



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



[Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0



CONSTANCIA DE REVISIÓN

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud a la Tesis cuyo título es:

"Efecto del flavonoide silimarina en la respuesta inmune celular y productiva en lechones post destete"

presentado por:

DONGO CHACALIAZA DEYANIRA MADELEYNE

Estudiante del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**. El resultado obtenido es 10% por el cual se otorga el calificativo de: **APROBADO**, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones: Ninguna

Ica, 04 de octubre del 2023

.....
Dr. JUAN RAMON CANEPA ARCOS
Director de unidad de investigación
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.



TITULO:

**“EFECTO DEL FLAVONOIDE SILIMARINA EN LA RESPUESTA INMUNE CELULAR
Y PRODUCTIVA EN LECHONES POST DESTETE”**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Salud pública y conservación del medio ambiente

TESIS

AUTOR:

DONGO CHACALIAZA DEYANIRA MADELEYNE

ASESOR:

DR. MANUEL ALFONSO ABETIS APOLAYA

ICA, PERÚ

2024

DEDICATORIA

A Dios que ha sido mi guía, fortaleza y con su amor ha estado conmigo hasta el día de hoy, aprendí que solo en tus manos podemos lograr nuestras metas.

A mis padres Angel Dongo e Ynes Chacaliaza quienes con su amor y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir un sueño más, gracias por inculcarnos a nosotros tus hijos el ejemplo del esfuerzo, son mi mejor ejemplo.

A mis segundos padres Jesus Dongo y Maria Pazsoldan, por ser el canal de bendición y por haberme aceptado como su hija.

A mi pareja Reynaldo Santos por su ayuda fundamental y tantos aportes, no sólo en mi tesis sino en mi vida. Gracias

Al mejor regalo que la vida me dio mi hijo Renato, que será mi mayor tesoro y la fuente más pura de mi inspiración para continuar con este proyecto y seguir creciendo profesionalmente.

A mis hermanos por su cariño y apoyo incondicional, durante este proceso.

Que este logro sea un ejemplo para todos ustedes, que solo el cielo es el límite.

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento a la universidad San Luis Gonzaga de Ica, quien me abrió las puertas para poder formarme profesionalmente.

A mi asesor de tesis Manuel Alfonso Albetis Apolaya, por aceptarme para realizar el trabajo en el desarrollo de mi tesis

También al resto de profesores ya que gracias a ellos puedo compartir sus conocimientos.

INDICE GENERAL

RESUMEN	10
ABSTRACT	13
I. INTRODUCCION	14
II. MATERIALES Y METODOS	18
2.1. Lugar y fecha de la ejecución.....	17
2.2. Instalaciones utilizadas.....	17
2.3. Materiales y Equipos.....	17
2.4. Tipo y nivel de investigación.....	18
2.5. Metodología de la investigación.....	18
2.6. Tratamientos.....	21
2.7. Variables:	22
2.8. Diseño experimental.....	23
2.9. Análisis estadístico.....	23
III. RESULTADOS	25
3.1. Niveles de totales de linfocitos T cooperadores (CD4+), citotóxicos (CD8+) y dobles positivos (CD4+CD8+).....	24
3.2. Niveles de totales de linfocitos B (CD21+) y Monocitos/Granulocitos.....	25
3.3. Gráficos.....	27

3.3.1. Resultados Linfocitos T	27
3.3.2. Resultados Linfocitos B, Monocitos y granulocitos	28
3.4. Peso final (kg), para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.	29
3.5. Conversión alimenticia final, para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados	31
En la tabla 7 se observa los promedios de la conversión alimenticia (C.A.) para el tratamiento con el uso de silimarina comparado con el grupo dexametasona y control.	31
3.6. Tasa de morbilidad (Unidad) y persistencia de diarrea (Horas), con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados	33
IV. DISCUSION.....	35
V. CONCLUSION.....	37
VI. RECOMENDACIONES.....	38
VII. BIBLIOGRAFIA.....	39
VIII. ANEXOS.....	42

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. De contingencia para determinar el efecto del uso de Silimarina sobre la inmunología celular y productiva en lechones destetados.....	22
Tabla 2. Operacionalización de variables	26
Tabla 3. Valores en porcentajes del total de linfocitos de poblaciones CD3+CD4+ (Linfocitos T cooperadores), CD3+CD4+CD8+ (Linfocitos dobles positivos) y CD3+CD8+ (linfocitos T citotóxicos). El promedio y la desviación estándar fue determinado por el programa FlowJo 10.7.1 (software de análisis de citometría de flujo).....	29
Tabla 4. Valores en porcentajes del total de leucocitos por muestra de población CD21+ (Linfocitos B, Monocitos y Granulocitos. El promedio y la desviación estándar fue determinado por el programa FlowJo 10.7.1 (software de análisis de citometría de flujo).....	31
Tabla 5. Peso final (kg), para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.....	33
Tabla 6. Conversión alimenticia final, para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.....	35
Tabla 7: Tasa de morbilidad (Unidad) y persistencia de diarrea (Horas), con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.	37

INDICE DE FIGURA

Figura 1. Niveles de linfocitos T cooperadores (CD3+CD4*), linfcitos T citotóxicos (CD3+CD8+) y linfocitos doble positivo (CD3+CD4+CD8+) por muestra.....	25
Figura 2. Niveles de leucocitos por muestra (T2, D2 y S3), en grafico se muestra. A). Población CD21+ (Linfocitos B. B Poblaciones de Monocitos y Granulocitos.....	27
Figura 3. Gráfico de barras niveles de Linfocitos T.....	28
Figura 4. Gráfico de barras niveles de Linfocitos B (CD21+), monocitos y granulocitos por muestra.....	29
Figura 5. Peso final (Kr), para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados	33
Figura 6. Conversión alimenticia final, para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados	35

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Pruebas estadísticas para determinar diferencias estadísticas para peso final (70d) en lechones, cuando se usa Dexametasona y Silimarina como inmunomoduladores.....	41
Anexo 2. Pruebas estadísticas para determinar diferencias estadísticas para conversión alimenticia final (70d) en lechones, cuando se usa Dexametasona y Silimarina como inmunomoduladores.....	47
Anexo 3. Foto de la granja.....	49
Anexo 4. Fotos de los animales por grupo de la granja.....	48
Anexo 5. Sujeción y peso de los lechones	49
Anexo 6. Administración de los aditivos	50
Anexo 7. Toma de muestras.....	59
Anexo 8. Resultados.....	58
Anexo 9. Formulas.....	58

INDICE DE FOTOS

FOTO N° 1 Granja camote	46
FOTO N° 2 Galpón de cerdos	47
FOTO N° 3 Granja camote	47
FOTO N° 4 Lote experimental de lechones de 30 días con el uso de dexametasona	48
FOTO N° 5 Lote experimental de lechones de 30 días con el uso de silimarina	48
FOTO N° 6 lote de lechones testigo sin aditivos	49
FOTO N° 7 PESAJE DE LECHONES POR LOTE	49
FOTO N° 8 Pesaje de lechones por lote.....	50
FOTO N° 9 Aditivo silimarina listo para dosificar	50
FOTO N° 10 Obtenemos una dosis exacta por animal con la gramera (gr).....	52
FOTO N° 11 dosificación de la silimarina, utilizando la gramera (gr).....	52
FOTO N° 13 separación de las dosis por lote	53
FOTO N° 12 Separación del aditivo de dexametasona.....	53
FOTO N° 15 separación y pesaje del aditivo de dexametasona.....	54
FOTO N° 16 Toma de muestra de la vena cefálica, para análisis por citometría de flujo	55
FOTO N° 17 toma de muestra de la vena cefálica del lechón	56
FOTO N° 18 rotulación de la toma de muestra y homogenización	57
FOTO N° 19 Resultado al décimo día, en las heces post tratamiento.....	58
FOTO N° 20 cambio notorio en heces, un aspecto mas solido pos tratamiento	58

RESUMEN

Introducción. El destete es un proceso que causa estrés para los lechones recién destetados, que conduce a una respuesta inmune sistémica que afecta negativamente la fisiología digestiva y el crecimiento post destete de los cerdos.

En nuestro medio las condiciones sanitarias son ineficientes y esta situación afecta significativamente la ganancia de peso y eficiencia alimenticia de los recién destetados. Con la finalidad de contrarrestar esta actividad negativa que afecta a los tejidos blandos, se han usado glucocorticoides y se determinó que mitiga en parte los efectos negativos de la inflamación sistémica; se usó también otro producto como resveratrol, un fenol vegetal y los resultados demostraron que se alivió la inflamación intestinal y la diarrea. En todo este proceso de inflamación las principales sustancias que intervienen son las citoquinas que conducen a una fibrogenesis y lipogenesis, lo que trae como consecuencia una degeneración de los tejidos y órganos.

Por otro lado, muchos estudios de la acción de la Silimarina contra los procesos de inflamación degenerativa contrarrestan las respuestas inmunológicas negativas que producen deterioro a nivel digestivo, hepático, entre otros órganos y retornen como un proceso de regeneración a su actividad de síntesis de proteínas, por lo que proponemos este aditivo para elevar los rendimientos productivos de los porcicultores.

OBJETIVO: Evaluar el efecto del flavonoide Silimarina en la respuesta inmune celular y productiva en lechones post destete.

MÉTODOS: Se realizó en una granja porcina denominada “Camote” ubicada en el Distrito de Chincha Alta, Provincia de Chincha y Departamento Ica.

