3: Tasa de mortalidad en crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata según suministro de probióticos.	39
Tabla 4: Niveles de concentración de inmunoglobulina total en crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.....	41
Tabla 5: Proporción de neutrófilos en sangre de las crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.....	43
Tabla 6: Proporción de monocitos en sangre de las crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.....	45
Tabla 7: Proporción de linfocitos en sangre de las crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.....	47

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

Ig:	Inmunoglobulina.
Ig G:	Inmunoglobulina G.
Mg/dL:	Miligramo por decilitro.
INIA:	Instituto Nacional de Innovación Agraria.
CIP:	Centro de Investigación y Producción.
CSA:	Camélidos Sudamericanos.
CENAGRO:	Censo Nacional Agropecuario.
C°:	Grados centígrados.
CV:	Coeficiente de variación.
Km:	Kilómetro.
ml:	Mililitros.
m.s.n.m:	Metros sobre el nivel del mar.
S:	Segundos.
µL:	Micro litros.
%:	Porcentaje.

RESUMEN

El trabajo de Investigación se realizó en la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata de la Región Puno y el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional del Altiplano, los meses de febrero a mayo del 2017. Los objetivos fueron; demostrar el efecto benéfico de los probióticos, en el complejo entérico neonatal, sobre la morbilidad y mortalidad, nivel de Ig séricas y recuento de leucocitos en crías de alpacas. Para lo cual se utilizó 45 crías entre hembras y machos, distribuidos en tres tratamientos y se consideró crías recién nacidas entre 5 y 7.5 Kg/pv. El probiotico fue (cepas de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* propagados en suero de leche). El tratamiento 1 (T1) suplementadas con 10 mL, tratamiento 2 (T2) con 15 mL de probiotico, vía oral a las 6 horas, 7 días y 14 días de nacido, el tratamiento 3 (T3) control. Las muestras de Ig séricas fueron analizadas mediante la técnica de precipitación del sulfato de zinc y para el recuento de leucocitos por frotis sanguíneo teñido con Wright. Los resultados fueron analizados mediante DCA y Ji-cuadrado. La tasa de morbilidad fue 100.00% grupo control, y en los tratamientos T1 y T2 enfermaron el 13.3% y 20.0 %, respectivamente. La mortalidad fue solo en T1 de 6.67% (1/15). Y una mortalidad general de 2.22% (1/45). Los niveles séricos de inmunoglobulinas totales, fueron similares en los tres tratamientos con promedio general de 648.86 mg/dL. La proporción de neutrófilos, monocitos y linfocitos mostraron alta variabilidad por efectos de dosis de probióticos ($P \leq 0.01$).

Palabras Clave: Alpacas, complejo entérico neonatal, inmunoglobulinas, leucocitos, probióticos.

ABSTRACT

The research work was carried out in the Illpa Experimental Station, Quimsachata Annex of the Puno Region and the Microbiology Laboratory of the National University of the Altiplano, from February to May 2017, with the purpose of providing alternative solutions to the enteric complex neonatal in alpacas. The objectives were; demonstrate the beneficial effect of probiotics, in the enteric neonatal complex, on morbidity and mortality, serum Ig level and leukocyte count in alpaca pups. For which 45 offspring were used between females and males, distributed in three treatments and newborns were considered between 5 and 7.5 Kg / pv. The probiotic were (strains of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* propagated in milk serum). Treatment 1 (T1) supplemented with 10 mL, treatment 2 (T2) with 15 mL of probiotic, orally at 6 hours, 7 days and 14 days of age, treatment 3 (T3) control. The serum Ig samples were analyzed by the zinc sulfate precipitation technique and for the white blood cell count stained with Wright. The results were analyzed by DCA and Chi-square. The morbidity rate was 100.00% control group, and in the treatments T1 and T2 fell 13.3% and 20.0%, respectively. Mortality was only in T1 of 6.67% (1/15). And a general mortality of 2.22% (1/45). Serum levels of total immunoglobulins were similar in the three treatments with a general average of 648.86 mg / dL. The proportion of neutrophils, monocytes and lymphocytes showed high variability due to effects of probiotic doses ($P \leq 0.01$).

Keywords: Alpacas, neonatal enteric complex, immunoglobulins, leukocytes, probiotics.

I.INTRODUCCIÓN

La población nacional de camélidos es de 3'156,101 de alpacas, 1'189,657 de llamas y 96,670 de vicuñas que habitan en la sierra. El 99% de los camélidos se crían en la sierra bajo un sistema de crianza extensiva tradicional con bajos índices productivos y reproductivos. La crianza de estas especies domesticas especialmente la alpaca constituyen una actividad de gran importancia económica para las familias alto andinas del Perú, ya que proporcionan carne de alto valor proteico con bajo colesterol, así como su fibra de gran demanda nacional y mundial, que ayudará directamente a familias campesinas en zonas alto andinas. Cuyos departamentos que Destacan con mayor población en alpacas es, las regiones de Puno (397,700), Cusco (400,877) y Arequipa (284,000). Las elevadas tasas de mortalidad en la crianza de alpacas, son uno de los factores limitantes para el desarrollo económico de las actividades pecuarias en el mundo andino (Ameghino E, 1991).

El INIA mediante el Programa Nacional de Investigación en Camélidos sudamericanos se viene realizando trabajos desde 1988 en las áreas de manejo animal, sanidad, mejoramiento genético, reproducción, alimentación y transformación de productos, y en el área de salud animal se desarrollaron investigaciones donde se determinaron que las principales causas de mortalidad de alpacas son: Agentes infecciosos 51.70%, anormalidades orgánicas 24.08%, causas accidentales 13.36%, causas nutricionales 7.83% y enfermedades parasitarias 3.03%. Las causas infecciosas de mayor frecuencia fueron: Las neumonías 31.12%, enterotoxemia 20.90%, en crías, estomatitis 17.46% y otras en menor frecuencia en adultos (INIA, 2000).

La aplicación de los antimicrobianos a mediados del siglo XX revolucionó de una manera muy significativa el tratamiento de las infecciones, marcando nuevas pautas de actuación ante ellas; no obstante, el rápido desarrollo de resistencias hizo necesaria la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas para el control de las enfermedades infecciosas (Harbarth, 2005). Por las consideraciones indicadas en la justificación e identificación del problema, el presente trabajo de investigación tiene por finalidad, disminuir los porcentajes de morbilidad y mortalidad a causa de enfermedades infecciosas como son las enteritis neonatales en alpacas, específicamente las enterotoxemia y colibacilosis. Así mismo iniciar el uso de microorganismos benéficos como las bacterias ácido lácticas (probióticos) como tratamiento alternativo a la antibioterapia y vacunaciones que en muchas de las veces no son eficaces. Es por ello se plantea.

Determinar los índices de morbilidad y mortalidad del complejo entérico neonatal en crías de alpaca del INIA – Puno.

Determinar los niveles séricos de Ig en crías de alpacas del – INIA – Puno.

Determinar los porcentajes de leucocitos, en crías de alpacas del – INIA – Puno.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. MARCO TEORICO

2.1.1. Alpaca

La alpaca (*Vicugna pacos*) es una especie doméstica que brinda una alternativa de ingreso económico ante las especies pecuarias tradicionales que no tienen un rendimiento eficiente en la altura aportando entre el 70 a 80% de sus ingresos generados en base a la venta de carne, fibra y reproductores (Agrario, 2009).

Taxonomía

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclase: Tetrapoda

Clase: Mammalia

Subclase: Theria

Orden: Artiodactyla

Familia: Camelidae

Género: *Vicugna*

Especie: *Vicugna pacos* (Kadwel, 2001).

La alpaca se distribuye geográficamente entre los paralelos 8 a 20 de latitud sur y los meridianos 68 a 80 de longitud oeste, y entre altitudes que van de 3.800 a 5.000 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra poblando la cordillera de los andes de Sudamérica en la parte central y sur del Perú, noroeste de Bolivia y extremo norte de Chile (Bustinza, 2001).

La cría de Alpaca.

La crianza en llamas y alpacas sobre las etapas de desarrollo en donde da a conocer, que al nacer la cría es totalmente dependiente de la leche materna, a partir del segundo mes la cantidad de pasto ingerido pasa a tener una importancia creciente, mientras que el aporte de la leche se va reduciendo. A partir de los cinco o seis meses de lactancia la producción de leche, especialmente si las condiciones de alimentación no son muy buenas baja progresivamente, esta situación hace que ni la cría ni la madre se beneficien, aunque en la primera semana de vida, se observa que la cría come algo de pasto o algún otro alimento sólido que este a su alcance, solamente a los dos meses de edad, los sólidos constituyen un componente importante en su dieta (FAO, 19996).

2.1.2. El complejo entérico neonatal.

También llamado enteritis neonatal, es ampliamente usado para describir las enfermedades que cursan con disfunción intestinal, usualmente asociado a diarrea; debido principalmente a la sobre estimulación de la función secretora de las criptas epiteliales (salmonela, colibacilosis), interferencia con la absorción (enteritis viral), incremento de la permeabilidad (enteritis clostridial) e hipermotilidad (Ramirez, 1991).

