



## **UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente**

Carrera de Medicina Veterinaria

### **Tema:**

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Bacillus clausii* SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN CACHORROS CANINOS.

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médicas Veterinarias Otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria

### **Autoras**

Sara Micaela Correa Pilco

María Verónica Morejón López

### **Tutor**

Dr. Washington Fernando Carrasco Sangache. PhD

**Guaranda – Ecuador**

**2025**

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Bacillus clausii* SOBRE  
LA MICROBIOTA INTESTINAL EN CACHORROS CANINOS.



---

Dr. Washington Fernando Carrasco Sangache. PhD.

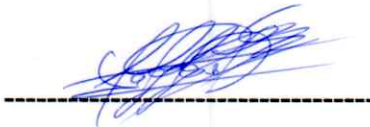
**TUTOR**



---

Dra. Martínez Jenny. Msc.

**PAR LECTORA**



---

Dr. Segura Jagger. PhD.

**PAR LECTOR**

## CERTIFICADO DE AUTORÍA

Yo, Sara Micaela Correa Pilco, con CI 1752644144 y María Verónica Morejón López, con C.I 0250114105, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Sara Micaela Correa Pilco

1752644144



María Verónica Morejón López

0250114105



Dr. Washington Fernando Carrasco Sangache.PhD

020196018-4



ESCRITURA N° 20250201004P00026

**DECLARACIÓN JURAMENTADA**

**OTORGAN:**

SARA MICAELA CORREA PILCO Y  
MARIA VERONICA MOREJON LOPEZ

CUANTÍA: INDETERMINADA

Di 2 COPIAS

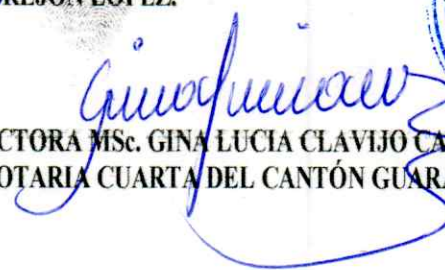
En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy miércoles a los quince días del mes de enero del año dos mil veinticinco, ante mi **DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRIÓN, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA**, comparece con plena capacidad, libertad y conocimiento, la señoritas: **SARA MICAELA CORREA PILCO**, de estado civil soltera; y, **MARIA VERONICA MOREJON LOPEZ**, de estado civil soltera, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Las comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatorianas, mayores de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación ambas estudiantes, domiciliadas la primera en la parroquia Guanujo, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con teléfono celular número cero nueve ocho tres tres cinco uno cero ocho tres; y, con correo electrónico [mica29115@gmail.com](mailto:mica29115@gmail.com), y, la segunda en la parroquia Guanujo, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con teléfono celular número cero nueve ocho cinco siete nueve dos tres nueve tres; y, con correo electrónico [verokl7ml@gmail.com](mailto:verokl7ml@gmail.com), hábiles en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quienes de conocerles doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificaciones, en base lo cual obtengo las certificaciones biométricas del Registro Civil, además por petición expresa de las comparecientes me piden se adjunte sus documentos personales como son las cédulas y los certificados de votaciones, como documentos habilitantes a esta escritura. Advertidas las comparecientes por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinados que fueron en forma aislada y separada de que comparecen al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruidas por mí de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertidas sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicitan que recepte su declaración juramentada: Nosotras: **SARA MICAELA CORREA PILCO**, de estado civil soltera; y, **MARIA VERONICA MOREJON LOPEZ**, de estado civil soltera, declaramos que los criterios e ideas emitidos en el presente Proyecto de investigación de titulación es de nuestra absoluta autoría, titulado **"EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Bacillus clausii* SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN CACHORROS CANINOS**, previo a la obtención del título de Médico Veterinario, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, carrera de Medicina Veterinaria.- Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad.- Para su otorgamiento se observaron los preceptos de ley y leída que les fue a las comparecientes íntegramente por mí la Notaria, aquellas se afirman y ratifican en todas sus partes y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporando al protocolo de esta Notaria la presente escritura de Declaración Juramentada, de todo cuanto doy Fe.-----

  
SRTA. SARA MICAELA CORREA PILCO.

C.C. 1752649144

  
SRTA. MARIA VERONICA MOREJON LOPEZ.

C.C. 0250114105

  
DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION  
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA



# EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Bacillus clausii* SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN CACHORROS.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

4%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Sánchez Alzuria, Núria, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Medicina i Cirurgia Animals. "Evaluación del efecto probiótico de las cepas <i>Lactobacillus reuteri</i> CECT7266 y <i>Lactobacillus fermentum</i> CECT7265 en perros sanos", Bellaterra : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2015 Fuente de Internet	2%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
3	www.marnys.com Fuente de Internet	1%
4	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet	1%
5	eprints.uanl.mx Fuente de Internet	1%
6	www.campus.sanofi Fuente de Internet	2%