Se utilizó una investigación experimental. Se utilizaron sesenta lechones recién destetados, híbridos, todos destinados para carne, divididos en tres tratamientos: T1: Control, T2: Dexametasona (0,02 mg/kg) y T3: Silimarina (20mg/animal), cada tratamiento con 4 réplicas. Se evaluó la subpoblación linfocitarias, peso final, conversión alimenticia final, tasa de morbilidad y persistencia de diarrea.

Diseño experimental: Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) para medidas cuantitativas, con un nivel de significancia del 5%.

Resultado: Los valores de linfocitos T son normales y guardan relación con la edad de los animales sin diferencias significativas entre los individuos. Para el tratamiento con “Dexametasona” (D2), presentaron un bajo valor de Linfocitos B (poca respuesta de anticuerpos), altos valores de Monocitos y Granulocitos (posible infección viral o vacunación reciente). Para el tratamiento con “Silimarina” (S3) presentaron un bajo valor de Linfocitos B (poca respuesta de anticuerpos).

Conclusiones: La Silimarina actúa como un inmunomodulador regulando la respuesta inflamatoria e incrementa la respuesta inmunológica celular más que la humoral, evitando procesos degenerativos que ocasionan cuadros de mala absorción y catálisis, que deprimiría el consumo de alimento y por lo tanto, la disminución del peso después del destete.

Palabras claves: Silimarina, dexametasona, destete, inmunomoduladora.

ABSTRACT

INTRODUCTION. Weaning is a stressful process for newly weaned piglets, which leads to an immune response that negatively affects the digestive physiology and post-weaning growth of pigs. In our environment, sanitary conditions are inefficient and this situation significantly affects the weight gain and feed efficiency of the newly weaned. In order to counteract this moderate activity of the body, glucocorticoids have been used and to prolong, which partly mitigates the negative effects of systemic inflammation, another product such as resveratrol, a vegetable phenol, was also used, and the results showed that the intestinal inflammation and diarrhea. Cytokines that lead to fibrogenesis and lipogenesis that lead to degeneration of tissues and organs are involved in this entire process of inflammation. There are many studies on the action of silymarin against these processes of degenerative inflammation, for this reason we propose this additive to counteract the negative immunological responses that cause deterioration in the digestive, hepatic and other organs and return as a regeneration process to its protein synthesis activity and thus increase the productive yields of producers.

OBJECTIVE: To evaluate the effect of the flavonoid silymarin on the cellular and productive immune response in post-weaning piglets.

METHODS: It was carried out in a "Camote" pig farm in the Chinchá Alta district, Chinchá province, Ica-Peru Department, an experimental investigation was conducted, 60 recently weaned hybrid piglets were used, all destined for meat, divided into three treatments. : Control (20n), dexamethasone (20n), 0.02 mg/kg and silymarin 20mgr (20n), each treatment with 4 replicates and lymphocyte subpopulations were evaluated, final weight, final feed conversion, morbidity rate and persistence of diarrhea .

EXPERIMENTAL DESIGN: A completely randomized design (DCA) was obtained for quantitative measurements, with a significance level of 5%.

RESULT: The values of T lymphocytes are normal and are related to the age of the animals without significant differences between the individuals. For the treatment "Dexamethasone" (D2) presents a low value of B Lymphocytes (poor test response). High values of Monocytes and

Granulocytes (possible viral infection or recent vaccination). For the treatment "Silymarin" (S3) presents a low value of B Lymphocytes (poor test response). Normal Monocyte value and a high Granulocyte value (possible bacterial infection or parasitemia)

For the final weights at 70 days of age, the following results were found: the silymarin group (30.10+/-0.37gr) in the diet had a better response, followed by dexamethasone (28.74+/-0.38) and the control (27.61+/-0.69) gr, had a lower response than the two treatments, $P < 0.05$, with a significant difference between the three groups.

The feed conversion the silymarin group had, (6.63+/-0.072) of feed conversion, followed by the dexamethasone group (1.68+/-0.074) and the one with the lowest response was the control (1.77+/-0.018), respectively . There is a clear difference between the three groups, $P < 0.05$.

CONCLUSIONS: Silymarin does act as an immunomodulator, regulating the inflammatory response and increases the cellular immune response more than the humoral one, preventing degenerative processes that cause malabsorption and catalysis, which would depress food intake and therefore weight loss. after destination.

Keywords: Silymarin, dexamethasone, weaning, immunomodulatory.

I. INTRODUCCION

El destete en los lechones conduce a una respuesta inmune sistémica que afecta negativamente la fisiología digestiva y el crecimiento post destete de los cerdos. En nuestro medio, las condiciones sanitarias son ineficientes, esta situación afecta la ganancia de peso y eficiencia alimenticia desde el destete hasta los 21 días post destete, lo cual demuestra que cuando se evaluaron lechones destetados en ambientes insalubres, se encontraron concentraciones más altas de haptoglobina, cobre, vitamina B12 y lisina, pero en concentraciones bajas de glutatión, piridoxal-5-fosfato, ácido fólico, treonina y triptófano. Esta respuesta podría explicarse por una activación moderada de las defensas corporales (1).

Con la finalidad de atenuar los efectos indicados de la actividad moderada de las defensas corporales, se realizaron experimentos para evaluar los efectos de un agonista del receptor de glucocorticoides (ARG), sobre el rendimiento en el crecimiento, las medidas de la función inmunológica y la integridad intestinal de los cerdos destetados. Se determinó que el ARG mejoró en parte el rendimiento del crecimiento de los cerdos, al mitigar los efectos negativos de la inflamación sistémica (2).

El resveratrol, definido como un fenol vegetal, previene la inflamación y el cáncer. Es un vegetal como el Cardiomariano (Silimarina), el mismo que se utilizó en la dieta materna para contrarrestar cuadros de diarreas en sus crías, inflamación intestinal y morfología intestinal durante el destete; los resultados demostraron que se alivió la inflamación intestinal, la diarrea asociadas al destete y mejoró la morfología intestinal en la descendencia.

El análisis de la vía de la enciclopedia de genes y genomas de Kyoto demostró que los genes expresados diferencialmente en los lechones destetados y post destete estaban enriquecidos para el receptor de células T, la inmunodeficiencia primaria, la proteína quinasa activada por mitógenos, las vías de señalización de RAS y para la vía de interacción citosina-receptor de citosina y vías relacionadas con el metabolismo en lechones después del destete (4).

Los factores de transcripción son proteínas muy especializadas que reconocen secuencias específicas de DNA en la región reguladora de todos los genes. La unión de los factores del DNA de esta región promotora regula positiva o negativamente la expresión y la subsecuente producción

de la proteína codificada por el gen en cuestión, estos pueden ser constitutivos e inducibles, siendo los últimos de gran importancia en el desarrollo de la presente investigación, toda vez que regulan la expresión de genes que solamente se utilizan en ciertos tipos celulares o en ciertos momentos de la vida de la célula. Esto quiere decir que, en cada célula debe existir un programa de regulación de la expresión génica que se adapte a sus funciones particulares y su entorno (5), tal como ocurre en los lechones durante la etapa post destete.

Las citocinas son proteínas que regulan la función de las células que las producen sobre otros tipos celulares. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membranas, funciones de proliferación, diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas. Son producidas fundamentalmente por los linfocitos y los macrófagos activados, aunque también pueden ser producidas por leucocitos polimorfonucleares (PMN), células endoteliales, epiteliales, adipocitos, del tejido muscular (miocitos) y del tejido conjuntivo (6).

La interleucina (IL)-6 es familia de las citoquinas que consta de IL-6, IL-11, entre otros. Las citocinas de la familia IL-6 tienen actividades biológicas superpuestas, pero también distintas y están involucradas, entre otras, en la regulación de la reacción de fase aguda hepática, en la estimulación de las células B, en la regulación del equilibrio entre las células T reguladoras y efectoras, en la regulación metabólica, y en muchas funciones neuronales. Se ha demostrado que el bloqueo de las citocinas de la familia IL-6 es beneficioso en enfermedades autoinmunes, pero se han observado infecciones bacterianas y efectos secundarios metabólicos. Los avances recientes en el bloqueo de citocinas podrían ayudar a minimizar dichos efectos secundarios durante el bloqueo terapéutico (7).

Para contrarrestar la acción negativa de las citocinas, especialmente la proliferación y diferenciación celular (fibrogenesis y lipogenesis), se realizaron estudios utilizando la Silimarina, como principal flavonoide extraído del cardiomariano que se viene utilizando para tratar enfermedades hepáticas para la cual se estudió in vivo sobre la resistencia a la insulina y el hígado graso inducidos en ratones.

La Silimarina (60mg/kg) redujo significativamente la masa grasa y los lípidos plasmáticos elevados. El examen de los niveles de citocinas (TNF α , IL-1 β e IL-6) de esta manera se demostró que el tratamiento con Silimarina disminuye significativamente la inflamación en estos ratones (8).

Dentro de los muchos trabajos de Silimarina, se encontró que cuando se usó etanol en ratones - que produce daño oxidativo - tuvo un efecto inmunológico al prevenir significativamente las actividades

elevadas de la interleucina (IL)-10, el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , el interferón γ (IFN- γ), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) -A y el factor de crecimiento transformante (TGF) - β 1, así como una disminución de la actividad de IL-4 en sangre de ratones (9).

Durante las últimas décadas, los compuestos antimicrobianos se vienen utilizando para promover el crecimiento de los lechones al destete, mediante la prevención de enfermedades subclínicas y clínicas. Sin embargo, existe una preocupación creciente en relación con el desarrollo de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos y el potencial de genes de resistencia que puede afectar la salud humana. Como consecuencia, la Unión Europea (UE) el 1 de enero de 2006, prohibió el uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la producción porcina y ganadera; además el uso de minerales como el Zinc (Zn) y Cobre (Cu) no son alternativas / reemplazos viables a los antibióticos porque su excreción es una posible amenaza para el medio ambiente. Por consiguiente, existe la necesidad de desarrollar programas de alimentación que sirvan como un medio para controlar los problemas asociados con la transición del destete sin utilizar compuestos como antiinflamatorios o antimicrobianos (10).