Las elevadas tasas de mortalidad por causas infecciosas, principalmente en las crías de las alpacas, son uno de los factores limitantes para el desarrollo económico de las actividades pecuarias en el mundo andino (Ameghino E, 1991) .

2.1.3. Causas de Mortalidad Neonatal

La crianza de alpacas en ambientes comunales es prácticamente de subsistencia, caracterizadas por un pobre rendimiento productivo, con reducidas tasas de fertilidad y elevadas pérdidas neonatales que desgraciadamente no pueden ser analizadas por carencia de registros productivos y sanitarios. Las empresas sociales, contrariamente, manejan registros poblacionales y sanitarios, incluyendo causas de muertes basadas en diagnósticos de campo y en informes semanales (“quiebras”). Estos reportes, aunque no muy eficientes, son depositarios de incidencias de mortalidades calendarizadas y por edades (crías, tuis y animales adultos) que permiten analizar el comportamiento de pérdida de animales en una determinada región geográfica y tiempo (Ameghino E, 1991) .

La recolección y análisis de informes mensuales de mortalidad neonatal evidencia que las mayores mortalidades ocurren en animales neonatos hasta los 30 días de edad. (Ameghino E, 1991).

2.1.4. Enterotoxemia (Síndrome hemorrágico enterotoxémico).

La enterotoxemia es la principal causa de mortalidad neonatal en el sur del Perú (Ramirez, 1991). Históricamente, *Clostridium perfringens* tipos A y C ha sido considerados como los agentes desencadenantes del proceso infeccioso (Ramirez, 1991). Investigaciones realizadas por nuestro grupo de investigadores durante los últimos cinco años corroboran estas afirmaciones donde se encontró que el 99.6% de 224 aislados de casos fatales de la enfermedad correspondían a *C. perfringens* tipo A. (Rosadio, 2010).

2.1.5. Enteritis Infecciosa Neonatal

Las diarreas neonatales, causantes de muertes y reportadas como colibacilosis o enteritis (Ameghino E, 1991). han sido pocas estudiadas en el Perú. La poca información existente evidencia la presencia de numerosos agentes e incluyen al *C. perfringens*, *Eimeria* spp, *Cryptosporidium* spp y *Escherichia coli* como potenciales patógenos productores de alteraciones entéricas (Ameghino E, 1991; Ramirez, 1991) Por otro lado, es conocido que, en la mayoría de animales domésticos, la *E. coli* causa una diversidad de patologías, desde infecciones entéricas restringidas hasta septicemias, que se explican por la presencia de una gama diversa de genes virulentos.

2.1.6. Probióticos.

Los probióticos son aquellos microorganismos vivos que, al ser agregados como suplemento en la dieta, afectan en forma beneficiosa al desarrollo de la flora microbiana en el intestino (Fuller, 1989). Los probióticos estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo. Son también conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprolifáticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales. (Penna, 1998) Para que un microorganismo pueda realizar esta función de protección tiene que cumplir los postulados de Huchetson: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino (Pardio, 1994) . Es importante que estos microorganismos puedan ser

capaces de atravesar la barrera gástrica para poder multiplicarse y colonizar el intestino. (Blanco, 2002).

Usos e importancia de los probióticos, de un grupo de cepas con carácter prebiótico y en especial las cepas de yogur utilizadas en terneros dentro del primer mes de nacidos contribuyendo a instalar una flora beneficiosa (*Lactobacilos bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) en el tracto intestinal, que ayudan a poblar el intestino y protegen de infecciones gastrointestinales, contribuyendo además durante el periodo neonatal a favorecer el desarrollo del sistema inmunológico. (Palencia, 2005)

2.1.7. Inmuglobulinas.

Es una Proteína plasmática sintetizada por los linfocitos B maduros y las células plasmáticas, en respuesta a la estimulación por un antígeno, y que actúa como anticuerpo, para la defensa específica del organismo. Las moléculas de inmunoglobulinas están constituidas por cadenas pesadas (H) y ligeras (L), unidas por puentes disulfuro. Se subdividen en cinco clases, denominadas IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, y varias subclases, en función de la cadena pesada. Existen dos tipos de cadenas ligeras (kappa y lambda), que se encuentran en cada uno de los cinco tipos de inmunoglobulinas, aunque cada molécula individual solo dispone de una de ellas. Las inmunoglobulinas pueden presentarse en forma monomérica en la membrana del linfocito B, comportándose como receptor para el antígeno, o pueden secretarse al medio extracelular, en cuyo caso se denominan anticuerpos. IgG, IgD e IgE se secretan siempre en forma monomérica, mientras que la IgM y la IgA se secretan en forma polimérica. IgG es el isotipo circulante que predomina.

IgM es el que se produce en primer lugar, dada su capacidad para activar complemento, que es uno de los componentes del sistema inmunitario natural. La IgA es el isotipo encargado de la defensa en las mucosas y secreciones externas (saliva, leche, moco bronquial, etc.). La IgE se asocia a fenómenos de anafilaxia. (Devlin, 2004).

2.1.7.1. Inmunoglobulinas G.

las inmunoglobulinas más abundantes en el suero (600-1800 mg/dL). Promueven la fagocitosis en el plasma y activan el sistema de complemento. Las Ig G son el único de anticuerpos que pueden cruzar la placenta. Se trata de la inmunoglobulina predominante en los fluidos internos del cuerpo, como son la sangre, el líquido cefalorraquídeo y el líquido peritoneal (líquido presente en la cavidad abdominal). (Devlin, 2004).

2.1.8. Sangre

Líquido de color rojo, que circula por las arterias y las venas del cuerpo de los animales. su función es distribuir oxígeno, nutrientes y otras sustancias a las células del organismo, y recoger de estas los productos de desecho. Tiene una fase sólida (elementos formes), que incluye a los eritrocitos (o glóbulos rojos), los leucocitos (o glóbulos blancos) y las plaquetas, y una fase líquida, representada por el plasma sanguíneo. (Cunningham, 2009).

2.1.8.1. Eritrocitos (glóbulos rojos).

Los glóbulos rojos, hematíes o eritrocitos constituyen aproximadamente el 96 % de los elementos figurados. Su valor normal (conteo) promedio es de alrededor de 5,100,000 hematíes por mm³ (o microlitro). Estos corpúsculos

carecen de núcleo y orgánulos (solamente en mamíferos). Su citoplasma está constituido casi en su totalidad por la hemoglobina, una proteína encargada de transportar dioxígeno y contienen también algunas enzimas. El dióxido de carbono es transportado en la sangre (libre disuelto 8 %, como compuestos carbodinámicos 27 %, y como bicarbonato, este último regula el pH en la sangre). En la membrana plasmática de los eritrocitos están las glucoproteínas (CD) que definen a los distintos grupos sanguíneos y otros identificadores celulares. (Cunningham, 2009).

Los eritrocitos tienen forma de disco bicóncavo deprimido en el centro. Esta forma particular aumenta la superficie efectiva de la membrana. Los glóbulos rojos maduros carecen de núcleo, porque lo expulsan en la médula ósea antes de entrar en el torrente sanguíneo (esto no ocurre en aves, anfibios y ciertos otros animales). Los eritrocitos en humanos adultos se forman en la médula ósea. Tiene una fase sólida (elementos formes), que incluye a los eritrocitos (o glóbulos rojos), los leucocitos (o glóbulos blancos) y las plaquetas, y una fase líquida, representada por el plasma sanguíneo. (Arturo, 2014)

2.1.8.2. Leucocitos (glóbulos blancos).

Forman parte de los actores celulares del sistema inmunitario, y son células con capacidad migratoria que utilizan la sangre como vehículo para tener acceso a diferentes partes del cuerpo. Los leucocitos son los encargados de destruir los agentes infecciosos y las células infectadas, y también segregan sustancias protectoras como los anticuerpos, que

combaten a las infecciones. El conteo normal de leucocitos está dentro de un rango de 4.500 y 11.500 células por mm^3 (o microlitro) de sangre, variable según las condiciones fisiológicas (embarazo, estrés, deporte, edad, etc.) y patológicas (infección, cáncer, inmunosupresión, aplasia, etc.). (Bruce, 2002).

El recuento porcentual de los diferentes tipos de leucocitos se conoce como "fórmula leucocitaria" Según las características microscópicas de su citoplasma (tintoriales) y su núcleo (morfología), se dividen en:

- **Los Agranulocitos o células monomorfonucleares:** Son los linfocitos y los monocitos; carecen de gránulos en el citoplasma y tienen un núcleo redondeado.
- **Los granulocitos o células polimorfonucleares:** Son los neutrófilos, basófilos y eosinófilos; poseen un núcleo polimorfo y numerosos gránulos en su citoplasma, con tinción diferencial según los tipos celulares

1. Granulocitos o células polimorfonucleares.

- **Basófilos:** Presentes en sangre entre 0,1 y 1,5 células por mm^3 , (0,2-1,2 % de los leucocitos). Presentan una tinción basófila, lo que los define. Segregan sustancias como la heparina, de propiedades anticoagulantes, y la histamina que contribuyen con el proceso de la inflamación. Poseen un núcleo a menudo cubierto por gránulos de secreción.