  
Dr. Washington Fernando Carrasco Sangache. PhD

TUTOR

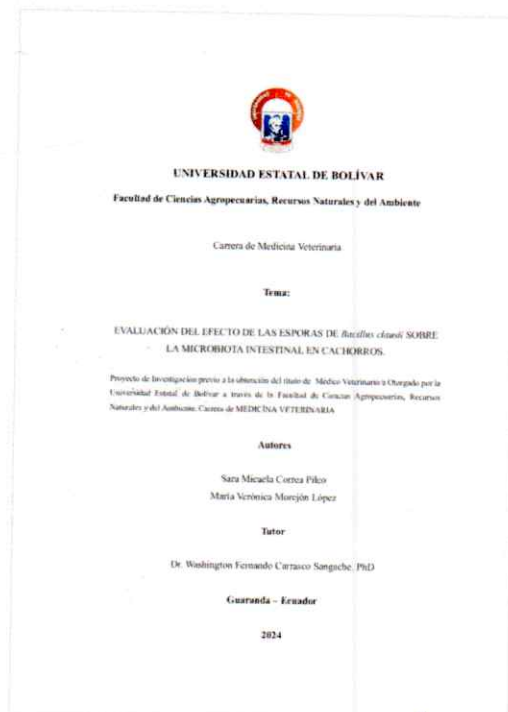


## Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: VÍCTOR ALEJANDRO BÓSQUEZ BARCENES  
Título del ejercicio: 61  
Título de la entrega: EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LAS ESPORAS DE Bacillus clausi...  
Nombre del archivo: Proyecto\_de\_Investigación\_final\_Maria\_y\_Micaela.docx  
Tamaño del archivo: 9.85M  
Total páginas: 86  
Total de palabras: 12,457  
Total de caracteres: 72,553  
Fecha de entrega: 17-dic.-2024 10:44a. m. (UTC-0600)  
Identificador de la entre... 2554686111



## DEDICATORIA

En primer lugar, mi agradecimiento a Dios, fuente de toda sabiduría y fortaleza, por iluminar mi camino y guiarme en este viaje académico.

A mis queridos abuelitos, quienes ahora brillan como estrellas en el cielo. A través de su sabiduría y ejemplo de vida, me guiaron con cada paso que di. Aunque físicamente ya no están aquí, su legado perdura en mi corazón y en cada logro que alcanzo.

A mis padres, por su amor incondicional, apoyo constante y sacrificios incontables. A mi querida madre la Lic. Margoth Pilco, mi roca y mi inspiración. Tu fuerza y valentía han sido faros en mi vida. Cada desafío que has enfrentado con gracia y determinación ha sido un ejemplo para mí. Gracias por mostrarme que no existen barreras para lo que una mujer puede lograr, por ser mi guía y apoyo constante en cada etapa de este camino.

A mi querido padre Sgop. Fabián Correa, mi héroe y mi mayor inspiración como profesional. Tu dedicación incansable, ética de trabajo ejemplar y sabios consejos han sido fundamentales en mi desarrollo profesional. Gracias por enseñarme con tu ejemplo la importancia del esfuerzo y la perseverancia en alcanzar mis metas.

Esta tesis es el resultado de su infinita dedicación y ejemplo, y se la dedico con todo mi corazón. Que este logro sea también un testimonio de su extraordinario impacto en mi vida y en mi formación como persona.

*Sara Micaela Correa Pilco*

## DEDICATORIA

A Dios, mi roca eterna, por guiarme en cada paso de este viaje de formación profesional por bendecirme y otorgarme sabiduría y paciencia, aunque fue muy difícil el me ayudo en oración a no rendirme ante los obstáculos que se me presentaban.

A mi madre Sra. Nieves concepción López Robinson la mujer más fuerte que he conocido, valiente, guerrera que a pesar de tener que lidiar con su grave problema de salud siempre se ha mostrado como un roble es mi ejemplo a seguir, mi fortaleza quien siempre estuvo pendiente de mí, aconsejándome, por ser mi motor, la persona q me alienta para seguir y superar cualquier obstáculo. También le dedico esta tesis a mi hermana la Lcda. Lorena Isabel Morejón López quien desde niña me a cuidado y me a enseñado a sobresalir en tiempos difíciles por la sabiduría y comprensión brindada por ser incondicional conmigo por estar a pesar de que hemos tenido momentos en desacuerdo por ser la gran mujer que eres, admirable e incorregible, mi segunda madre, esta tesis es un tributo a ustedes por su amor infinito y ser mi ejemplo de perseverancia.

*María Verónica Morejón López*

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, agradecemos a Dios quien nos ha brindado salud, sabiduría y fuerza para lograr nuestros objetivos propuestos y por brindarnos la oportunidad de compartir este trabajo, por ser el guía de nuestro camino en nuestra carrera profesional y personal.

Del mismo modo, nos gustaría agradecer infinitamente a nuestro tutor de tesis el Dr. Washington Fernando Carrasco Sangache PhD, por su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, orientación y paciencia han sido fundamentales para la realización de nuestro trabajo de investigación. Usted ha inspirado en nosotras responsabilidad y rigor académico, ha sido capaz de ganarse nuestra apreciación y admiración. Es cierto que no ha sido fácil sin embargo gracias a su ayuda esto ha parecido un poco menos complicado. gran parte del desarrollo de esta investigación se lo debemos a usted, gracias. Además, deseamos nuestros más sinceros agradecimientos a todos los docentes pertenecientes a la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Bolívar por todos los años que nos han inculcado de sapiencia en nuestra carrera profesional, por sus consejos de vida que nos permitirán crecer día a día como personas honestas y muy capacitadas para servir a nuestra sociedad como profesionales íntegros y responsables.