Las funciones de los glucocorticoides se pueden agrupar en dos grandes polos: acción antiinflamatoria y acción inmunomoduladora. Ambas son beneficiosas para varias patologías inflamatorias, autoinmunes y neoplásicas.

Los efectos antiinflamatorios de los glucocorticoides se ejercen cuando un tejido está sujeto a inflamación, es decir, en condiciones patológicas. Los glucocorticoides pueden inhibir todas las etapas de la reacción inflamatoria, tanto temprana como tardíamente. Controlan así las diferentes etapas de la inflamación: Vasodilatación, edema, migración de leucocitos, estrés oxidativo, fagocitosis. Inhiben la activación de la fosfolipasa A2, la producción de mediadores de la inflamación (prostaglandinas, leucotrienos y PAF-aceter), radicales libres, óxido nítrico (NO).

Los efectos genómicos inducidos en las células de inflamación conducen a la inhibición de la síntesis de ciertas proteínas proinflamatorias por transrepresión de la síntesis de otras proteínas que inhiben la inflamación. Sin embargo, se considera que la transrepresión media la mayoría de los efectos antiinflamatorios que se buscan después de la administración de glucocorticoides (11).

La Silimarina es nuestra propuesta como un aditivo con el objeto de contrarrestar las respuestas inmunológicas negativas que producen deterioro a nivel digestivo, hepático y otros órganos, haciendo que estos órganos tengan cambios fenotipos (fibrogénico y lipogénico) a nivel celular. La Silimarina retorna la acción de síntesis de proteínas y de esta manera, eleva sus rendimientos productivos e inmunológicos que se ven alterados.

II. ESTRATEGIA METODOLOGICA

2.1. Lugar y fecha de la ejecución.

El trabajo se realizó en la granja de cerdos denominado “Camote, Ubicado en el Distrito de Chincha Alta, Provincia de Chincha, Departamento de Ica, bajo la conducción de su propietario Sr. Carlos Tasayco C., durante los meses de Marzo y agosto del 2022.

Ubicación Geográfica Del Experimento.

Latitud.....	14°08'47.36”
Longitud.....	75°40'27.31”
Altitud.....	424 msnm
Temperatura mínima.....	14.25 °C
Temperatura máxima.....	26.95 °C
Humedad relativa min. Promedio.....	68.75%
Humedad relativa máx. Promedio.....	93.25%

Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú SENAMHI-LIMA (2015). Según anexo 1.

2.2. Instalaciones utilizadas.

- Corrales de producción.
- Laboratorio
- Oficina.

2.3. Materiales y Equipos.

- Bebederos.
- Jaulas.

- Guantes
- Balanza de precisión.
- Botas.
- Cámara fotográfica

2.4. Tipo y nivel de investigación.

- a. Tipo: Cualitativo
- b. Nivel: Aplicativo

2.5. Metodología de la investigación.

Población y muestra.

La granja consta de ochenta (80) madres porcinas y una población total de animales correspondiente a (800) unidades, de los cuales doscientos (200) lechones estaban recién destetados.

Cálculo de tamaño muestral para Análisis de varianza.

Riesgo Alfa	0.05
Tipo de contraste	Bilateral
Riesgo Beta	0.20
Número de grupo:	3.00
Desviación estándar común:	0.60
Diferencia mínima a detectar entre grupos	0.50
Proporción prevista de pérdidas de seguimiento	0.100

Aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,20 en un contraste bilateral, se precisan 58 lechones en cada grupo (en el trabajo se redondeó a 60) para detectar una diferencia mínima de 150gr. entre dos grupos, asumiendo que existen 3 grupos y una desviación estándar de 0.60 gr. según Arnaiz V 2009 (12). Se ha estimado una tasa de pérdida de seguimiento.

De la recepción.

Los lechones fueron destetados a los treinta (30) días de edad, se les pesó y trasladó a un ambiente especial para lechones en su condición (destetados). En el ambiente indicado se les seleccionaron para formar los grupos experimentales, se les proporcionó temperatura de 28°C y se les disminuyó 2 grados semanales hasta los 70 días que dura este periodo y el experimento.

Del alimento.

Al destete recibieron alimento de preinicio por 10 días post destete, para luego recibir alimento de inicio hasta el traslado a crecimiento y acabado. El alimento consto de PC 22%, EM, 2.2 Mcal, Calcio, Fósforo y otros requerimientos de acuerdo a la edad correspondiente. El alimento se controló semanalmente para determinar el consumo semanal y determinar la conversión alimenticia

De las fórmulas.

Durante la lactación recibieron alimento de preinicio hasta 10 días post destete.

Desde los 10 días post destete hasta los 70 días de edad la población recibió alimento de inicio, posteriormente alimento de crecimiento y engorde hasta la etapa de venta.

Las fórmulas usadas correspondientes son las siguientes:

Peso inicial (PI), peso final, incremento de peso, conversión alimenticia, peso carcasa.

Se les pesó en la balanza periódicamente para determinar el peso inicial (PI), peso final (PF), incremento de peso (IP), conversión alimenticia (IC), expresado en unidad de medida: Gramos.

Dexametasona.

Glucocorticoide sintético de acción prolongada con marcada actividad antiinflamatoria. Inhibe el proceso inflamatorio de cualquier origen, ya sea químico, mecánico o inmunológico, así como las reacciones de hipersensibilidad mediadas por células. Su potencia antiinflamatoria es veinticinco (25) veces mayor al cortisol y seis (06) veces mayor a la prednisolona. Se usó 0.20 mg por kg de peso vivo en los lechones. La vía que se utilizó fue la vía oral por 5 dosis.

Silimarina.

La Silimarina producto del Cardiomariano, es un producto natural que se utilizó en la presente investigación como inmunomodulador para reducir el cuadro inflamatorio post destete. Se utilizó junto con la dieta a razón de 1 kg/ tonelada de alimento durante todo el periodo del experimento.

Inmunofenotipado de células mononucleares de sangre periférica de cerdo (*Sus scrofa* doméstica)

A). Descripción de la muestra

Se recibieron tres (3) muestras de sangre de cerdos de 40 días de edad, a las 13:00 horas del día 11/11, en tubos de Heparina de Litio (tapa verde), que se mantuvieron a temperatura ambiente desde el momento de su extracción, hasta su arribo al Laboratorio FARVET para realizar el proceso de muestra por Citometría de Flujo.

Los códigos de las muestras son los siguientes:

- 1) T1: Testigo - muestra en buen estado, 2.1 ml.
- 2) D2: Dexametasona - muestra en buen estado, 2.6 ml.
- 3) S3: Silimarina - muestra en buen estado, 2.2 ml

B). Protocolos empleados.

1. Extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs)

Se empleó el protocolo realizado por Cinar et. al. (2013) con modificaciones. Brevemente, se colocó cuidadosamente la sangre extraída de cerdos sobre una capa de Histopaque® 1077. El tubo se centrifuga a 400 g por 30 minutos a temperatura ambiente. Los PBMCs localizados en la capa leucocitaria fueron retirados y colocados en un tubo de centrífuga con Buffer fosfato salino de Dulbecco (DPBS). Se lavaron dos veces y se centrifugaron a 250 g por 10 minutos. Posteriormente se resuspendieron en DPBS + 5% de suero bovino fetal para su caracterización inmunofenotípica. Se emplearon la totalidad de las células obtenidas a partir de estas muestras.

2. Inmunofenotipo de PBMCs.

Para la caracterización inmunofenotípica de PBMCs, se marcaron directamente con anticuerpos conjugados para antígenos de superficie (PE anti-CD3e porcino, FITC anti-CD4a porcino, APC anti-CD8a porcino, FITC anti-CD21 porcino, APC antimonocito/granulocito porcino, todos de Southern Biotech). Estas células fueron adquiridas en un citómetro de flujo (FACSCanto™ II, BD Biosciences), y el análisis fue ejecutado con el programa FlowJo v. 10.6.2 (BD Biosciences).

Se obtuvieron gráficos y valores obtenidos respectivamente

Estado sanitario.

Se revisó diariamente para observar a los lechones si presentan cuadros de morbilidad y mortalidad en una hoja de sanidad.

2.6. Tratamientos.

Tabla 1. De contingencia para determinar el efecto del uso de silimarina sobre la inmunología celular y productiva en lechones destetados.						
Tratamientos	Replicas				Totales	Prom.
	R1	R2	R3	R4	Yij	Yij
Control. (n=20)	Y1	Y2	Y3	Y4		
Dexametasona 0,20 mg/kg p.v. (n=20)	Y5	Y6	Y7	Y8		
Silimarina 200mg/animal (n=20)	Y9	Y10	Y11	Y12		

DCA en UNIFACTORIAL que contiene tres variables: 1era) “Tipo de dieta”, Control (1), Dexametasona (2) y Silimarina (3; 2da) “repeticiones” con valores de 1 a 4; 3era) “Peso de los animales” y “Conversión alimenticia”, estos datos obtenidos para cada tratamiento.