- **Eosinófilos:** Presentes en la sangre entre 50 y 500 células por mm^3 (1-4 % de los leucocitos). Aumentan en enfermedades producidas por parásitos, en las alergias y en el asma. Su núcleo, característico, posee dos lóbulos unidos por una fina hebra de cromatina, y por ello también se las llama "células en forma de antifaz".
- **Neutrófilos:** Presentes en sangre entre 2.500 y 7.500 células por mm^3 . Son los más numerosos, ocupando entre un 55 % y un 70 % de los leucocitos. Se tiñen pálidamente, de ahí su nombre. Se encargan de fagocitar sustancias extrañas (bacterias, agentes externos, etc.) que entran en el organismo. En situaciones de infección o inflamación su número aumenta en la sangre. Su núcleo característico posee de 3 a 5 lóbulos separados por finas hebras de cromatina, por lo cual antes se los denominaba "polimorfonucleares" o simplemente "polinucleares"

2. Agranulocitos o células monomorfonucleares.

Valor normal entre 1.300 y 4000 por mm^3 (24 % a 32 % del total de glóbulos blancos). Su número aumenta sobre todo en infecciones virales, aunque también en enfermedades neoplásicas (cáncer) y pueden disminuir en inmunodeficiencias. Los linfocitos son los efectores específicos del sistema inmunitario, ejerciendo la inmunidad adquirida celular y humoral. Hay dos tipos de linfocitos, los linfocitos B y los linfocitos T.

- **linfocito B.** Está encargados de la inmunidad humoral, esto es, la secreción de anticuerpos (sustancias que reconocen las bacterias y se unen a ellas y permiten su fagocitosis y destrucción). Los granulocitos y los monocitos pueden reconocer mejor y destruir a las bacterias cuando los anticuerpos están unidos a éstas (opsonización). Son también las células responsables de la producción de unos componentes del suero de la sangre, denominados inmunoglobulinas.
- **Los linfocitos T.** Reconocen a las células infectadas por los virus y las destruyen con ayuda de los macrófagos. Estos linfocitos amplifican o suprimen la respuesta inmunológica global, regulando a los otros componentes del sistema inmunitario, y segregan gran variedad de citoquinas. Constituyen el 70 % de todos los linfocitos. Tanto los linfocitos T como los B tienen la capacidad de "recordar" una exposición previa a un antígeno específico, así cuando haya una nueva exposición a él, la acción del sistema inmunitario será más eficaz.
- **Monocitos:** Conteo normal entre 150 y 900 células por mm^3 (2 % a 8 % del total de glóbulos blancos). Esta cifra se eleva casi siempre por infecciones originadas por virus con núcleo definido y con forma de riñón. En los tejidos se

diferencian o parásitos. También en algunos tumores o leucemias. Son células hacia macrófagos o histiocitos.

2.2. ANTECEDENTES.

2.2.1. Morbilidad y mortalidad neonatal.

Las alpacas y llamas, presentan los mayores índices de mortalidad y morbilidad en los primeros meses de vida al igual que en otras especies domésticas. En un estudio realizado reciente en Estados Unidos se determinó una mortalidad del 2.1% en llamas y alpacas en el periodo pre destete (Sharpe, 2009).

La recolección y análisis de informes mensuales de mortalidad neonatal evidencia que las 90 mayores mortalidades ocurren en animales neonatos hasta los 30 días de edad. Las muertes a partir del 5 a 7 días de edad son en su mayoría de origen infeccioso (Ameghino E, 1991). El mayor porcentaje de muerte se encuentra en la etapa neonatal, en un estudio realizado en las organizaciones alpaqueros ubicadas en Puno y Junín. Resulta que los 30 primeros días de edad son los más críticos. Donde se evidenciaron claramente dos tendencias en las mortalidades. La primera onda se observa a los primeros cuatro días de edad la segunda entre 5 hasta los 30 días de edad. En los primeros días las causas son las inclemencias ambientales y un inadecuado manejo que reportaron como nacidas muertas al nacer. Ambas situaciones pueden desencadenarse de nacimiento de crías débiles o traumatizadas por partos difíciles. La inanición e hipertermia también suelen observarse en crías aparentemente normales pero negadas por la

madre o neonatos con dificultades para acceder al calostro materno (Ameghino E, 1991).

Se observa la tasa de mortalidad es de 21.87% corresponde a 7 crías, de las cuales 4 crías fueron del tratamiento 1 (suministrados con calostro de alpacas), al que no se adicione plasma por vía oral indicando que la mortalidad en crías de alpacas disminuye si se les adiciona plasma sanguíneo de donadoras, obteniéndose 0% de mortalidad para el tratamiento en el que se le aplicó 90mL de plasma sanguíneo. Se obtuvieron en este estudio una mortalidad total de 12.5%; 6.25%; 3.125% y 0% de mortalidad para los tratamientos de 0; 30; 60; 90mL respectivamente (Linares, 2009).

2.2.2. Determinación del tiempo de producción de Ig G crías de alpacas.

El inicio de producción de inmunoglobulina G fue determinado en Veinte crías alpaca que fueron divididos en dos grupos de 10 cada uno. Diez crías recibieron calostro de alpaca, y diez fueron privados de calostro de alpaca, pero recibieron calostro de vacuno. La muestra de Sangre se colectó cada 15 días empezando a los 2, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 días de nacido. Inmunoglobulina G fue determinada por radio inmuno difusión radial. se encontraron concentraciones promedio de Ig G en suero de 397,284 mg/dL, 360,878 mg/dL, 431,008 mg/dL, 379,153 mg/dL, 497,865 mg/dL, 889,014 mg/dL, 1444,935 mg/dL, 1863,717 mg/dL y 2086,633 mg/dL a los 2, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 días respectivamente para el grupo 1; mientras que 3165,237 mg/dL, 1483,118 mg/dL, 1240,814 mg/dL, 1035,778 mg/dL, 717,639 mg/dL, 527,523 mg/dL, 932,568 mg/dL, 1195,951 mg/dL y 1368,578

mg/dL, para grupo 2 los mismos días respectivamente, En conclusión se determinó que las crías de alpaca inician la producción de Ig G en niveles de concentración adecuados (>1000 mg/dL) a partir de los 79 días de vida, ajustándose esta producción una tendencia lineal polinómica cuadrática considerándose entonces desde esta edad altamente reactiva a la exposición de antígenos (Quispe, 2009).

2.2.3. Efecto del plasma sanguíneo vía oral en la concentración de Ig G en la alpaca perinatas.

Para ello se estudiaron un total de 69muestras, provenientes del plasma de 5. Donadoras, del calostro de 32 madres peri parturientas y del suero sanguíneo de 32 crías peri natas; La muestra fue distribuida en 4 tratamientos compuesto por 4 repeticiones cada uno, a las crías neonatas se les aplicó vía oral plasma sanguíneo en dosis de T1: 0 mL, T2:30mL, T3:60mL, T4:90mL, la determinación de la concentración de Ig G se realizó mediante la prueba de inmunodifusión radial en placa. Los resultados mostraron valores de Ig G en calostro de $3289,88 \pm 833,24$ mg/dl y se evidenció que el epitelio intestinal es capaz de absorber Ig G plasmática y que existe diferencias significativas sobre la concentración de Ig G sérica entre tratamientos mostrando niveles promedio de 762,21; 1543,46; 1791,83; 2670,74 mg/dL, para los tratamientos 1, 2, 3,4 respectivamente, además se demostró que la adición de plasma sanguíneo vía oral en dosis adecuadas. -disminuye la mortalidad en alpacas neonatas. (Linares, 2009).

2.2.4. Valores hematológicos, bioquímicos sanguíneos y urinarios en crías de alpacas Huacaya (*Vicugna pacos*) menores de dos meses.

Se tomaron muestras de sangre, en 30 crías menores a 2 meses, provenientes del CIP "La Raya" UNA - Puno. La hematología se realizó por métodos clásicos, Los valores promedio fueron: Recuento GB: 19.07 ± 0.18 x / μ L; diferenciación celular, NEU: 47.8% (9.11 μ L); MON: 18.87% (3.59 μ L); LIN: 30.47% (5.82 μ L); EOS: 2.73% (0.53 μ L) y BAS: 1% (0.20 μ L). (Escalante, 2017).

2.2.5. Cambios hematológicos, bioquímica sanguínea y cortisol sérico en crías de alpacas de guanaco (*Lama guanicoe*) en cautiverio desde el nacimiento al destete.

El propósito del presente estudio fue contribuir al conocimiento de valores de referencia de indicadores hematológicos, bioquímica sanguínea y cortisol sérico en guanacos en cautiverio que permiten evaluar la salud y respuesta estrés. Se describieron variables hematológicas, bioquímica sanguínea y cortisol sérico en crías de guanaco en cautiverio, desde el nacimiento y los resultados fueron para la serie blanca no mostraron cambios estadísticamente significativos entre las etapas de muestreo excepto los linfocitos y eosinófilos el número de linfocitos aumento significativamente ($p < 0,05$) desde los dos meses de edad en adelante, mientras que el número de eosinófilos se mantuvo estable desde el nacimiento a los 5 meses y a los 6 meses disminuye. Y los resultados fueron para neutrófilos 71.6%; monocitos 4.28%; linfocitos 22.6% a los dos meses de edad. (Rios, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación.