*María Morejón y Sara Correa.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	Pág.
CAPÍTULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	2
1.3. OBJETIVOS	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos	3
1.4. HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II	5
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Microbiota intestinal	5
2.1.1 La microbiota gastrointestinal de los perros	6
2.1.2 Funciones de la microbiota	9
2.2 Los Probióticos	9
2.2.1 Taxonomía de los organismos probióticos.	11
2.2.2 Tipos de probióticos	11
2.2.3 Mecanismos de acción de los probióticos	13
2.2.4 Adhesión a la mucosa intestinal	13
2.2.5 Acción sobre el sistema inmunitario	14
2.2.6 Probióticos y su uso en caninos	15
2.3 Esporas de <i>Bacillus clausii</i>	16
2.4 <i>Bacillus subtilis</i>	18
2.5 <i>Enterococcus faecium</i>	18
2.6 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	19
2.7 Ficha técnica de la enterogermina	20
2.8 Métodos de análisis de microbiota	21
2.8.1 Cultivo bacteriano	21
2.8.2 Extracción de ADN	22
2.8.3 Secuencia NGS	23
2.8.4 Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S	24
CAPÍTULO III	25
	IV

3. MARCO METODOLÓGICO	25
3.1 Ubicación de la investigación	25
3.2 Metodología	26
3.2.1 Material en estudio	26
3.2.2 Factores en estudio	26
3.2.3 Tratamientos	26
3.2.3 Tipo de diseño experimental	27
3.2.4 Manejo del experimento	27
3.2.6 Métodos de evaluación y datos a tomarse	28
CAPITULO IV	30
4. RESULTADOS Y DISCUSION	30
4.1 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	30
4.1.6 Características morfológicas de las heces	43
4.2 Comprobación de hipótesis	45
CAPITULO V	46
5.1 CONCLUSIONES	46
5.2 RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Nº</b>	<b>Detalle</b>	<b>Pág.</b>
1.	Clasificación de los lactobacillus	12
2.	Tratamientos	26
3.	Raza de los cachorros	30
4.	Sexo de los cachorros	31
5.	Índice de shannon de cada paciente del estudio	32
6.	Índice de shannon de cada tratamiento según el día	33
7.	Cantidad de especies detectadas en las muestras fecales	34
8.	Cantidad de especies detectadas en las muestras fecales de cada tratamiento según el día	34
9.	Resultados del tratamiento	35
10.	Filum del grupo tratando antes y después del tratamiento	38
11.	Niveles séricos de urea y creatinina	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Detalle	Pág.
1.	Raza de los cachorros	30
2.	Sexo de los cachorros	31
3.	Índice de shannon	32
4.	Cantidad de especies detectadas en las muestras fecales	34
5.	Filum del grupo controla antes y después del tratamiento	36
6.	Filum del grupo control antes y después del tratamiento	39
7.	Niveles séricos de urea	41
8.	Niveles séricos de creatinina	42

## ÍNDICE DE ANEXOS

Nº

ANEXO 1

ANEXO 2

ANEXO 3

ANEXO 4

## RESUMEN

Los probióticos para perros son suplementos que favorecen la digestión y alivian molestias abdominales causadas por factores como dietas inadecuadas, antibióticos o infecciones. La enterogermina, compuesta por esporas de *Bacillus clausii*, mejora la flora intestinal en humanos, pero su efecto en cachorros es desconocido. Este estudio tuvo como objetivo evaluar si las esporas de *Bacillus clausii* influyen en la microbiota intestinal de cachorros. Se seleccionaron seis cachorros sanos de distintas camadas, de entre 2 y 5 meses, que seguían la misma dieta. Los cachorros fueron divididos en dos grupos: uno recibió *Bacillus clausii* y el otro, agua destilada. Ambos tratamientos se administraron durante cinco días. Se tomaron muestras de sangre y heces antes y después del tratamiento, para analizar la microbiota intestinal y los niveles de urea y creatinina. Además, se evaluaron las características de las heces mediante encuestas a los propietarios. Los resultados mostraron que los filos bacterianos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* predominaron en la microbiota intestinal de ambos grupos, lo cual es típico en cachorros de esa edad. También se detectaron otros filos, como *Proteobacteria*, *Fusobacteria* y *Actinobacteria*, sin diferencias significativas entre los grupos. La administración de *Bacillus clausii* no alteró significativamente la composición de la microbiota intestinal, lo que sugiere que no impactó el equilibrio microbiano. Los niveles de urea y creatinina tendieron a disminuir en los cachorros tratados, aunque la variabilidad individual y el tamaño reducido de la muestra limitan la conclusión del resultado. No se encontraron diferencias en las características de las heces entre los grupos. Aunque *Bacillus clausii* no afectó significativamente la microbiota ni las heces, se observó una ligera mejora en algunos parámetros bioquímicos, lo que requiere más investigación.

**Palabras clave:** *Bacillus clausii*, microbiota intestinal, cachorros, probióticos.

## SUMMARY

Probiotics for dogs are supplements that improve digestion and relieve abdominal discomfort caused by inadequate diets, antibiotics, or infections. Enterogermina, composed of *Bacillus clausii* spores, enhances the intestinal flora in humans, but its effect on puppies is unknown. This study aimed to evaluate whether *Bacillus clausii* spores influence the intestinal microbiota of puppies. Six healthy puppies from different litters, aged between 2 and 5 months and following the same diet, were selected. The puppies were divided into two groups: one received *Bacillus clausii*, and the other received distilled water. Both treatments were administered for five days. Blood and fecal samples were taken before and after the treatment to analyze the intestinal microbiota and the levels of urea and creatinine. Additionally, the characteristics of the feces were evaluated through surveys given to the owners. The results showed that the bacterial phyla Firmicutes and Bacteroidetes predominated in the intestinal microbiota of both groups, which is typical for puppies of that age. Other phyla, such as Proteobacteria, Fusobacteria, and Actinobacteria, were also detected, with no significant differences between the groups. The administration of *Bacillus clausii* did not significantly alter the composition of the intestinal microbiota, suggesting that it did not impact the microbial balance. Urea and creatinine levels tended to decrease in the treated puppies, although individual variability and the small sample size limit the conclusiveness of this result. No differences in fecal characteristics were found between the groups. Although *Bacillus clausii* did not significantly affect the microbiota or feces, a slight improvement in some biochemical parameters was observed, which requires further research.