2.7. Variables:

Tabla 2. Operacionalización de variables

Variable	Tipo de Variable	Escala de Medición	Definición conceptual	Definición operacional	Valor	Unidad
Variable dependiente						
El uso Silimarina en lechones post destete	Cuantitativa	Razón	El uso de Silimarina como inmunomodulador y aliviar los cuadros de inflamación en lechones post destete	- Inmunología celular: subpoblaciones linfocitarias - Medidas productivas -	1kg/tonelada	Gramos
Variable independiente						
Peso final ganado- PFG	Cuantitativo	Razón	Es el peso final de los lechones a los 70 días de edad	P.F G= PI –PF PFG= peso final Ganado PI= Peso Inicial PF= Peso final	Productivo	kg
Conversión Alimenticia. C.A,	Cuantitativa	Razón	El consumo de alimento que consume el animal para ganar un kg de peso	$CA = \frac{\text{Cons. Alim.}}{\text{Peso vivo}}$	Productivo	Kg
Mortalidad (Mt)	Cualitativa	Nominal	Animales que se mueren en un periodo adecuado	$Mt = \frac{\text{Enfermos}}{\text{Total Ani}} \times 100$	Sanitario	Porcentaje
Respuesta inmunológica celular	Cualitativa	Nominal	Subpoblaciones linfocitarias que corresponden a la inmunología celular	CD4+ CD24+ CD4+ 24+ Células killer	Inmunológica	Porcentaje

2.8. Diseño experimental.

El diseño que se empleó fue un diseño completamente al azar (DCA).

El Modelo Aditivo Lineal para un DCA

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

$i=1,2,3,\dots,t,\dots$ tratamiento.

$j=1,2,3,\dots,n,\dots$ observaciones.

Y_{ij} = La j -ésima observaciones del i -ésimo tratamiento.

μ = Es la media poblacional a estimar a partir de los datos del experimento.

t_i = Efecto del i -ésimo tratamiento a partir de los datos del experimento.

ε_{ij} =Efecto aleatorio de variación. Variables en estudio:

2.9. Análisis estadístico.

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 23, para obtener ANOVA para un diseño completamente al azar DCA, tablas de media para cada factor y la interacción, la prueba de Levene, gráficos para la interacción y pruebas de separación de medias para cada factor, con un p-valor de 5%. Para las subpoblaciones linfocitarias el promedio y la desviación estándar fue determinado por el programa FlowJo 10.7.1 (software de análisis de Citometría de flujo).

III. RESULTADOS

3.1. Niveles de totales de linfocitos T cooperadores (CD4+), citotóxicos (CD8+) y dobles positivos (CD4+CD8+).

Una vez realizado el procedimiento de aislamiento y marcación de PBMCs (POELICM 035) se obtuvieron los siguientes resultados.

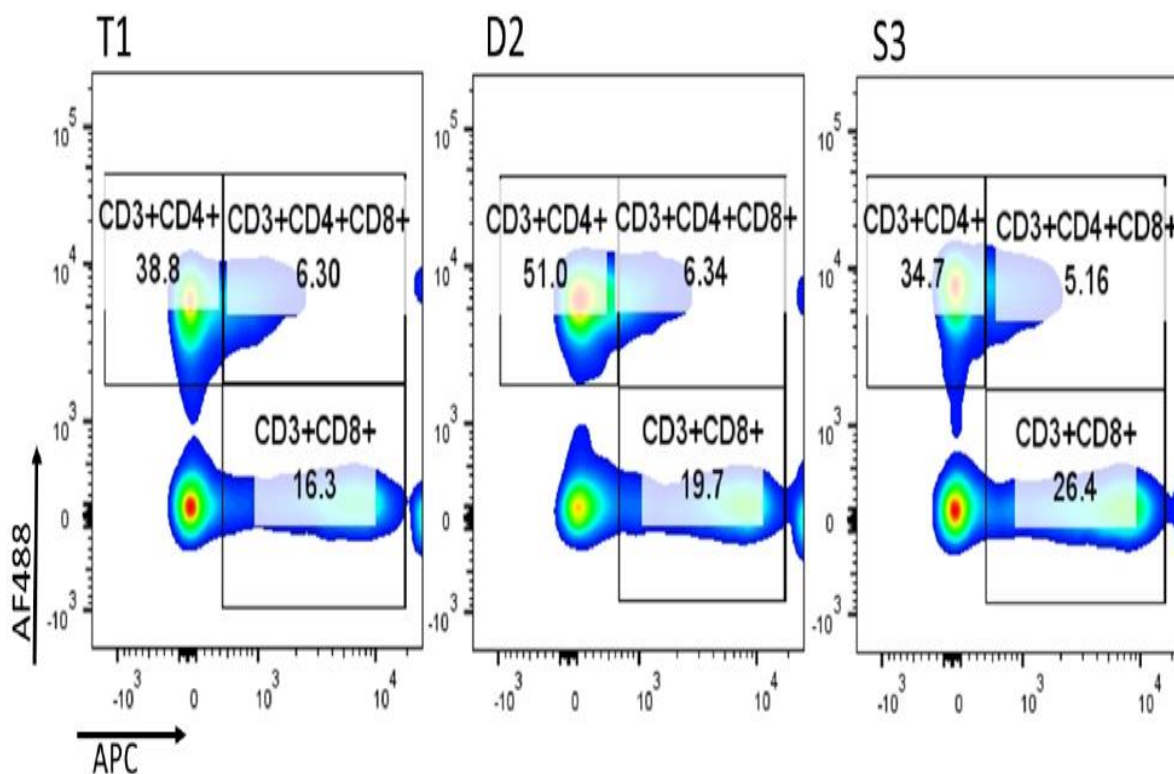


Figura 1. Niveles de linfocitos T cooperadores (CD3+CD4*), linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+) y linfocitos dobles positivo (CD3+CD4+CD8+) por muestra.

Tabla 3. Valores en porcentajes del total de linfocitos de poblaciones CD3+CD4+ (Linfocitos T cooperadores), CD3+CD4+CD8+ (Linfocitos dobles positivos) y CD3+CD8+ (linfocitos T citotóxicos). El promedio y la desviación estándar fue determinado por el programa FlowJo 10.7.1 (software de análisis de citometría flujo).

N°	Muestras	% de Linfocitos T cooperadores (CD3+CD4+)	% de Linfocitos doble positivos (CD3+CD4+CD8)	% de Linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+)
1	T1 (Control)	38.80%	6.30%	16.30%
2	D2 (Dexametasona)	51.00%	6.34%	19.70%
3	S3 (Silimarina)	34.70%	5.16%	26.40%
	Media	41.50%	5.93%	20.80%
	DS	8.48%	0.67%	5.14%

3.2. Niveles de totales de linfocitos B (CD21+) y Monocitos/Granulocitos.

Una vez realizado el procedimiento de aislamiento y marcación de PBMCs de cerdos se obtuvieron los siguientes resultados:

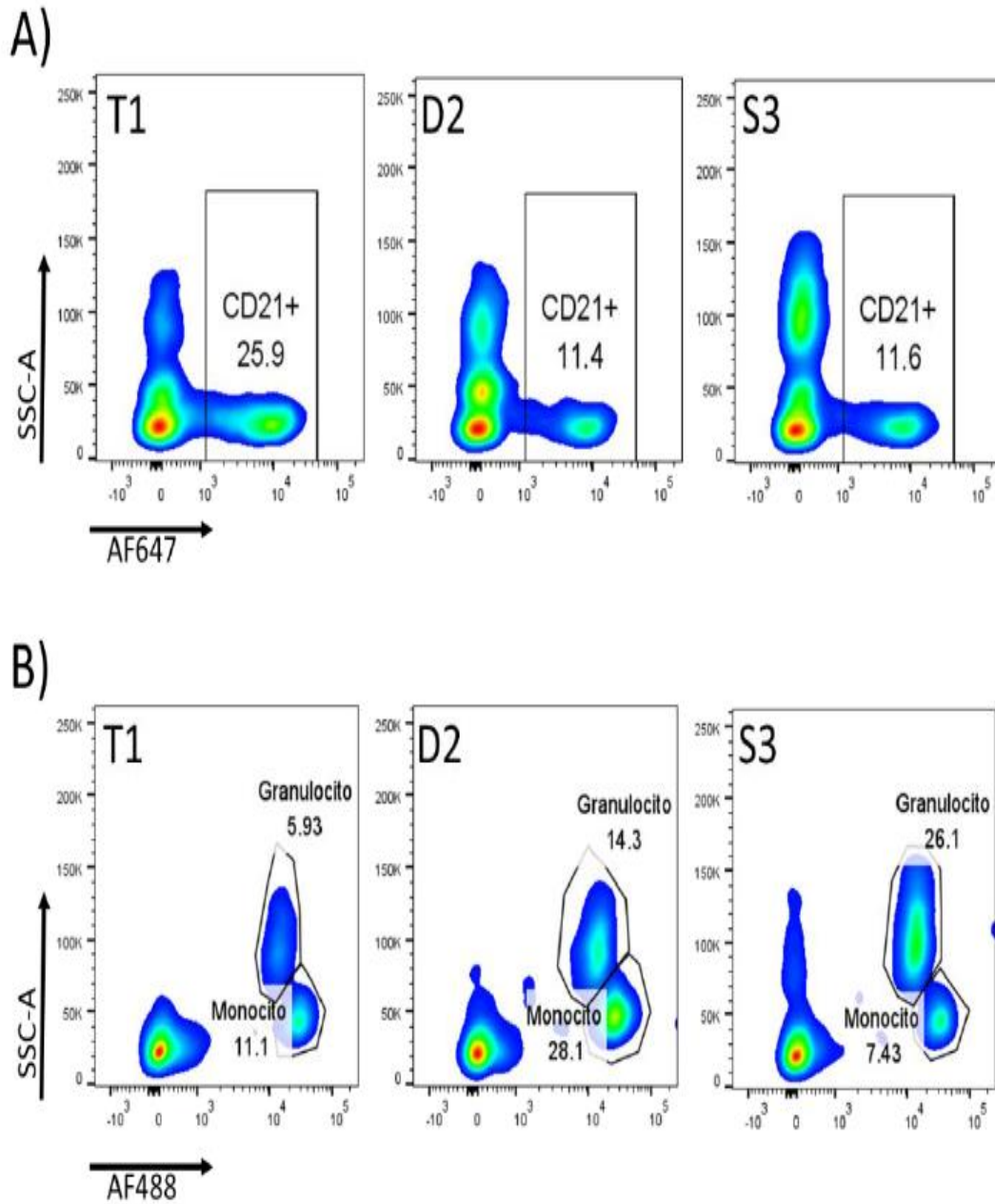


Figura 2. Niveles de leucocitos por muestra (T2, D2 y S3), en grafico se muestra. A). Población CD21+ (Linfocitos B. B Poblaciones de Monocitos y Granulocitos.