El trabajo de Investigación se realizó en la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata de la Región Puno y el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional del Altiplano, en los meses de febrero a mayo del 2017. El anexo Quimsachata de INIA Illpa ubicado entre los distritos de Santa Lucía y Cabanillas de las provincias de Lampa y San Román respectivamente, situado a una altitud de 4300 msnm y entre las coordenadas 15° 04' 00" de latitud sur y 70° 78' 00" de longitud Oeste de Greenwich. corresponde a la zona agroecológica de Puna Seca, de clima variado con temperaturas que fluctúan entre 3 a 15°C y una precipitación pluvial anual de 597 mm y tiene como vía de comunicación la carretera asfaltada Puno – Arequipa. Quimsachata cuenta con un total de 6,281 hectáreas de terreno distribuidos en tres sectores, topográficamente es una zona muy accidentada (Mamani, 2009).

3.2. Material Experimental.

3.2.1. Tamaño de Muestra.

El tipo de muestreo que se utilizó es de aleatorio simple para lo cual, se han identificado 45 crías de alpacas nacidos dentro de una semana cuyos pesos al nacimiento estuvieron entre 5 a 7.5 Kg entre hembras y machos los que serán distribuidos en grupos aleatoriamente según nacimiento, en dos tratamientos de 15mL y 10 mL y un grupo control.

Tabla 1: Distribución de crías para el estudio

Tratamientos con N° probiótico	con N° muestra	Tiempo de administración post nacimiento		
10 mL (D1)	15	6 hr	7 días	14 días
15 mL (D2)	15	6 hr	7 días	14 días
0 mL (control)	15	6 hr	7 días	14 días
Total	45			

3.3. Materiales

3.3.1. Solución probiótica.

- Suero de leche
- Lyofast

3.3.2. Materiales de identificación.

- Collares verdes con números blancos
- cinta de 3 colores distintos.

3.3.3. Materiales de medida.

- reloj.

3.3.4. Material de laboratorio.

- Alcohol de 70°
- Torundas de algodón
- Fosfato buffer salino (PBS)
- Jeringas de 50mL, 10mL y 5mL
- Láminas porta objetos
- Batería de tinción

- micropipetas
- guantes de exploración
- mandil blanco
- Tips
- viales
- gradillas
- pipeta de 10 mL
- autoclave
- centrifuga
- congeladora
- agua destilada
- espectrofotómetro
- colorante Wright.

3.3.5. Reactivos de laboratorio

- Sulfato de zinc

3.3.6. Materiales de escritorio.

- Cámara fotográfica
- Cuaderno
- Lapicero
- Cinta masking

3.4. METODOLOGIA DE ESTUDIO.

3.4.1. Probióticos:

- **Cepa bacteriana**

Se utilizaron cepas bacterianas comerciales para la fabricación de yogurt (producto Lyofast) que contienen los dos tipos de bacterias (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*).

Se realizaron dos pasajes en MRS de la cepa realizando cultivos overnight en condiciones de microaerobiosis a 37 °C, sin agitación el suero de queso es previamente tratado térmicamente a 100 °C durante 30 minutos para el desarrollo del inóculo de las fermentaciones. El suero de. Por tratarse de un medio no translúcido, su esterilidad se verificará por recuentos posteriores a su incubación a 37°C durante 24 horas.

▪ **Dosis utilizada:**

Para suministrar la cepa de yogur a las crías de alpaca se utilizaron un frasco de cristal previamente aforado y previamente conservado en refrigeración para una mejor conservación del probióticos, que permita su higienización, suministrándole a cada cría 10 mL (T-1) y 15 mL (T-2) de la cepa de yogur en suero entero de leche a una concentración de 8×10^8 microorganismos por mL cuyo momento del suministro de la cepa fue de la siguiente manera. (Palencia, 2005).

Primera dosis: las 6 horas después del nacimiento.

- Segunda dosis: A los 7 días de nacidos.

- Tercera dosis: A los 14 días de nacidos.

3.4.2. Metodología del muestreo.

- **Administración de probióticos vía oral a las crías.**

Se esperó el momento del parto y a las crías recién nacidas durante las primeras 6 horas se les aplicó probióticos vía oral en dosis de 10mL para el primer grupo, 15mL para el segundo grupo, (cada grupo compuesto por 15 crías). (Palencia, 2005).

- **Obtención del suero sanguíneo de las crías.**

A las crías se les tomo muestras de sangre a las 8 semanas de edad después de parición y de la adición de probióticos vía oral en dosis de 10mL, 15mL, que fue durante las primeras 6 horas de vida y a las 7 y 14 días de nacida. La toma de muestras de sangre para la determinación de la concentración de Ig G en sangre, se obtuvo una muestra de aproximadamente de 3 mL de la vena yugular en un tubo vacutainer sin EDTA debidamente rotulados las muestras se trasladaron en cooler hacia el laboratorio. El suero se obtuvo por centrifugación a 2000 rpm durante 5 minutos (Benjamín, 1991).

3.4.3. Control de mortalidad y morbilidad de las crías.

Se realizó la observación de la morbilidad y mortalidad de las crías hasta los dos primeros meses de edad, se monitoreo cuantos animales se enferman y cuantos no de las 45 crías de alpacas.

$$\text{Tasa de morbilidad} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de enfermos} \times 100}{\text{Población estimada}}$$

$$\text{Tasa de mortalidad} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de animales muertos}}{\text{Población total}} \times 100$$

Población total

3.4.4. Sulfato de Zinc.

Para la prueba de sulfato de Zinc. Se colocaron 55 mg de Sulfato de zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) dentro de un frasco color ámbar de 300 mL de capacidad, se añade 270 mL agua destilada a temperatura ambiente (previamente hervida). Inmediatamente se cierra el frasco con su tapón y se agita hasta lograr una disolución total de la sal. Se fija el tapón a la botella con cinta adhesiva para lograr un buen sellado, esto para que la solución no absorbe gradualmente bióxido de carbono, lo que alteraría los resultados de la prueba. También la exposición excesiva a la luz afecta la solución, la solución se guardó en refrigeración a una temperatura de 6°C luego. Se toman 0.1 mL de suero y se colocan en un tubo de ensayo al que se agregan 6 mL de la solución de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Se agita suavemente la muestra y se deja incubar por una hora a 20°C . Se calibra el espectrofotómetro a 0, utilizando un tubo control con el reactivo de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. A continuación, se mezcla bien el contenido del tubo prueba y se lee en el espectrofotómetro. Se lee el grado de absorbancia (turbidez) a una longitud de onda de 250 nm. El resultado se multiplica por 10 y se expresa como el número de unidades de turbidez del $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. El número de U. TSZ corresponde a los miligramos de Ig's totales por mililitro de suero.

3.4.5. Recuento de leucocitario.

Obtenida la muestra sanguínea de las crías de alpacas se. Preparara todos los materiales y equipos de trabajo. Colocamos la muestra con un gotero una gota de sangre en una lámina portaobjetos luego realizamos el frotis sanguíneo. Rotulamos la lámina Dejamos secar la lámina con el extendido sobre ella a medio ambiente Ya seca la lámina colocamos sobre una rejilla la lámina luego cubrimos con el colorante Wright toda la superficie de la lámina durante 5 minutos. Realizado esto, colocamos de 1 a 3 gotas de fijador durante 7 minutos. Luego lavamos con agua de grifo la lámina con chorro leve. Sin tratar de que el chorro dañe la tinción. Dejamos secar. Ya seco. Colocamos una gota de aceite de inmersión sobre la tinción y ponemos a observar al microscopio con el objetivo de inmersión a 100x luego hacemos el recuento de leucocitos contabilizando como neutrófilos, linfocitos, monocitos. (Dias, 2014)

3.4.6. Análisis Estadístico.

Los datos cuantitativos discretos de las variables estudiadas como tasa de morbilidad y mortalidad fueron analizados mediante la prueba estadística de Ji – cuadrada con tabla de contingencia de doble entrada, utilizando el Software S.P.S.S. Versión 9.1.

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Dónde

χ^2 = Valor de Chi cuadrado

O_{ij} = Frecuencia observada de la variable en estudio

E_{ij} = Frecuencia esperada de la variable en estudio.

Los datos cuantitativos continuos de la variable Inmunoglobulina totales (mg/dl) y la serie leucocitaria (%) fueron analizados mediante diseño completamente al azar con diferente número de repeticiones, debido a que 01 cría murió en el proceso del estudio, los resultados de recuento de la serie leucocitaria fueron transformación a valores angulares para lo cual se usó la fórmula de conversión.

$$\frac{S}{180} = \frac{C}{200} = \frac{R}{\pi}$$

En cuanto se refiere a valores porcentuales, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable respuesta

μ = Media poblacional

A_i = Efecto de i-ésimo dosis de probióticos

E_{ijk} = Efecto del error no controlable

La comparación de promedios se realizó mediante la prueba múltiple de significación de Duncan ($\alpha = 0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TASA DE MORBILIDAD Y MORTALIDAD EN CRÍAS DE ALPACAS

4.1.1. Tasa de Morbilidad en crías de alpacas.

Los resultados de la variable estudiada en crías de alpacas suministradas con diferentes dosis de probióticos; se presenta en la tabla 2.