**Keywords:** *Bacillus clausii*, gut microbiota, puppies, probiotics.

# CAPÍTULO I

## 1.1. INTRODUCCIÓN

La importancia del estudio de la microbiota se da por el futuro que prometen los probióticos. Se cree que, con el tiempo, puede ser posible restaurar la salud de un microbiota empobrecido, simplemente consumiendo cápsulas llenas de miles de millones de células bacterianas favorables (Specter, 2012).

Los probióticos para perros son elementos dietéticos que ayudan a reducir las molestias digestivas provocadas por la desnutrición, el tratamiento antibiótico y diarreas. Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se proporcionan en cantidades adecuadas, pueden aportar beneficios para la salud de los pacientes. En el uso clínico se torna cada vez más importante a medida que se demuestra el impacto de las enfermedades en la salud animal, alejándose paulatinamente de la terapia alternativa para ser parte de la terapéutica tradicional.

La enterogermina, reconocida por su composición de esporas de *Bacillus clausii*, ha sido ampliamente utilizada en la salud humana para promover la flora intestinal y mejorar la función gastrointestinal. Sin embargo, al ser este producto diseñado para uso humano desconoce sus efectos sobre el microbiota intestinal en cachorros.

La microbiota intestinal desempeña un papel importante en la salud gastrointestinal y en el equilibrio del sistema inmunológico en los animales, incluidos los cachorros en las primeras etapas de vida. En este estudio se llevó a cabo una evaluación del efecto de las esporas de *Bacillus clausii* sobre el microbiota intestinal. Además, se evaluó si esta espora de *Bacillus clausii* genera cambios en el microbiota intestinal de cachorros.

## 1.2. PROBLEMA

La administración de probióticos de uso humano en cachorros es un enfoque emergente en salud animal, y se ha planteado la pregunta sobre si estos probióticos diseñados para humanos pueden inducir alteraciones significativas en la microbiota intestinal de los cachorros. A pesar de la creciente popularidad de esta práctica, existe una necesidad de investigar de manera específica y profunda cómo este probiótico (enterogermina) de uso humano puede afectar la función y la composición del microbiota intestinal en cachorros caninos. Los probióticos han ganado popularidad en la medicina veterinaria, pero la mayor parte de las investigaciones realizadas se enfocan en productos específicos para animales, la falta de investigaciones específicas sobre probióticos humanos en animales destaca la necesidad de entender mejor cómo estos afectan a los cachorros.

Este estudio tuvo como objetivo abordar esta cuestión mediante la extracción del ADN y el desarrollo de el Gen ARNr 16S para identificar las bacterias del microbiota intestinal luego de la administración oral del *Bacillus clausii*, proporcionando una base sólida para comprender de mejor manera el impacto de los probióticos de uso humano en la salud gastrointestinal de los cachorros, así como su aplicabilidad en la práctica veterinaria de animales de compañía.

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto de las esporas de *Bacillus clausii* sobre la microbiota intestinal en cachorros caninos.

#### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar la microbiota intestinal de los cachorros mediante la extracción de ADN y amplificación de el Gen ARNr 16S.
- Determinar el efecto de las esporas *Bacillus clausii* sobre la microbiota intestinal.
- Analizar el efecto de las esporas *Bacillus clausii* sobre la funcionalidad renal y características morfológicas de las heces.

#### 1.4. HIPÓTESIS

**Ho:** Las esporas de *Bacillus clausii* no ocasionan alteraciones en la microbiota intestinal en cachorros caninos.

**Ha:** Las esporas de *Bacillus clausii* ocasionan alteraciones en la microbiota intestinal en cachorros caninos.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Microbiota intestinal

Es un grupo de organismos que viven en el tubo digestivo, la última tecnología actualizada para el estudio de la microbiota permite comprender una gran cantidad de bacterias no cultivables, y a su vez, las correlaciones entre los microorganismos que habitan y la homeostasis. La microbiota tiene un papel relevante dentro del crecimiento corporal, el desarrollo de la nutrición e inmunidad de los animales (Icaza-Chavez, 2013).

El tracto gastrointestinal de los animales está compuesto por diferentes tipos de microbiotas gastrointestinales. La microbiota gastrointestinal se ha convertido en un tema de interés con el tiempo porque los microorganismos gastrointestinales participan en muchos procesos fisiológicos del huésped, perpetuando así la enfermedad o la salud. Diversos estudios determinan que la microbiota gastrointestinal de los perros es tan común como en seres humanos y animales, usando tecnologías de secuencia modernas y otras técnicas moleculares. La microbiota gastrointestinal posee miembros de todos los tres dominios principales de vida (Bacterias, Archaea y Eucariotas), pero las bacterias son el grupo de microorganismos abundante y metabólicamente activo.

El estómago de perros está poblado principalmente por la *Helicobacter* spp, constituyendo el 98% de toda la microbiota bacteriana del estómago. El intestino delgado tiene una microbiota más diversa, que incluye representantes de al menos cinco filos bacterianos diversos (principalmente *Firmicutes* y *Bacteroidetes*). El intestino grueso contiene el grupo de bacterias más abundante ( $\sim 10^{11}$  células bacterianas por gramo de contenido intestinal), diverso (al menos diez diferentes filos han sido detectados) y metabólicamente relevante en el tracto gastrointestinal.