Tabla 4. Valores en porcentajes del total de leucocitos por muestra de población CD21+ (Linfocitos B, Monocitos y Granulocitos. El promedio y la desviación estándar fue determinado por el programa FlowJo 10.7.1 (software de análisis de citometria flujo).

N°	Muestras	% de Linfocitos B (CD21+)	% de Monocitos	% de Granulocitos
1	T1 (Control)	25.90%	11.10%	5.93%
2	D2 (Dexametasona)	11.40%	28.10%	14.30%
3	S3 (Silimarina)	11.60%	7.43%	26.10%
	Media	16.30%	15.54%	15.44%
	DS	8.31%	11.03%	10.13%

3.3. Gráficos resumen y resultados tomando en cuenta a los individuos T1 (Testigos) control no tratados.

3.1.1. Resultados Linfocitos T

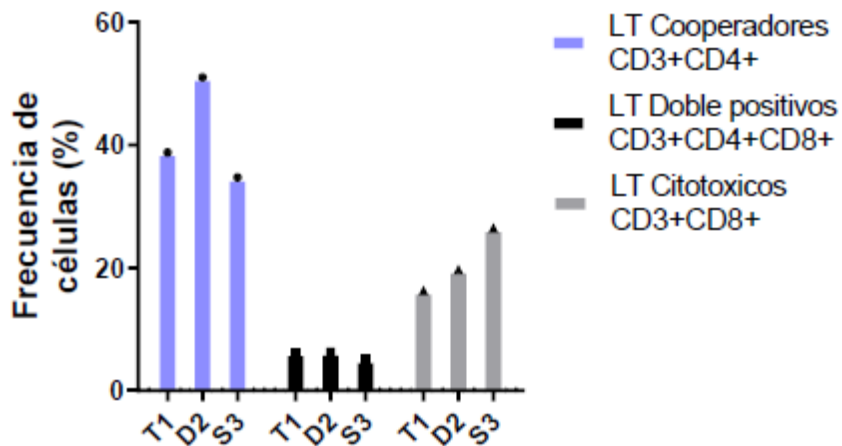


Figura 3. Gráfico de barras niveles de Linfocitos T.

3.1.2. Resultados Linfocitos B, Monocitos y granulocitos

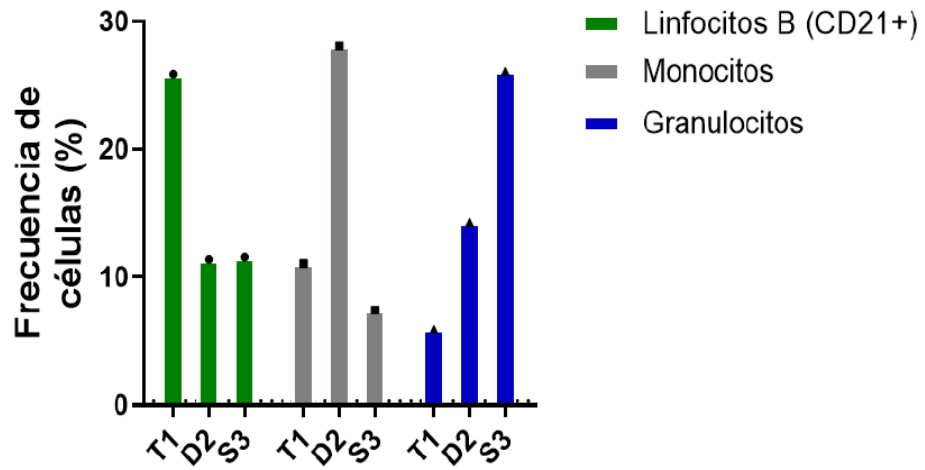


Figura 4. Gráfico de barras niveles de Linfocitos B (CD21+), monocitos y granulocitos por muestra.

3.2. Peso final (kg), para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.

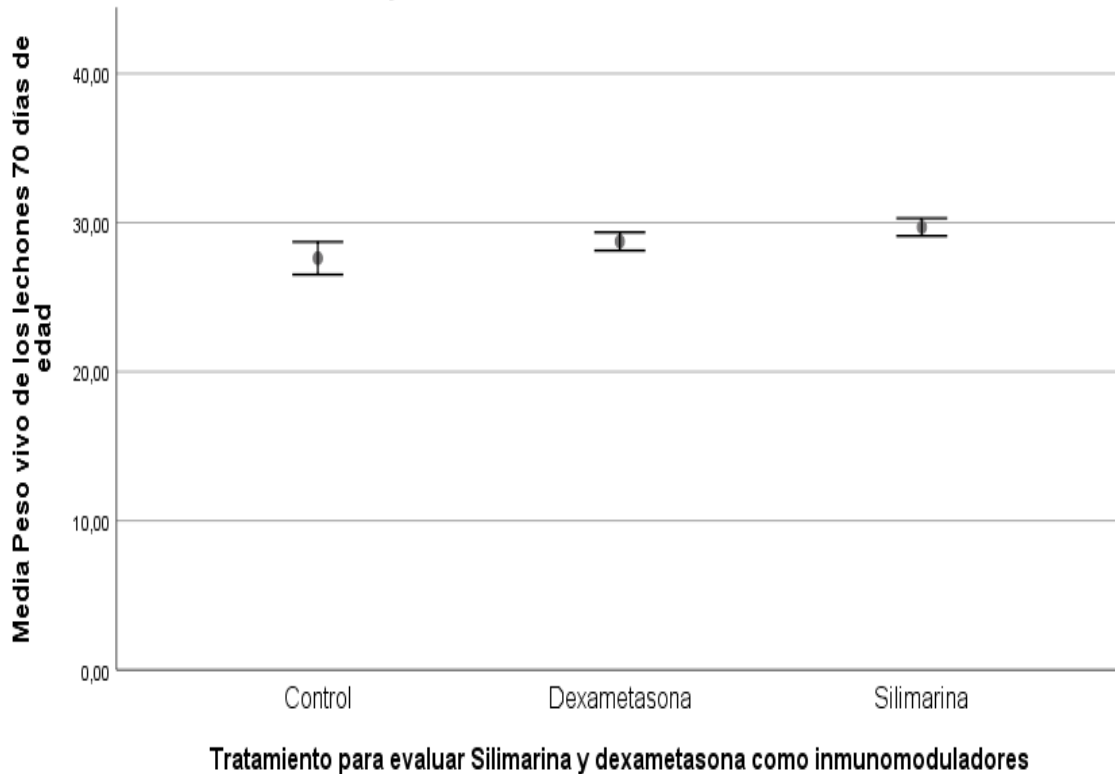
En la tabla 5, se observa los promedios de los pesos finales (gr) para el tratamiento con el uso de silimarina, comparado con el control y dexametasona.

Tabla 5. Peso final (kg), para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.							
Tratamientos	Replicas				Totales	Prom.	Desv Estandar
	1(n=5)	2(n=5)	3(n=5)	4(n=5)			
T1 Control	27,50	27,35	28,60	27,00	110,45	27,61	0,69
D2 Dexametasona	29,30	28,67	28,43	28,56	114,96	28,74	0,38
S3 Silimarina	30,10	29,70	29,80	29,20	119,8	29,70	0,37

Letras iguales, indican promedios iguales, letras diferentes indican promedios diferentes, según Duncan al 5%

Basado en la salida dada por la prueba de Duncan se puede afirmar que los tratamientos se clasifican en tres categorías estadísticas: Categoría “a”, determinada por los tratamientos de silimarina en la dieta. La segunda categoría “b”, está formada por el tratamiento dexametasona y la tercera categoría “c” para el control.

Barras de error simples Media de Peso vivo de los lechones 70 días de edad por Tratamiento para evaluar Silimarina y dexametasona como inmunomoduladores



Barras de error: 95% CI

Figura 5. Peso final (Kr), para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados

En el gráfico de “error bar” se observa los promedios e intervalo de confianza para cada tratamiento, demostrándose que la respuesta al uso de silimarina en la dieta es significativa, se ve claramente que los tres tratamientos pertenecen a tres subconjuntos; “a” silimarina mientras que dexametasona para el subconjunto y control pertenece al subconjunto “c”.

3.3. Conversión alimenticia final, para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados

En la tabla 6 se observa los promedios de la conversión alimenticia (C.A.) para el tratamiento con el uso de silimarina comparado con el grupo dexametasona y control.