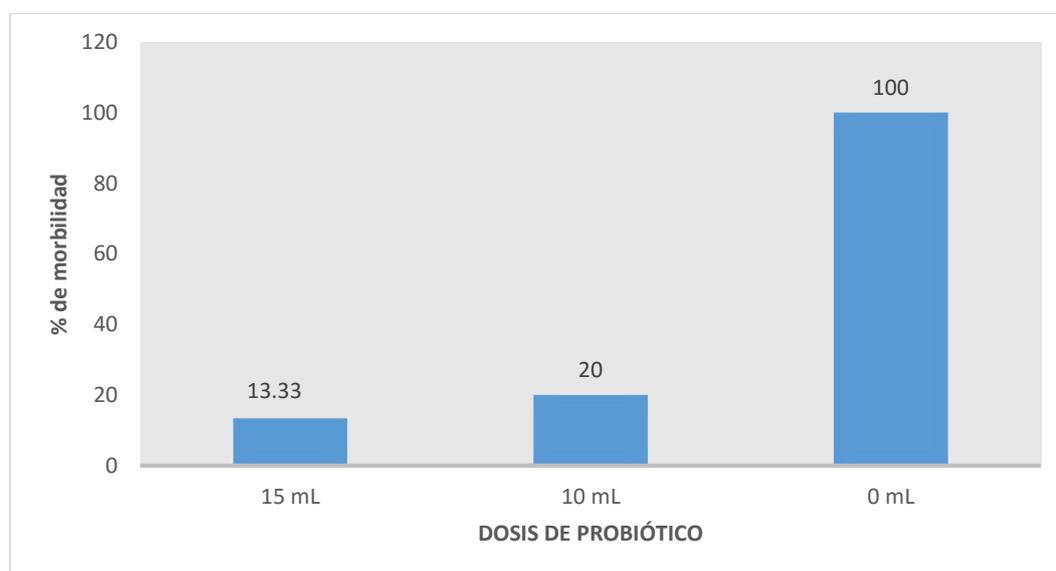
TABLA N° 2

**Tasa de morbilidad en crías de alpaca de la estación experimental
Illpa, anexo quimsachata según suministro de probióticos.**

DOSIS PROBIOTICOS	DE N° CRÍAS	DE N° DE CRÍAS	PORCENTAJE (%)
15 mL	15	02	13.33
10 mL	15	03	20.00
0 mL (Control)	15	15	100

Tabla de elaboración propia (P≤0,05)

Figura 1: Tasa de morbilidad en crías de alpacas por efecto de probióticos



En la tabla 2 y figura1 observamos tasa de morbilidad en crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata , según suministro de probióticos (15mL; 10mL y 0mL a 45 crías) en el cual, el grupo de crías, sin suministro de probióticos se enfermaron 15 crías, desde el nacimiento hasta los 23 días de edad; ya que mostraron síntomas de diarrea en mayores frecuencias y en los que recibieron probióticos solo se enfermaron 02 y 03 con dosis de 10mL y 15mL, respectivamente hasta los 25 días de edad estas al ser sometidos al análisis estadístico se encontró diferencias significativa ($P \leq 0.05$). Estos resultados son similares al reporte de (Ameghino E, 1991) que indica que los 30 primeros días de edad son críticos para las crías de alpacas puesto que podrían ser por varios factores como son inanición cambios climáticos colibacilosis a la primera semana de edad se presentarían de origen infeccioso.

4.1.2. Tasa de mortalidad en crías de alpacas.

Los resultados de la variable estudiada en crías de alpacas suministradas con diferentes dosis de probióticos; se presenta en la tabla 3.

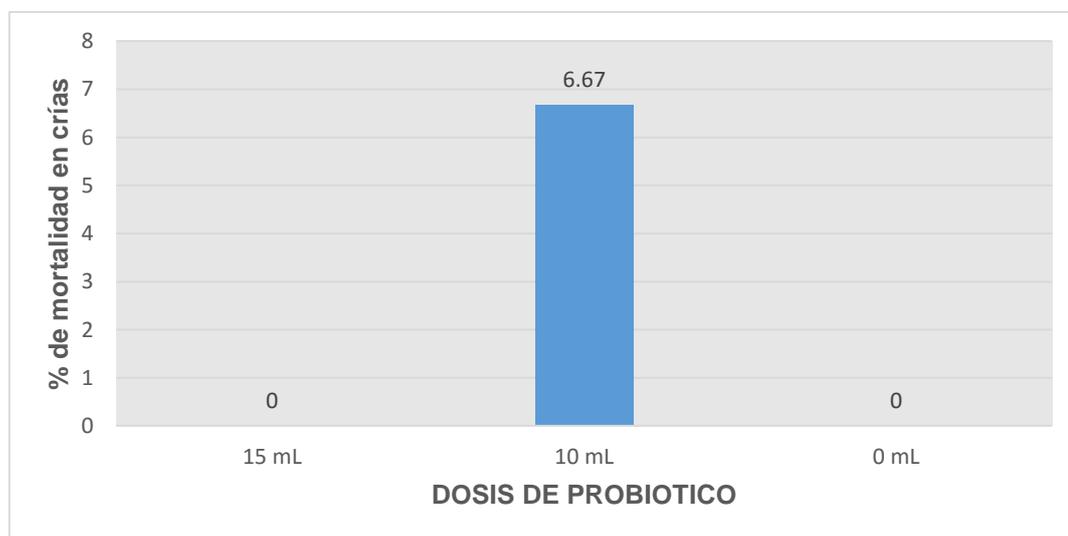
TABLA N° 3

Tasa de mortalidad en crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata según suministro de probióticos.

DOSIS DE PROBIOTICOS	Nº DE CRÍAS	Nº DE CRÍAS	PORCENTAJE (%)
15 mL	15	00	0.00
10 mL	15	01	6.67
0 mL (Control)	15	00	0.00

Tabla de elaboración propia (P \geq 0,05)

Figura 2: Tasa de mortalidad en crías de alpacas por efecto de probióticos.



En la tabla 3 y figura 2, se evidencia la tasa de mortalidad en crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata, según suministro de probióticos; donde se registró solamente 01 cría muerta (6.67 %) en el grupo tratado con 10 mL de probióticos con diagnósticos de problema digestivo que

podría deberse a colibacilosis, (1/15); estas al ser sometidos al análisis estadístico de Ji cuadrada no se encontró diferencias significativas ($P \geq 0.05$) por efecto de dosis de probióticos. Lo que indica, que sí favorece en la mejora de salud de las crías en las primeras 3 semanas de edad post nacimiento. Los resultados del presente estudio son similares al reporte (Ameghio.1991) que indica que la mortalidad se presenta a partir de 5 a 7 días de edad de origen infeccioso.

Los resultados obtenidos en el estudio son diferentes al reporte de (Linares, 2009). Que en un estudio realizado de efecto del plasma sanguíneo administrados vía oral indica que la tasa de mortalidad es de 21.87% de los cuales la mortalidad se presenta en T1 que no fue administrada por vía oral el plasma sanguíneo se presenta 12.5% de mortalidad, T2 con 30mL se presenta 6.25% de mortalidad, T3 60mL se presenta 3.125% de mortalidad, T4 con 90mL no presento mortalidad.

4.2. INMUNOGLOBULINA TOTAL.

Los resultados de la variable estudiada en suero de las crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata, se presenta en la tabla 4.

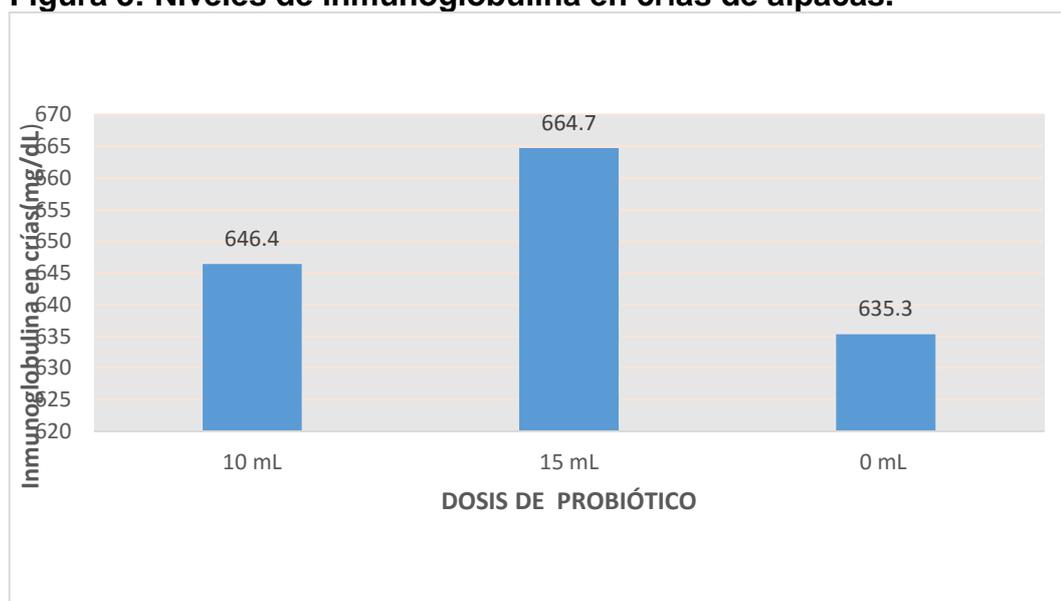
TABLA N° 4

Niveles de concentración de inmunoglobulina total en crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.