La mayoría de las bacterias del intestino grueso son estrictamente anaerobios y dependen de la fermentación de sustancias no digeridas para sobrevivir. Aunque investigaciones recientes han aclarado la complejidad de la microbiota gastrointestinal de perros, se requiere más investigaciones para hallar maneras de manipular con éxito los microorganismos gastrointestinales para tratar y prevenir enfermedades gastrointestinales García-Mazcorro et al., (2012).

Las regiones del tracto gastrointestinal están colonizadas por diferentes poblaciones bacterianas. La composición varía según las condiciones del lumen, con un predominio de bacterias aerobias en el intestino delgado, y una abundancia de anaerobios estrictos en el intestino grueso.

El epitelio intestinal es la barrera más relevante que separa los ambientes interno y externo, proporcionando una fuente resistente a la libre difusión de solutos y la entrada de patógenos y antígenos dañinos. Para asegurar el correcto funcionamiento de la barrera, el espacio intracelular tiene que ser correctamente sellados por medio de las uniones celulares. Esta región ha identificado varias proteínas de unión a *Lactobacillus* Suchodolski (2010).

### **2.1.1 La microbiota gastrointestinal de los perros**

Estómago. Un estudio mostró que el estómago de perros sanos alberga un microbiota diverso (se identificaron al menos 4 phyla), evaluada mediante 454-pirosecuenciación García-Mazcorro et al., (2012). A pesar de esta diversidad, un solo género, es decir, *Helicobacter* fue con mucho el más predominante (98% de todo el microbiota gástrico). Estos resultados están de acuerdo con un estudio que mostró que el estómago humano también alberga un microbiota diverso, aunque el género *Helicobacter* constituyó solo el 42% de todas las secuencias analizadas Bik et al., (2006).

Intestino delgado Clapper y Meade en 1963 intentaron una de las primeras caracterizaciones de bacterias y hongos en el tracto intestinal inferior de los perros utilizando doce tipos diferentes de medios de cultivo. Utilizando hisopos rectales de 25 perros Beagle sanos, los autores aislaron 20 especies de bacterias y 10 especies de hongos (Clapper & Meade, 1963). Estudios más recientes que utilizan técnicas moleculares han demostrado la presencia de al menos cuatro filos bacterianos diferentes en el tracto intestinal de los perros, a saber, *Firmicutes* (47,7 %), *Proteobacteria* (23,3 %), *Fusobacteria* (16,6 %) y *Bacteroidetes* (16,6 %) Suchodolski et al., (2008). Curiosamente, estas proporciones diferían según el compartimento intestinal analizado, con el duodeno y el yeyuno que contenían más del 50 % de *Firmicutes*, mientras que el íleon y el colon solo albergaban ~30 % de este filo Suchodolski et al., (2008).

Aun así, un estudio más reciente utilizó pirosecuenciación 454 e identificó diez filos bacterianos en el yeyuno de perros (Suchodolski, et al., 2009), aunque más de la mitad de estos grupos solo se encontraron en proporciones muy bajas (< 1% de todo el microbiota). Un artículo reciente usó FISH para cuantificar bacterias en las biopsias duodenales de perros y encontró una mediana de cero bacterias (rango: 0-3) por campo microscópico usando casi 1000 campos microscópicos García-Mazcorro et al., (2012). Por el contrario, el mismo artículo encontró una alta diversidad bacteriana (mediana: 173 OTU) usando 454-pirosecuenciación también en biopsias duodenales de los mismos perros. Se desconocen los motivos de esta discrepancia, pero puede estar relacionado con la destrucción de la mucosidad intestinal durante la fijación con formalina de las biopsias antes de la inclusión en parafina.

Intestino grueso. Algunos estudios sugieren que, en las heces, los *Firmicutes* representan la gran mayoría (> 90 %) del microbiota fecal en perros. Por otro lado, un estudio metagenómico reciente sugirió que el grupo *Bacteroidetes/Chlorobi* y *Firmicutes* eran los filos bacterianos dominantes (~ 35%), seguidos de *Proteobacteria* (~ 15%) y *Fuso-bacteria* (~ 8%) también en heces de perros Swanson

et al., (2002). No obstante, los resultados del estudio muestran, al igual que en los informes de Tun *Bacteroidetes* solo representó ~ 3% de todas las lecturas obtenidas, mientras que los grupos *Chloroflexi* y *Chlorobi* representaron menos del 1% de las lecturas. Por lo tanto, no está claro qué grupo representó la diferencia entre el porcentaje informado del grupo *Bacteroidetes/Chlorobi* (~ 35 %) y el porcentaje de *Bacteroidetes* solo (~ 3 %). Es posible que el porcentaje restante represente miembros no clasificados de *Bacteroidetes*, pero esto ha sido escasamente discutido en la literatura disponible.