Tabla 6. Conversión alimenticia final, para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados							
Tratamientos	Replicas				Totales	Prom.	Desv Estandar
	1(n=5)	2(n=5)	3(n=5)	4(n=5)			
T1 Control	1,75	1,78	1,79	1,76	7,08	1,77	0,018
D2 Dexametasona	1,75	1,72	1,68	1,58	6,73	1,68	0,074
S3 Silimarina	1,65	1,60	1,65	1,64	6,54	1,63	0,072

Letras iguales, indican promedios iguales, letras diferentes indican promedios diferentes, según Duncan al 5%

Basado en la salida dada por la prueba de Duncan se puede afirmar que los tratamientos se clasifican en tres categorías estadísticas: Categoría “a”, determinada por los tratamientos Silimarina en la dieta. La segunda categoría “b”, está formada por el tratamiento dexametasona y la tercera categoría “c” el control.

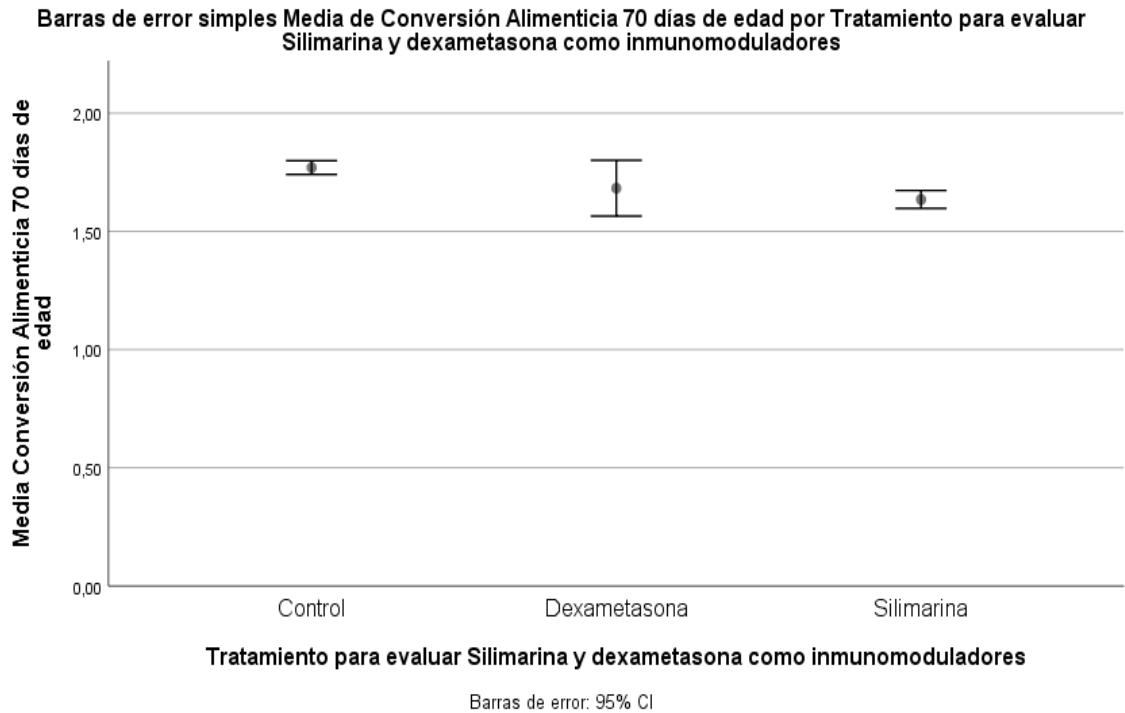


Figura 6. Conversión alimenticia final, para tratamiento con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados

En el gráfico de “error bar” se observa los promedios e intervalo de confianza para cada tratamiento, demostrándose que la respuesta al uso de silimarina en la dieta es significativa, se ve claramente que los tres tratamientos pertenecen a tres subconjuntos, “a”, para Silimarina; mientras que el dexametasona el subconjunto “b” y control pertenece al subconjunto “c”.

3.4. Tasa de morbilidad (Unidad) y persistencia de diarrea (Horas), con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados

Tabla 7. Tasa de morbilidad (Unidad) y persistencia de diarrea (Horas), con el uso de silimarina como inmunomodulador en lechones recién destetados.			
TRATAMIENTOS	MORBILIDAD (Unidad) N° de Animales	PORCENTAJE (%)	PERSISTENCIA (Horas)
T1 Control	8	40	48
D2 Dexametasona	6	30	24
S3 Silimarina	2	10	24

En la tabla 8 se describe la morbilidad porcentaje y persistencia de diarreas en los lechones recién destetados usando silimarina y dexametasona comparado con el control. Aquí se puede observar que el mayor número de animales enfermos fueron para control, seguido de Dexametasona, y en menor cantidad para silimarina, con una persistencia de mayor para control y menor para silimarina, respectivamente.

IV. DISCUSION

Como se puede apreciar en el gráfico de barras de la figura 2, los linfocitos T cooperadores naive (CD3+CD4) se encuentran en valores altos propios de la edad de los lechones evaluados. En cerdos adultos este valor disminuye hasta un 3-4%. En el caso de la dexametasona los linfocitos T naive están ligeramente elevados.

Los linfocitos T doble positivos (CD3+CD4+CD8+) son considerados células de memoria y potencialmente pueden ser presentadoras de antígenos debido a la expresión de MHC clase II.

En animales jóvenes como los evaluados, los valores bajos son normales, este valor aumenta hasta un 55% en cerdos adultos, según Zuckermann, FA; Husmann, RJ. 1996 (13), Charemtantanakul y Roth 2006 (14).

Los linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+) tienen como valor de referencia un porcentaje de 7-28% como indica Charemtantanakul y Roth 2006 (14), los tres grupos analizados se encuentran dentro de este rango.

En tanto a los monocitos estas células suelen estar en mayor presencia en la sangre periférica ante una infección viral o en respuesta a una inmunización reciente (Terzic et. al., 2003 (16); Shi et. al., 2008 (17)). Con respecto a los granulocitos estos se hallan en mayor proporción en sangre periférica ante una infección bacteriana grave, presencia de parásitos o ectoparásitos.

Como se puede observar el grupo control tenía una actividad inmunológica activa y posiblemente exagerada ocasionando una inflamación a nivel del sistema digestivo que ocasiona cuadro de procesos degenerativos y problemas de catabolismo metabólico, produciendo una falla en la producción de un crecimiento normal, tal como lo encontró Pié S. et al., 2004 (21). Esto se sustenta en un trabajo realizado por Pié S, en el cual midieron la expresión genética de 6 interleucinas proinflamatorias a lo largo del intestino delgado y el colon en lechones destetados, para medir la expresión usaron PCR.TR. Examinaron las vellosidades intestinales y la actividad enzimática del intestino (lactasa y sacarasa) y comprobaron que existía una relación directa entre el destete, los cambios morfológicos y enzimáticos del intestino delgado. También encontraron que la respuesta por citoquinas se divide en dos periodos: Una aguda temprana, antes de los 2 días post destete y otra tardía entre los días 2-8 post destete. En la etapa aguda los niveles de IL-1beta, IL-6 y ARN mensajero (ARNm) de TNF-alfa aumentaron. Encontraron una marcada regulación al alza del ARNm de IL-1beta en la mayor parte del intestino, mientras que el ARNm de IL-6 y TNF-alfa aumentó notablemente solo en sitios específicos del intestino, lo mismo se puede mencionar de

McCrackeb BA et.al., 1999 (22), en la Universidad de Illones USA, donde indicaron que el estrés post destete no sólo afecta la función de barrera intestinal y la microbiota intestinal, sino que también afecta la inmunidad intestinal y el estado oxidativo intestinal en los lechones destetados, cuando compararon antes del destete. Se conoce que los linfocitos T CD4+ y CD8+ intestinales en lechones recién destetados aumentan en gran cantidad, estos son los que regulan la expresión de ARNm de citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-a) y las interleucinas (IL-1b, IL -6 e IL-8) en el medio del yeyuno.

Consecuentemente, podemos concluir que ante esta situación se ha sugerido que los efectos del estrés del destete sobre las funciones inmunitarias, las funciones de barrera intestinal, y la función del sistema nervioso en cerdos destetados temprano se extiende hasta la edad adulta, tal como lo indica Upadhaya SD y Kim IH, 2021 (23).

Se ha informado que la inclusión de diferentes tipos de aditivos alimentarios en la dieta alivia los efectos negativos del estrés del destete

Por estas razones, en nuestro trabajo de investigación, además de demostrar el beneficio de la Silimarina como inmunomodulador y evitar los problemas inflamatorios, degenerativos y catabólicos en los lechones recién destetados, hemos encontrado que con el uso adecuado de la Silimarina, encontramos una mejora estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para los parámetros productivos de peso final y conversión alimenticia; así como la morbilidad y mortalidad, cuando se comparó con control y dexametasona, tal como lo reporta.

V. CONCLUSION

- Los valores de linfocitos T guardan relación con la edad de los animales sin diferencias significativas entre los individuos y existen diferencias entre los tratamientos.
- Para el tratamiento con “Dexametasona” (D2) se presenta un bajo valor de Linfocitos B (poca respuesta de anticuerpos), altos valores de Monocitos y Granulocitos (posible infección viral o vacunación reciente). No podría deberse a un problema inflamatorio crónico debido a que son animales tiernos.
- Para el tratamiento con “Silimarina” (S3) se presenta un bajo valor de Linfocitos B (poca respuesta de anticuerpos). Valor de Monocitos normales y un alto valor de Granulocitos (posible infección bacteriana o parasitemia) o un problema inflamatorio agudo.
- La Silimarina si actúa como un inmunomodulador regulando la respuesta inflamatoria e incrementa la respuesta inmunológica celular más que la humoral, evitando procesos degenerativos que ocasionan cuadros de mala absorción y catálisis, que deprimiría el consumo de alimento y por lo tanto la disminución del peso después del destete.
- Para los pesos finales a los 70 días de edad de nuestra población experimental, con la dieta Silimarina tuvieron mejor respuesta, seguido de los grupos dexametasona y el control, $P < 0.05$ existiendo diferencia significativa entre los tres grupos.
- La conversión alimenticia del grupo Silimarina tuvo mejor respuesta que el grupo Dexametasona y el control respectivamente. Existiendo clara diferencia entre los tres grupos., $P < 0.05$.