DOSIS PROBIOTICOS	DE Nº CRÍAS	DE Promedio \pm D.S.	Valores extremos
15 mL	15	664,7 ^a \pm 103,2	340 – 820
10 mL	14	646,4 ^a \pm 68,46	540 – 770
0 mL (Control)	15	635,3 ^a \pm 74,46	490 – 740

Tabla de elaboración propia

Figura 3: Niveles de inmunoglobulina en crías de alpacas.



En la tabla 4 y en la figura 3; observamos niveles de concentración de inmunoglobulina total en crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata; donde no se encontró diferencias significativas en la variación de Inmuglobulinas totales en crías de alpacas suministrada con 15, 10 y 0 mL de dosis de probióticos ($P \geq 0.05$). Lo cual indica que las crías que

recibieron probióticos mostraron valores aritméticos superiores comparados al grupo testigo que muestra 635.3 mg/dL. Estos valores encontrados son superiores a los reportes de (Quispe, 2009) que indican 497.86mg/dL a los 60 días de edad.

Estos valores son inferiores a los reportes de (Linares, 2009) en un estudio realizado sobre el efecto del plasma sanguíneo vía oral en concentración de Ig G en alpacas perinatas que reportan 762.21mg/dL para el T1 con 0mL, 1543.46mg/dL para el T2 con 30mL, 1791.83mg/dL para el T3 con 60mL, 2670.74mg/dL para el T4 con 90mL estos valores son muestreados a las 48 horas de nacido.

4.3. SERIE BLANCA SANGUINEA

4.3.1. NEUTRÓFILOS

Los resultados de la variable estudiada en suero de las crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata, se presenta en la tabla 5.

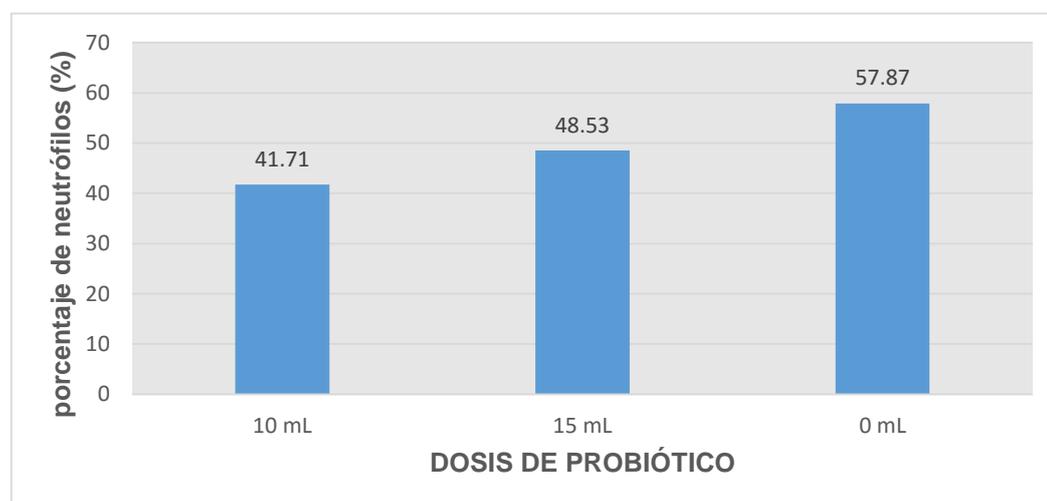
TABLA N°5

Proporción de neutrófilos en sangre de las crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.

DOSIS PROBIOTICOS	DE N° CRÍAS	DE Promedio \pm D.S.	Valores extremos
15 mL	15	48,53 ^a \pm 7,91	36 – 66
10 mL	14	41,71 ^a \pm 5.54	28 – 50
0 mL (Control)	15	57,87 ^a \pm 5,95	46 – 66

Tabla de elaboración propia

Figura 4: Porcentaje de neutrófilos en crías de alpacas por efecto de probiótico.



En la tabla 5 y en la figura 4; se observa proporción de neutrófilos en crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata; donde reflejó que no existe diferencias significativas ($P \geq 0.05$), en la variación de

porcentaje de neutrófilos en crías de alpacas suministrada con 15, 10 y 0 mL de dosis de probióticos. Lo cual permite deducir que las crías que no recibieron probióticos mostraron mayor porcentaje (57.87 %) de neutrófilos, esto se explica por qué en este tratamiento el 100% de las crías enfermaron tal como se muestra en el cuadro 2, La presencia de patógenos a nivel del tracto intestinal induce a un incremento de células fagocíticas como los Neutrófilos producto de una respuesta inmune inespecífica tal como menciona (Tizar, 2009). Estos reportes son mayores (Escalante, 2017) quien trabajó en crías menores a dos meses clínicamente sanas con resultados para neutrófilos de 47.8%. También son inferiores comparando al reporte de (Rios, 2003) quien estima en crías de guanacos que los recuentos de neutrófilos a los dos meses nacido son de 71.6%.

4.3.2. MONOCITOS SANGUINEO

Los resultados de la variable estudiada en sangre de las crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata, se presenta en la tabla 6.

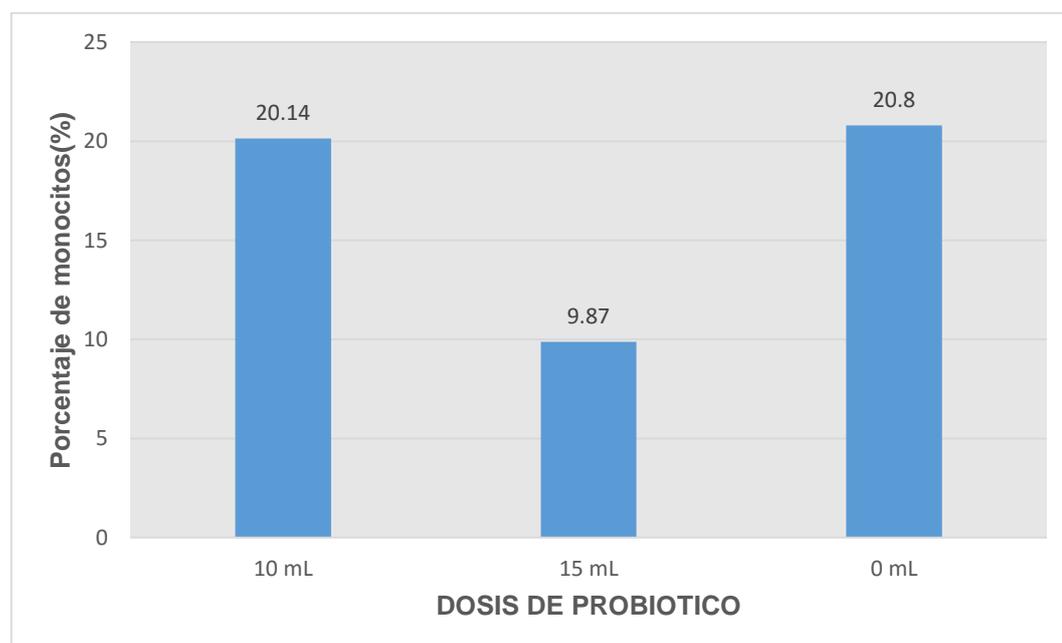
TABLA N°6

Proporción de monocitos en sangre de las crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.

DOSIS PROBIOTICOS	DE Nº CRÍAS	DE Promedio \pm D.S.	Valores extremos
15 mL	15	9,87 ^b \pm 4,31	12 -18
10 mL	14	20,14 ^a \pm 8.07	6 – 30
0 mL (Control)	15	20,8 ^a \pm 4.02	12 – 27

Tabla de elaboración propia

Figura 5: Porcentaje de monocitos en crías de alpacas por efecto de probióticos.



En la tabla 6 y en la figura 5; se observa porcentaje de monocitos en crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata; se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.01$), en la variación de porcentaje de monocitos en crías de alpacas suministrada con 15 mL tuvieron 9.87 %, 10 mL (20.14 %) y 0 mL (20.8 %) con dosis de probióticos. Lo cual indica que hubo efecto de dosis de probióticos. Estos reportes son mayores excepto en tratamiento de 15mL que es menor a los reporte de (Escalante, 2017) que indica para los monocitos un recuento de 18.87% en crías de alpacas a los dos meses de nacido. También estos reportes son mayores según de (Rios, 2003). Que indican 4.28% para los monocitos en guanacos a los dos meses de edad.