Como se mencionó anteriormente, se sabe poco sobre el fenotipo de los microorganismos GI en gatos y perros. Al igual que en los gatos, los SCFA principales en los perros son butirato, acetato y propionato Swanson et al., (2002). Una bacteria productora de butirato que ha llamado mucho la atención por su papel en la salud intestinal de los humanos es *Faecalibacterium prausnitzii* Sokol et al., (2009). Un artículo reciente sugiere que los familiares de *Faecalibacterium* también abundan en las heces de los perros García-Mazcorro et al., (2012) , aunque se ha sugerido que *Faecalibacterium spp.* puede no ser *F. prausnitzii*, basado en el análisis filogenético de secuencias del gen ARNr 16S, de longitud casi completa pertenecientes a un clon canino y una cepa humana Suchodolski et al., (2008). Se han encontrado otras bacterias productoras de butirato como *Eubacterium* y *Roseburia* en perros y gatos Handl et al., (2011)

En los perros, las distintas zonas anatómicas poseen varias cantidades de microorganismos. En el estómago varía entre  $10^1$  - $10^6$  ufc/g o ml Benno et al., (1992). En el duodeno y yeyuno producen muchas variaciones entre individuos, los contajes pueden ser bajos (menor a  $10^3$  o alcanzar los  $10^9$  ufc/g o ml en algunos perros Johnston et al., (1993). En el íleo y ciego se encuentran de  $10^7$  - $10^8$  ufc/g y finalmente en el colon y recto se encuentran de  $10^{10}$  -  $10^{11}$  ufc/g Benno et al., (1992). Dentro de cada región anatómica se puede encontrar varios grupos mayoritarios. Los microorganismos predominantes son Bacteroides, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium spp* y *Enterobacteriaceae* (Bordbar, 2015).

### **2.1.2 Funciones de la microbiota**

La microbiota realiza varias funciones en el hospedador, incluidas funciones metabólicas y aquellas relacionadas con el mantenimiento de la barrera intestinal y la función inmune Muñoz (2021). Cumple varias funciones metabólicas importantes, como son la producción de vitaminas y AGCC, la síntesis de aminoácidos, la biotransformación de los ácidos biliares, la hidrólisis y la fermentación de sustratos no digeribles.

Los estudios de colonización intestinal controlada han identificado tres funciones principales de la microbiota intestinal: (a) funciones de nutrición y metabolismo, y el resultado de la actividad bioquímica de la microbiota, incluye recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, producción de vitaminas y efectos beneficiosos sobre la absorción de calcio y hierro en el colon; (b) funciones protectoras contra la invasión de patógenos infecciosos o el crecimiento excesivo de especies residentes con potencial patógeno, y (c) funciones tróficas sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal, y el desarrollo, como la modulación del sistema inmune (Gómez & Acero, 2011).

## **2.2 Los Probióticos**

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentos y la Organización Mundial de la Salud definen el término probiótico como: organismos vivos que, cuando se consumen en cantidades adecuada suficientes, benefician la salud del huésped (Guarner, et al., 2017).

El uso de probióticos (bacterias viables y no patógenas que ejercen beneficios para la salud más allá de la nutrición básica) ofrece un enfoque terapéutico, atractivo y natural para ayudar a corregir los desequilibrios microbianos y promover la salud gastrointestinal. Las bacterias probióticas no suelen ser capaces de colonizar el

intestino debido a la competencia con el microbiota ya establecido Pilla y Suchodolski (2021). En el estudio realizado con perros sanos por García- Mazcorro et al., (2012) se observó que el aumento de la abundancia de *Enterococcus spp.* y *Streptococcus spp.* incitado por la administración de un simbiótico con siete especies probióticas fue solo transitorio y volvió a la abundancia de referencia una vez que se interrumpió el tratamiento. Otro estudio reportó solo un pequeño aumento de la diversidad de especies con la administración de un simbiótico que contenía *Enterococcus faecium*. Los probióticos pueden optimizar la salud de la mucosa intestinal a través de varios mecanismos, siendo algunos de ellos: el desplazamiento de patógenos intestinales por competencia por alimento y espacio, la producción de sustancias antimicrobianas como bacteriocinas y peróxidos, la mejora de las respuestas inmunes del huésped, la fermentación de prebióticos y formación de AGCC y/o la regulación de otros metabolitos.

Es importante mencionar que, en este sentido, cada persona posee un microbiota único, similar a un documento de identidad o a una huella dactilar, entonces, tras los últimos estudios realizados analizan la posibilidad de utilizar el microbiota como una identificación.

Ahora bien, como lo demuestra la investigación realizada por Pasteur, los agentes causantes de diversas enfermedades infecciosas comenzaron a descubrirse en el último cuarto del siglo XIX. En ese momento, las continuas revelaciones sobre el papel de las bacterias en las enfermedades comenzaron a causar alarma. Sin embargo, Nobel Ramón y Cajal emitió un mensaje visionario como tranquilizador: “En bacteriología no hay nada más trascendental que el conocimiento de las bacterias infecciosas, y nada tan inofensivo. Por otro lado, el conocimiento de los microorganismos es aún menos importante si llegaran a desaparecer. La tierra pronto será inhabitable para la gente” (Cajal, 1913).

### **2.2.1 Taxonomía de los organismos probióticos.**

Al respecto, según la OMS, menciona que los probióticos se clasifican por especies, subespecies, géneros y nombres alfanuméricos que ayudan a identificar cepas específicas (Guarner, et al., 2017).

La determinación del género, especie y cepa de un microorganismo es fundamental para su completa caracterización. Dicha clasificación proporciona características fisiológicas y metabólicas más importantes, indica si existen posibles problemas de seguridad, y permite la discriminación entre cepas individuales (Specter N. , 2013). En el caso de los probióticos, el uso del nombre de cepas es importante porque la forma más sólida de obtener evidencia sobre los probióticos es atribuir los beneficios de estos a dosis efectivas de cepas específicas o combinaciones de cepas de probióticos (Guarner, et al., 2017).