VI. RECOMENDACIONES

- Hacer uso de la Silimarina en lechones recién destetados, para evitar los procesos inflamatorios ocasionados por una respuesta muy fuerte por acción de la citocina estimuladas por acción de los linfocitos T.
- En animales enfermos también se puede recomendar el uso de la Silimarina por las mismas razones.
- Incrementar estudios e investigaciones sobre el uso de la Silimarina, como regulación de la respuesta inflamatoria elevada ya que esto incrementa los cuadros patológicos en los animales enfermos, principalmente la llamada “Tormenta de Citocinas”

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Floch L, N , Jondreville C, Seve B. Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the post-weaning period in piglets. Arch Anim Nutr. 2006 febrero; 60(1): p. 23-34.
2. Wooten H, McGlone J, Wachtel M, Thompson G, Rakhshandeh A, Rakhshandeh A. A glucocorticoid receptor agonist improves post-weaning growth performance in segregated early-weaned pigs. Animal. 2019 Setiembre; 13(19): p. 1972-1981.
3. Le-Floch N, Jondreville C, Seve B. Importance of sanitary environment for growth performance and plasma nutrient homeostasis during the post-weaning period in piglets. Arch Anim Nutr. 2006; 60(1): p. 23-34.
4. Meng Q, Sun S, Luo Z, Shi B, Cheng B. Maternal dietary resveratrol alleviates weaning-associated diarrhea and intestinal inflammation in pig offspring by changing intestinal gene expression and microbiota. Food Funct. 2019 Setiembre; 10(9): p. 5626-5643.
5. Sen C, Packer L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. Faseb. 1996; 10(7): p. 709-20.
6. Opal S, DePalo V. Anti-inflammatory cytokines. Chest. 2000 Abril; 117(4): p. 1162-72.
7. Rose-John S. Interleukin-6 Family Cytokines. Cold Interleukin-6 Family Cytokines. Cold. Biol. 2018 Febrero; 10(2): p. a028415.
8. Guo Y, Wang S, Wang Y, Zhu T. Silymarin improved diet-induced liver damage and insulin resistance by decreasing inflammation in mice. Pharm Biol. 2016 Diciembre; 54(12): p. 2995-3000.
9. Das S, Mukherjee S. Biochemical and immunological basis of silymarin effect, a milk thistle (*Silybum marianum*) against ethanol-induced oxidative Toxicol Mech Methods. 2019 Junio; 22(5): p. 409-13.
10. Nikolaia L. La regulación del factor de transcripción NF- κ B. Un mediador molecular en el

- damage. *Toxicol Mech Methods*. 2012 Junio; 22(5): p. 409-13.
11. Hofbauer L, Rauner M. Minireview: vive y deja morir: efectos moleculares de los cocorticoides. *Mol Endocrinol*. 2009; 23: p. 1525-31.
 12. Arnaiz V, Ribeiro AML, Kessler AM, Raber M, Kuana S. Efecto del peso al destete, temperatura ambiental y energía metabolizable del pienso en lechones. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2009; 4(4): p. 472-478.
 13. Zuckermann F, Husmann R. Functional and phenotypic analysis of porcine peripheral blood CD4/CD8 double-positive T cells. *Immunology*. 1996; 87(3): p. 500-512.
 14. Charentantanakul W, Roth J. Biology of porcine T lymphocytes. *Amin Health Res Rev*. 2006; 7: p. 81-96.
 15. Althuwaiqeb S, Bordoni B. Histología, Linfocito de células B. [Online].; 2022 [cited 2023 marzo 09]. Available from: HYPERLINK "<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560905/>" <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560905/> .
 16. Terzić S, Sver L, Valpotić JL, Lojkić M, Miletić Z, et al. Proportions and phenotypic expression of peripheral blood leucocytes in pigs vaccinated with an attenuated C strain and a subunit E2 vaccine against classical swine fever. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*. 2003; 50(4): p. 166–171.
 17. Shi C, Pamer E. Reclutamiento de monocitos durante la infección y la inflamación. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11: p. 762-774.
 18. Thorn C. Hematology of the Pig. In Weis DJWKJ. Schalm's Veterinary Hematology. Ames: Blackwell Publishing; 2010. p. 843-851.
 19. Sipos W, Duvigneau C, Hartl R, Schwendenwein I. Exploratory reference intervals on hematology and cellular immune. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2011; 141(3-4): p. 307- 311.
 20. Bhattarai S, Framstad T, Nielsen J. Hematologic reference intervals of Danish sows at mid-gestation. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2019; 61(1): p. 1-5.
 21. Pié S, Lalles, J.P; , Blazy F, Laffite J, Seve B, Oswald IP. Weaning is associated with an

- upregulation of expression of inflammatory cytokines in the intestine of piglets. *The Journal of nutrition*. 2004; 134(3): p. 141-647.
22. McCracken BA, Spurlock ME, Roos MA, Zuckermann FA, Gaskins HR. La anorexia del destete puede contribuir a la inflamación local en el intestino delgado de los lechones. *J. Nutr.* 1999; 129: p. 613-619.
23. Upadhaya SD, Kim IH. The Impact of Weaning Stress on Gut Health and the Mechanistic Aspects of Several Feed Additives Contributing to Improved Gut Health Function in Weanling Piglets-A Review. *Animals : an open access journal from MDPI*. 2021; 11(8).
24. Velasteguí J. Evaluación de los indicadores productivos en aves de postura lohman brown classic mediante la utilización de silimarina (*Silybum marianum*) en la avícola sierra fértil. Tesis pregrado. Universidad Técnica de Cotopaxi. Ecuador. 2016.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Pruebas estadísticas para determinar diferencias estadísticas para peso final (70d) en lechones, cuando se usa dexametasona y silimarina como inmunomoduladores.

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Peso vivo de los lechones 70 días de edad	Se basa en la media	,838	2	9	,464
	Se basa en la mediana	,344	2	9	,718
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,344	2	6,243	,722
	Se basa en la media recortada	,728	2	9	,509

ANOVA

Peso vivo de los lechones 70 días de edad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8,734	2	4,367	17,102	,001
Dentro de grupos	2,298	9	,255		
Total	11,033	11			

Prueba post hoc

Peso vivo de los lechones 70 días de edad

Duncan^a

Tratamiento para evaluar vacuna vectorizada PCV2	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	4	27,6125		
Dexametasona	4		28,7410	
Silimarina	4			29,7000
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000. }

Anexo 2. Pruebas estadísticas para determinar diferencias estadísticas para conversión alimenticia final (70d) en lechones, cuando se usa dexametasona y silimarina como inmunomoduladores.

Descriptivos

Conversión Alimenticia 70 días de edad

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínim o	Máxim o
					Límite inferior	Límite superior		
Control	4	1,7700	,01826	,00913	1,7409	1,7991	1,75	1,79
Dexametasona	4	1,6825	,07411	,03705	1,5646	1,8004	1,58	1,75
Silimarina	4	1,6350	,02380	,01190	1,5971	1,6729	1,60	1,65
Total	12	1,6958	,07179	,02072	1,6502	1,7414	1,58	1,79

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Conversión Alimenticia 70 días de edad	Se basa en la media	2,627	2	9	,126
	Se basa en la mediana	2,116	2	9	,177
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,116	2	4,147	,233
	Se basa en la media recortada	2,621	2	9	,127

ANOVA

Conversión Alimenticia 70 días de edad

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,038	2	,019	8,804	,008
Dentro de grupos	,019	9	,002		
Total	,057	11			

Conversión Alimenticia 70 días de edad

Duncan^a

Tratamiento para evaluar vacuna vectorizada PCV2	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Silimarina	4	1,6350	
Dexametasona	4	1,6825	
Control	4		1,7700
Sig.		,180	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Anexo 3. Foto de la granja



FOTO N° 1 Granja camote



FOTO N° 2 Galpón de cerdos



FOTO N° 3 Granja camote

Anexo 4. Fotos de los animales por grupo de la granja.