4.3.3. LINFOCITOS

Los resultados de la variable estudiada en sangre de las crías de alpaca del CIP Quimsachata, se presenta en la tabla 7.

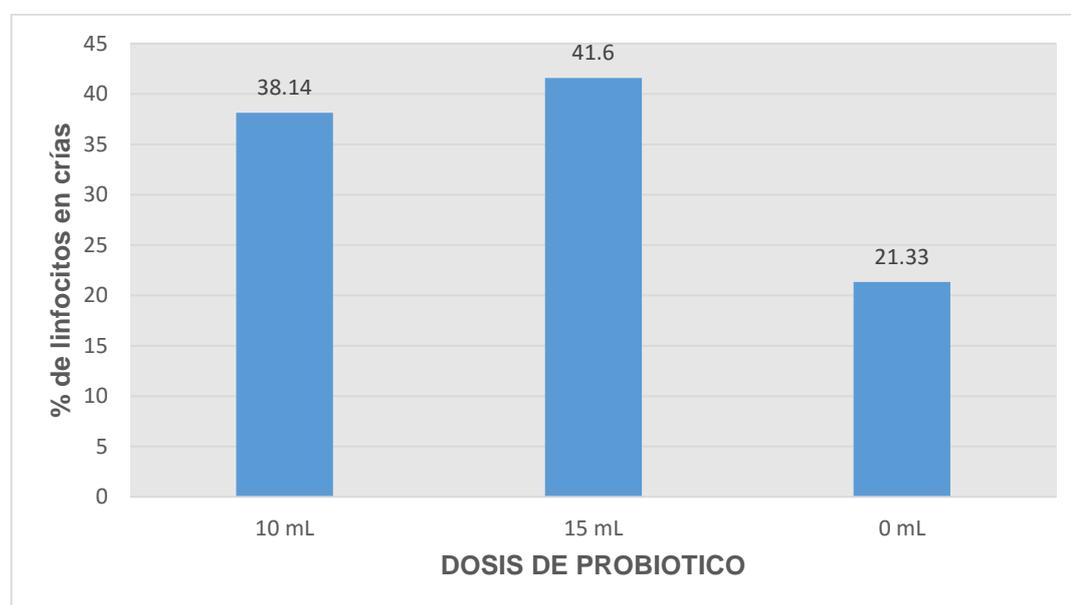
TABLA N°7

Proporción de linfocitos en sangre de las crías de alpaca de la estación experimental Illpa, anexo quimsachata.

DOSIS DE PROBIOTICOS	Nº DE CRÍAS	Promedio \pm D.S.	Valores extremos
15 mL	15	41,6 ^a \pm 8,46	22 – 56
10 mL	14	38,14 ^a \pm 6,53	28 -52
0 mL (Control)	15	21,33 ^b \pm 3.37	16 – 28

Tabla de elaboración propia

Figura 6: Porcentaje de linfocitos en crías de alpacas por efecto de probiotico.



En la tabla 7 y en la figura 6; se observa proporción de linfocitos en crías de alpaca de la Estación Experimental Illpa, Anexo Quimsachata; donde a la

prueba F se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.01$), en la variación de porcentaje de linfocitos en crías de alpacas suministrada con 10 mL, 15 mL y 0 mL mostraron porcentajes de 38.14, 41.6 y 21.33 %, respectivamente. Lo cual indica que hubo efecto de dosis de probióticos por que el promedio de 15mL y 10mL son mayores al del grupo control. Lo cual indica que los probióticos contribuyeron a instalar una flora beneficiosa (*Lactobacilos bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) en el tracto intestinal, que ayudaron a poblar el intestino y protegen de infecciones gastrointestinales, contribuyendo además durante el periodo neonatal a favorecer el desarrollo del sistema inmunológico (Palencia, 2005). Estos reportes son mayores excepto en tratamiento de 0mL que es menor al reporte de (Escalante, 2017). Que indican 30.47% para los linfocitos a los dos meses de nacido para cría de alpaca. También son mayores a los reportes de (Rios, 2003) que reporta 22.6% en guanacos a los dos meses de edad.

V. CONCLUSIONES

- La suplementación con probióticos en crías de alpacas influye en la presentación del complejo entérico neonatal, ya que estadísticamente es significativo presentándose mayor morbilidad en el grupo control con respecto a los tratamientos. En cuanto a la mortalidad no existe diferencia. significativa.
- Los niveles séricos de inmunoglobulinas totales en crías de alpacas fueron similares en los tres tratamientos.
- La proporción de neutrófilos ($P \geq 0.05$), monocitos y linfocitos mostraron alta variabilidad ($P \leq 0.01$) por efectos de dosis de probióticos con respecto al control, indicándonos que los probióticos estimulan una respuesta inmune celular.

VI. RECOMENDACIONES

- Se debe implementar la aplicación de probióticos en dosis de 15 mL en crías post nacimiento para mejorar los porcentajes de serie blanca sanguínea para evitar infecciones bacterianas.
- La utilización de otras cepas probióticos como Bifidobacterium y cepas prebióticas nativas.

VII. REFERENCIAS

- Ameghino E, De Martini, Ramirez.1991.** Mortalidad de crías de alpacas. Bol Div IVITA, Lima. p 71-80. Enfermedades infecciosas.
- Ameghino E. 1991.** Causas de mortalidad en crías de alpacas. En: Fernández-Baca S (ed). Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Santiago de Chile: FAO. p 149-200.
- Arturo M. 2014:** Eritrocitos y eritrocitopatías. Hematología, Vol.18 N° 2: 151-155.
- Benjamín, M. 1991.** Manual de patología clínica en veterinaria. Editorial: Limusa-Mexico.parte I.
- Bustinza V. 2001.** La alpaca: conocimiento del gran potencial andino. Puno, Peru: Univ Nac del Altiplano. 496 p.
- Bruce A, 2002.** "Leukocyte functions and percentage breakdown". Molecular Biology of the Cell (4th ed.). New York Garland Science.
- Cagigas A. L., Blanco J. 2002.** La simbiosis entre prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. Revista cubana alimentnutr. 16(1): 63-8.
- Condori C.2015.** Absorción de inmunoglobulinas G heterologa en crías de Alpaca Huacaya en el CIP – La Raya.
- Cunningham, K. 2009.** Fisiología veterinaria. Servicios integrales.
- Días 2014, Villers y Blackwood 2013.** Recuento de leucocitos.
- Devlin, T. M. 2004.** Bioquímica, 4ª edición. Reverte, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4

- Escalante L.2017.** Valores hematológicos, bioquímicos sanguíneos y urinarios en crías de alpacas Huacaya (*Vicugna pacos*) menores de dos meses en el CIP-Raya.
- FAO. 1996.** Producción y Sanidad Animal. Manual de Practicas de manejo de Alpacas y Llamas. Italia.
- Fuller, 1989.** Probióticos.
- Harbarth, S. Samore, M. 2005.** Antimicrobial resistance determinants and future control. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 794-801.
- INIA, 2000.** Programa Nacional de Innovación Agraria en camélidos realiza trabajos de investigación e innovación.
- Kadwell, M. 2001.** Genetic analysis reveals the wild ancestors of llama and alpaca. *Proceeding of the Royal Society London B.*, 268, 2575-2584.
- Linares, D.2009.** Efecto del plasma sanguíneo vía oral en la concentración de Ig en crías perinatas (*Lama pacos*). Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Jorge Basadre Grohmann. Tacna - Perú.
- Mamani P, Javier, Condemayta C, Zacarías, Calle Ch, Leoncio. 2009.** Causas de mortalidad de alpacas en tres principales centros de producción ubicados en puna seca y humedad el departamento de Puno REDVET. *Revista electrónica de Veterinaria*. ISSN: 1695-7504 2009 Vol. 10, Nº 8
- Palencia S. 2005.** La cepa del yogur como probiotico, una alternativa en la salud y mejora del ternero - *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*.
- Pardio V.1994.** Los probióticos y su futuro. *Arch Latinoam Nutr*.
- Pérez D. 2010.** Caracterización toxigenica de la fosfolipasa C del *Clostridium perfringens* (Cp.- PLC) y su relación con aislados casos de enterotoxemia

en alpacas. Tesis de Magister. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 151 p.

Pérez D, Rosadio. 2010. Eimeria macusaniensis associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. Vet Parasitol 168: 116-120.

Penna FJ.1998. Diarrea y probióticos. Simposio sobre utilidad de los probióticos en el manejo de las diarreas. Rev Enfer Infec Ped.

Portal Agrario. 2009. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe>.

Quera P., R, Quigley, E, Madrid AM. 2005. El rol de los prebióticos, probióticos y simbióticos en gastroenterología. Gastroenterol. latinoam;2005 16(3):218-228.

Quispe, W.2009. Determinación del tiempo de producción de Ig en crías de alpacas (Vicugna pacos). Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Jorge Basadre Grohmann. Tacna - Perú.

Ramírez A.1985. Enterotoxemia de la alpaca. Programa colaborativo de apoyo a la investigación en rumiantes menores. Serie Reporte Técnico. Lima. 63: 1-17.