### **2.2.2 Tipos de probióticos**

Como se mencionó anteriormente, el potencial probiótico de diferentes cepas varía incluso dentro de la misma especie, esto quiere decir que las cepas probióticas de la misma especie son siempre únicas y pueden tener diferentes sitios de acción y sistema inmunológicos específicos y diferentes, ya sea intestinal sano o inflado.

Las cepas más populares son representadas por los siguientes géneros bacterianos: *Bifidobacterium*: son bacterias anaerobias Grampositivas (crecen sin oxígeno), con forma de bastoncillos, que no producen gas, no forman esporas y sin inactividad. Este género posee 30 especies, las bifidobacterias son microorganismos muy importantes en el tracto gastrointestinal y genitourinario, cuyas promociones se encuentran determinados principalmente por la dieta y edad.

Los estudios en varias especies, incluidos los humanos, demuestran que Lactobacilos y Bifidobacterias inhiben una gran variedad de patógenos, incluyendo *E. coli*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori*, *Listeria monocytogenes* y Rotavirus Chenoll et al., (2011). Para obtener una ventaja competitiva, las bacterias también

pueden alterar su entorno y haciéndolo inadecuado para los competidores. La producción de sustancias antimicrobianas como el ácido láctico y el acético, es un ejemplo de este cambio ambiental (Schiffirin & Blum, 2002).

*Lactobacillus*: se diferencian por ser bacilos o cocobacilos Grampositivos, no formadores de esporas y no flagelados, pueden crecer en medios con o sin oxígeno y son rigurosamente fermentadores. Se han identificado 56 especies del género *Lactobacillus*. Los lactobacilos se distribuyen a lo largo de los tractos gastrointestinal y genital. La distribución se ve afectada por varios factores ambientales, disponibilidad de oxígeno, como el pH, presencia de secreciones, nivel de sustratos específicos y las interacciones bacterianas.

**Tabla 1.** Clasificación de los *Lactobacillus*

<b>Grupo</b>	<b>Descripción</b>
Grupo I	Especies homofermentadoras estrictas. Comprende el grupo <i>acidophilus</i> formado por las especies: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. amilovorvus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gallinarum</i> , <i>L. gasseri</i> y <i>L. johnsonii</i> . También se incluyen en este grupo otras especies como <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. jensenii</i> , <i>L. leichmanii</i> y <i>L. salivarius</i>
Grupo II	Especies heterofermentadoras facultativas. Las especies principales de este grupo son <i>L. casei</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. pentosus</i> y <i>L. sakei</i>
Grupo III	Especies heterofermentadoras estrictas. Entre otras, el grupo incluye las especies <i>L. brevis</i> , <i>L. buchneri</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. reuteri</i> y <i>L. viridescens</i>

*Nota:* información tomada de (Sanchez, 2015).

Sin embargo, han utilizado como probióticos otros organismos, anexados, de los cuales son:

Levaduras: Se ha demostrado el potencial efecto probiótico de *S. cerevisiae* y *S. cerevisiae* var. *boulardii*, porque son capaces de tolerar el ambiente de la bilis y ácido, esto se debe a que pueden tener efectos frente a las infecciones bacterianas mediante la reducción de la respuesta proinflamatoria intestinal.

Enterococos: Entre las especies de *Enterococcus*, *Enterococcus faecium* es el más usado en los probióticos. La presencia de *E. faecium* son importantes para prevenir infecciones por *Salmonella enterica*. Características interesantes del grupo *Enterococcus* son la supervivencia en superficies secas durante periodos prolongados y es resistente a los antibióticos (Binns, 2013).

### **2.2.3 Mecanismos de acción de los probióticos**

Los probióticos son esenciales para el bienestar y la salud del huésped. Estas bacterias son agentes eficaces para establecer el control y la prevención de enfermedades debido a su capacidad para interferir con el crecimiento y la virulencia de los patógenos. Los principales mecanismos de acción de los probióticos incluyen la mejora de la barrera epidérmica y el incremento de la adhesión a la mucosa intestinal junto con el efecto de inhibición de la adhesión de patógenos. Además, compiten con los microorganismos patógenos y los eliminan, producen sustancias antimicrobianas y son capaces de modular el sistema inmunológico. Los probióticos pueden tratar y prevenir enfermedades intestinales, reducir los niveles de pH, mejorar a regeneración de las mucosas y aumentar el crecimiento de bacterias anaeróbicas Bermúdez-Brito et al., (2012).

### **2.2.4 Adhesión a la mucosa intestinal**

Un requisito importante para que produzca la colonización de las células epiteliales gastrointestinales por parte de los probióticos es la adhesión intestinal. Esta adhesión está asociada con los efectos beneficiosos de los probióticos y es necesaria para la regulación del sistema inmunitario Schiffrin y Blum (2002) y la competición

contra los patógenos Lander (2011). Los enterocitos secretan moco que recubre las vellosidades epiteliales del tracto alimentario y cumple múltiples funciones, incluida la protección del huésped de la colonización bacteriana al alterar o inhibir la unión bacteriana a las superficies mucosas y posiblemente prevenir la adherencia de bacterias patógenas.

Además, el moco puede proporcionar un hábitat ideal para ciertas bacterias y servir como nicho para la flora comensal beneficiosa y microorganismos potenciales patógenos. Las bacterias ácido-lácticas presentan varios determinantes de superficie (proteínas de superficie) que interactúan con las células epiteliales intestinales y el moco intestinal. Esta interacción específica podría explicar la competencia que se produce hacia bacterias patógenas (Klaenhammer & Kuller, 1999).