FOTO N° 4 Lote experimental de lechones de 30 días con el uso de dexametasona



FOTO N° 5 Lote experimental de lechones de 30 días con el uso de silimarina



FOTO N° 6 lote de lechones testigo sin aditivos

Anexo 5. Sujeción y peso de los lechones



FOTO N° 7 PESAJE DE LECHONES POR LOTE



FOTO N° 8 Pesaje de lechones por lote

Anexo 6. Administración de los aditivos



FOTO N° 9 Aditivo silimarina listo para dosificar

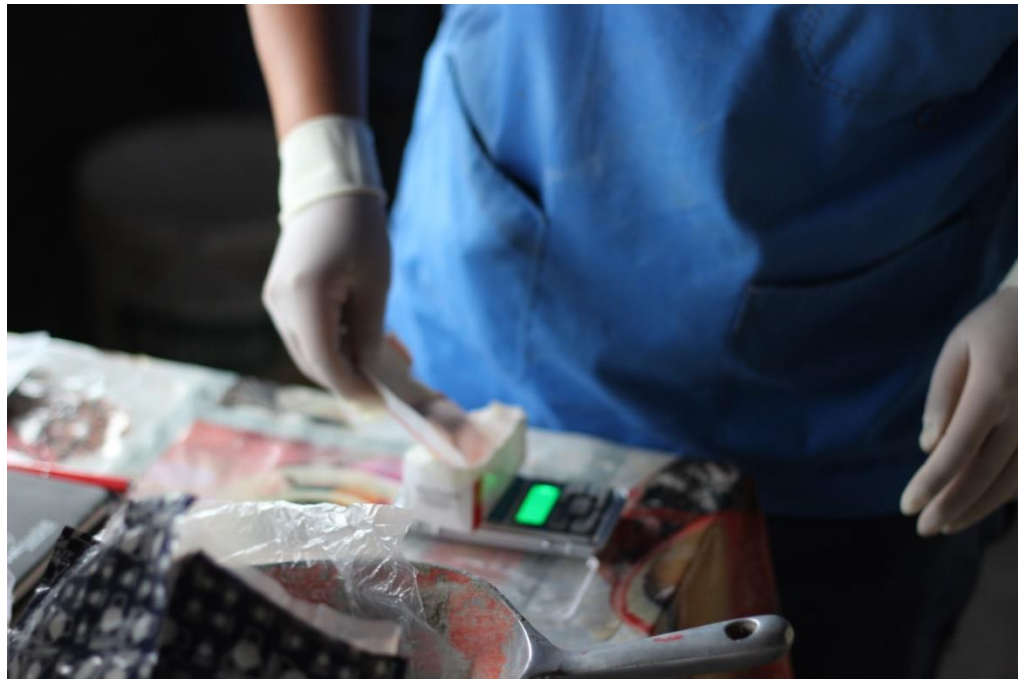


FOTO N° 10 Obtenemos una dosis exacta por animal con la gramera (gr)



*FOTO N° SEQ FOTO_N° * ARABIC 11 dosificación de la silimarina, utilizando la gramera (gr)*



FOTO N° 12 Separación del aditivo de dexametasona



FOTO N° 11 separación de las dosis por lote

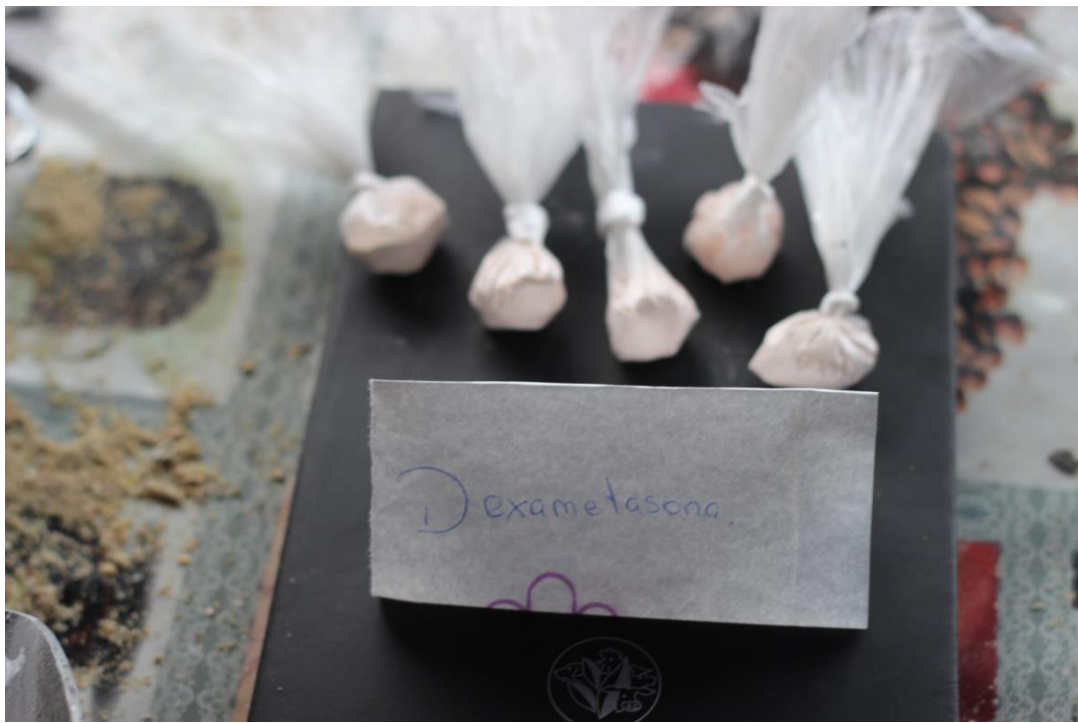


FOTO N° 14 Control del aditivo por tratamiento del lote

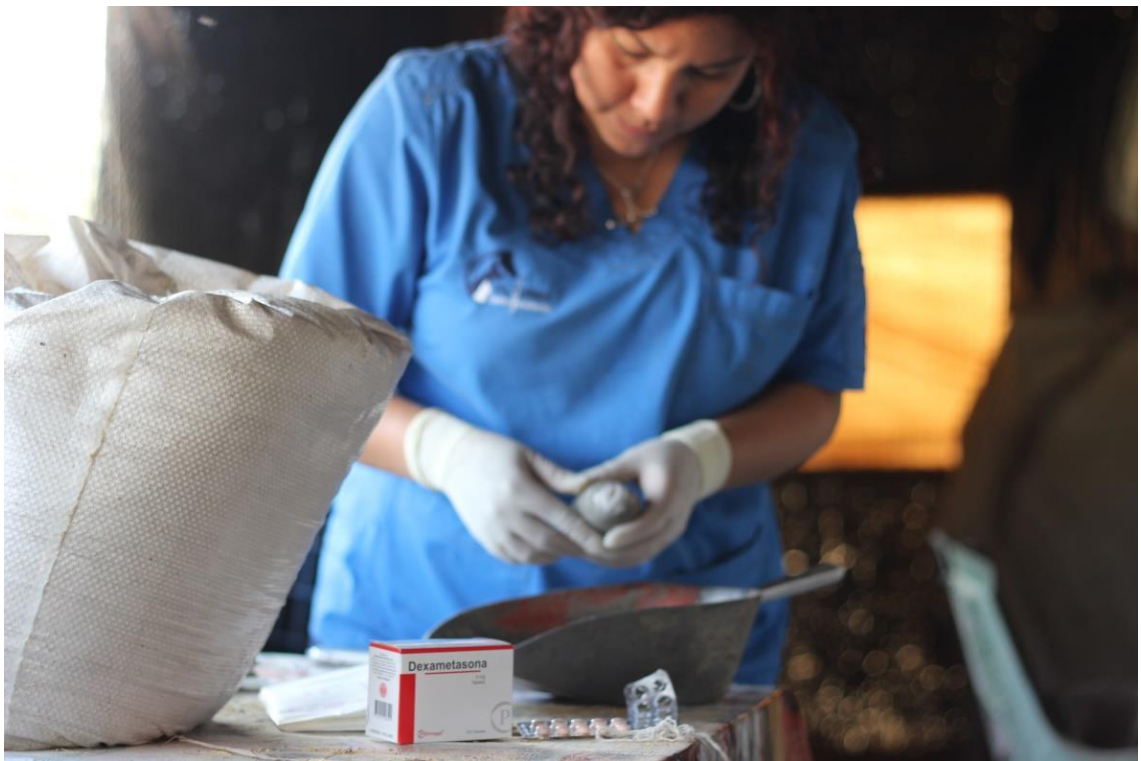


FOTO N° 13 separación y pesaje del aditivo de dexametasona

Anexo 7. Toma de muestras



FOTO N° 14 Toma de muestra de la vena cefálica, para análisis por citometría de flujo



FOTO N° 15 toma de muestra de la vena cefálica del lechón



FOTO N° 16 rotulación de la toma de muestra y homogenización

Anexo 8. Resultados



FOTO N° 17 Resultado al décimo día, en las heces post tratamiento



FOTO N° 18 cambio notorio en heces, un aspecto mas solido pos tratamiento

Anexo 9. Formulas.

Formula de Preinicio para lechones lactantes

NSUMOS	PREINICIO
MAIZ AMARILLO	32.61
TORTA DE SOYA	0.00
SUBPRODUCTO DE TRIGO	3.00
DELAC	30.00
H DE PESCADO PRIME	15.40
SUERO DE LECHE	11.60
ACEITE	3.50
AZUCAR RUBIA/	3.00
OXIDO DE ZINC	0.03
SECUESTRANTE	0.25
FUNGIBAN	0.10
CLORURO COLINA 60%	0.20
PREMIX CERDOS	0.10
SULFATO DE COBRE	0.05
SULFATO COLISTINA	0.03
ENZIMA	0.05
FOSFOMICINA	0.04
ZINC BACITRACINA 10%	0.04
TOTAL	100.00

Formula de Inicio para lechones después de destete

INSUMOS	INICIO
Maíz	60.67
Torta de soya 46.5% PC	15.53
Harina de pescado 59.5%	10.00
Harina integral de soya	8.41
Aceite de soya	2.00
Fosfato dicálcico	0.59
Micotox (secuestrante)	0.40
Micovet orgnic (Acidifica	0.35
L Lisina	0.35
Sal	0.31
Carbonato de calcio	0.27
Premezcla	0.12
L Treonina	0.11
DL Metionina	0.11
Saborizante	0.10
Cloruro de colina 60%	0.10
Óxido de zinc	0.10
Triptófano	0.09
FOSFOMICINA+FLORFENICOL	0.08
Calfosvet (fitasa y multi	0.08
Protector E (antioxidante	0.05
Inmunowall	0.10
Bicarbonato de sodio	0.05
Sulfato de cobre	0.02
TOTAL	100.00