Ramírez A. 1991. Enfermedades infecciosas. En: Fernández-Baca S (ed). Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Santiago de Chile: Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. p263-324.

Ríos, P. 2003. Cambios hematológicos, bioquímica sanguínea y cortisol sérico en crías de guanaco en cautiverio desde el nacimiento hasta el destete. Avances en Ciencias Veterinarias – VOL. 18, N°1 y N°2.

Rosadio R, Ameghino E. 1994. Coccidial infections in neonatal Peruvian alpacas. Vet Rec 135:459-460.

Sharpe, S. 2009. Morbilidad y Mortalidad pre- destete de llamas y alpacas. Aust.Vet J.

Tizar I. 2009. Inmunología Barcelona, España

VIII. ANEXOS

CUADRO A1: PRUEBA DE JI - CUADRADO PARA TASA DE MORTALIDAD EN CRÍAS DE ALPACAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA, ANEXO QUIMSACHATA.

Dosis de probióticos	Nº de crías vivos		Nº de crías muertos		Total de crías suministradas
	O _i	E _i	O _i	E _i	
15 mL	15	14.7	0	0.3	15
10 mL	14	14.7	1	0.3	15
0 mL	15	14.7	0	0.3	15
Totales	44		01		45

$X^2_c = 2.29$

$X^2_{t 0.05} = 5.99$

$(P \geq 0.05)$

CUADRO B 2: ANVA PARA INMUNOGLOBULINAS EN CRIAS DE ALPACAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA, ANEXO QUIMSACHATA.

$CV (\%) = 12.88 \%$

F.V.	G.L.	SC	CM	F _c	Pr>F	F _t (α=0.05)
Tratamiento	2	6575.08	3287.54	0.471	< 0.204	3.23
Error experim.	41	286468.09	6987.03			
Total	43	293043.17				

CUADRO C3: ANVA PARA PROPORCIÓN DE NEUTRÓFILOS EN CRÍAS DE ALPACAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA, ANEXO QUIMSACHATA.

F.V.	G.L.	SC	CM	F _c	Pr>F	F _t (α=0.01)
Tratamiento	2	1911.77	955.885	22.14	< 0.000	5.18
Error experim.	41	1770.22	43.176			
Total	43	3682.09				

CV (%) = 13.26 %

CUADRO D4: ANVA PARA PROPORCIÓN DE MONOCITOS EN CRIAS DE ALPACAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA, ANEXO QUIMSACHATA.

F.V.	G.L.	SC	CM	F _c	Pr>F	F _t (α=0.01)
Tratamiento	2	1117.334	558.667	17.22	< 0.000	5.18
Error experim.	41	1329.848	32.435			
Total	43	2447.182				

CV (%) = 33.75 %

CUADRO E5: ANVA PARA PROPORCIÓN DE LINFOCITOS EN CRIAS DE ALPACAS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL ILLPA, ANEXO QUIMSACHATA.

F.V.	G.L.	SC	CM	F _c	Pr>F	F _t (α=0.01)
Tratamiento	2	3505.989	1752.99	11.05	< 0.000	5.18
Error experim.	41	1716.647	41.87	41.87		
Total	43	5222.636				

CV (%) = 19.26%

FORMULA DE LA PRUEBA DE DUNCAN

$$\text{DUNCAN} = (\alpha, t, \text{GLe}) * s_{\bar{d}}$$

- α= Nivel de probabilidad
- t = Numero de tratamientos
- GLe= Grados de libertad del error experimental
- $s_{\bar{d}}$ = Error estándar de media de tratamiento

**CUADRO F 6: TRATAMIENTO
CON PROBIOTICOS 10 mL**

COLLAR	ARETE	FECHA NACIM.	RAZA	COLOR	SEXO	PESO NACIM.	PESO a 60 dias	lg ser. UTSZ a 60 dias	% LEUCOCITOS A 60 DIAS			
									N	M	L	TOT
51	59117	24/01/2017	H	negro	HEMBRA	6.5	18	5.7	28	30	42	100
52	69117	26/01/2017	H	café	CAFÉ	5	13	5.4	44	28	28	100
53	67117	26/01/2017	H	negro	CAFÉ	5	13	6.4	34	28	38	100
54	91217	1/02/2017	H	café	HEMBRA	6	15	6.1	38	30	32	100
55	118217	10/02/2017	H	café	CAFÉ	5.5	15	5.8	44	24	32	100
56	116217	10/02/2017	H	café	CAFÉ	5	14	6.4	40	24	36	100
57	120217	10/02/2017	H	negro	MACHO	6	16	7.4	42	18	40	100
58	232317	8/03/2017	H	LF	MACHO	6.5	14	5.7	42	6	52	100
59	133217	13/02/2017	H	café oscuro	MACHO	7	18	7.7	44	10	46	100
60	207217	28/02/2017	H	blanco	MACHO	6	14	7.1	50	16	34	100
61	208217	28/02/2017	H	LF	MACHO	5	14	6.8	48	8	44	100
62	209217	28/02/2017	H	blanco	MACHO	7.5	19	6.5	44	22	34	100
63	216317	2/03/2017	H	blanco	MACHO	5.5	12	6.5	42	16	42	100
					MUERTO							0
65	242317	11/03/2017	H	LF	MACHO	6	14	7.0	44	22	34	100

**CUADRO G 7: TRATAMIENTO
CON PROBIOTICOS 15 mL**

COLLAR	ARETE	FECHA NACIM.	RAZA	COLOR	SEXO	PESO NACIM.	PESO a 60 días	lg ser. UTSZ a 60 días	% LEUCOCITOS A 60 DIAS			
									N	M	L	TOT
81	72117	24/01/2017	H	blanco	HEMBRA	5	14.5	3.4	66	12	22	100
82	248317	14/03/2017	H	blanco	MACHO	5	14	7.0	50	6	44	100
83	98217	3/02/2017	H	café	MACHO	5.5	15.5	7.2	42	14	44	100
84	92217	1/02/2017	H	blanco	MACHO	6	14.5	6.3	52	4	44	100
85	94217	2/02/2017	H	café oscuro	MACHO	6.5	17.5	6.6	42	12	46	100
86	141217	17/02/2017	H	gris	HEMBRA	7	17	6.5	48	14	38	100
87	144217	18/02/2017	H	blanco	MACHO	5	12	6.5	48	4	48	100
88	146217	18/02/2017	H	blanco	MACHO	5.5	14	8.2	46	10	44	100
89	149217	19/02/2017	H	café	HEMBRA	6	14	7.1	44	8	48	100
90	154217	20/02/2017	H	café	MACHO	6	14	6.7	48	12	40	100
91	155217	20/02/2017	H	blanco	HEMBRA	6.5	16	7.3	38	14	48	100
92	162217	21/02/2017	H	blanco	HEMBRA	5	11	6.1	36	8	56	100
93	168217	22/02/2017	H	negro	MACHO	6	18	7.0	54	18	28	100
94	177217	23/02/2017	H	negro	HEMBRA	5	16	7.2	58	4	38	100
95	246317	13/03/2017	H	blanco	MACHO	5.5	14	6.6	56	8	36	100

**CUADRO H 8:
TRATAMIENTO
CONTROL**

COLLAR	ARETE	FECHA NACIM.	RAZA	COLOR	SEXO	PESO NACIM.	PESO a 60 ías	lg ser. UTSZ a 60 días	% LEUCOCITOS A 60 DIAS			
									N	M	L	TOT
66	35117	19/01/2017	H	cc	HEMBRA	6	15	5.6	65	17	18	100
68	41117	21/01/2017	H	negro	HEMBRA	5	13	5.6	59	20	21	100
71	45117	22/01/2017	H	blanco	MACHO	5.5	15	5.3	66	12	22	100
72	47117	22/01/2017	H	cc	MACHO	6.5	15.5	7.1	60	22	18	100
74	50117	23/01/2017	H	c	MACHO	5	15.5	6.4	53	24	23	100
77	55117	23/01/2017	H	gris	MACHO	5	13	6.8	46	26	28	100
75	81117	31/01/2017	H	cc	MACHO	5	13	6.9	60	22	18	100
76	83117	31/01/2017	H	gris	HEMBRA	5	14	7.4	51	27	22	100
78	84117	31/01/2017	H	c	HEMBRA	5	13	6.8	51	24	25	100
79	125217	11/02/2017	H	blanco	HEMBRA	6	11	6.0	55	24	21	100
70	128217	12/01/2017	H	blanco	HEMBRA	5	16	6.9	59	21	20	100
69	129217	12/02/2017	H	negro	HEMBRA	6	14	6.5	54	19	27	100
80	122217	11/02/2017	H	negro	HEMBRA	5	13	7.0	61	18	21	100
73	169217	22/02/2017	H	café	HEMBRA	5	12	4.9	64	20	16	100
67	145217	18/02/2017	H	blanco	HEMBRA	5	11	6.1	64	16	20	100

Figuras A1. ADMINISTRACION DE DOSIS DE PROBIOTICOS.



Figuras B2. EXTRACCION DE SANGRE A LOS DOS MESES DE EDAD.



**Figuras C3. FROTIS SANGUINIO Y COLORACION CON TINCION
WRIGHT**