### **2.2.5 Acción sobre el sistema inmunitario**

El intestino constituye una pieza clave del sistema inmunitario, por este motivo el sistema inmunológico intestinal representa el mayor órgano inmunológico del cuerpo, Artis (2008), ya que contiene la mayor colección de células inmunocompetentes del organismo Alverdy y Chang (2008). Ahora bien, para que el intestino funcione de manera correcta, es importante que se establezca un equilibrio entre el sistema inmunitario intestinal y el microbiota. Asimismo, la colonización de intestino por parte de la microflora es esencial para el desarrollo normal de las respuestas inmunitarias humoral y celular (Hooper & Gordon, 2001).

El sistema inmunológico intestinal está compuesto por el tejido linfoide asociado al intestino o GALT, agregados linfoides en el intestino grueso y células inmunitarias diseminadas a lo largo de la lámina propia y el epitelio del tracto gastrointestinal Cerovic et al., (2009), que se encuentran en contacto con el resto del sistema inmunitario vía nódulos mesentéricos linfoides locales. Las sustancias antigénicas de mayor tamaño se crean por sitios especializados de la mucosa intestinal, las Placas de Peyer. Estas placas están compuestas por células B, células plasmáticas

productoras de inmunoglobulina, rodeados de Células T, células dendríticas y macrófago. Estas células son esenciales para la modulación de la respuesta inmunitaria intestinal tolerancia o inflamatoria Ramiro-Puig et al., (2008). La superficie está recubierta por algunas células secretoras de moco y unas células epiteliales con pocas vellosidades, las células M Lotz et al., (2007). Las células M transportan antígenos lumbales, incluyendo bacterias, sin editarlos y los liberan intactos en las placas de Peyer.

### **2.2.6 Probióticos y su uso en caninos**

Aunque los probióticos se usan ampliamente en el hombre y en los animales, pocos estudios han evaluado el uso de probióticos en caninos Specter (2012), sin embargo, particularmente se usan en algunas veterinarias. Según investigaciones mencionan que los probióticos se han utilizado con buenos resultados en caninos con alergias y problemas digestivos. En un ensayo clínico controlado, se analizó a 36 caninos, quienes presentaban síntomas de diarrea usándose un probiótico preparado comercialmente con cepas de *Lactobacillus farcimis* de origen porcino, *Pediococcus acidilatici*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis* del suelo y *Lactobacillus acidophilus* de origen humano. Al respecto, tras el análisis se puede decir que se encontró que el tiempo entre el comienzo del tratamiento y la última deposición anormal fue significativamente más corto en el grupo tratado que en el grupo que recibió de placebo Olmos et al., (2014).

Este microorganismo es el responsable del etiológico de diarreas en perros y gatos. Se ha informado que la incidencia de diarrea causada por la infección por *Clostridium difficile* en caninos oscila entre el 10% y el 21%. Al respecto Frávega (2020) menciona que es la causa del síndrome de diarrea hemorrágica aguda, que puede ser fatal a las pocas horas de su aparición. En perros, el tratamiento de la diarrea (especialmente la diarrea secretora) es un motivo común de consulta y un desafío terapéutico, porque en la mayoría de los casos la causa no se trata o, si está

presente, tarda algún tiempo en resolverse, prolongándose el estado debilitado del tratamiento de un animal.

Estos síntomas como Distemper o Parvovirus resultan ser virales, canino o parasitarias como giardiasis, cursan con este tipo de signos. De la misma manera, dado que la diarrea es un síntoma clínico común de muchas patologías, los antibióticos se usan de forma indiscriminada, favoreciendo la aparición de cepas de microorganismos resistentes y empeorando los síntomas clínicos, destruyendo el microbiota original o provocando un sobrecrecimiento bacteriano sin llegar a utilizar antibióticos. barrera mucosa dañada, que se manifiesta como melena o sangre en las heces. En enfermedades cutáneas como la dermatitis atópica del canino, la utilización de *Lactobacillus rhamnosus* minimiza los indicadores inmunológicos de dicha enfermedad. El uso de *Enterococcus faecium* para el tratamiento de giardiasis, una afección parasitaria considerada como una zoonosis, no demostró mayores beneficios que el uso de placebo en 20 caninos adultos afectados por dicho protozoario parásito. Por otro lado, a pesar de estos resultados, la administración microbiana redujo la excreción de quistes fecales y aumentó las respuestas inmunes innatas y adaptativas en modelos animales (James, 2017).

Su efecto Simbiótica de Prebióticos y Probióticos, para ayudar a colaborar al control de la diarrea y originar un microbiota intestinal saludable, su presentación es mediante sobres individuales con 90 gramos, administración VO.

### **2.3 Esporas de *Bacillus clausii***

*Bacillus clausii* considerada como una bacteria en forma de bacilo, Gram-positiva, móvil, esta especie, permite generar esporas y vive en el suelo. Actualmente clasificados como probiótico; pertenece a un grupo de microorganismos que mantienen una relación simbiótica con el organismo huésped. Hoy en día está siendo estudiada en infecciones respiratorias y algunas enfermedades gastrointestinales (Marseglia, et al., 2007).

Entonces, al respecto se puede argumentar que es un tipo de bacteria beneficiosas (probiótico) que ayudan a restablecer el equilibrio de la flora intestinal. Esto se puede dar cuando se consumen con regularidad pueden ayudar a tratar y a prevenir distintas dolencias digestivas asociados con este desequilibrio. Además, tienen forma de esporas, lo que les permite resistir los jugos gástricos y llegar vivas a los intestinos (Sanofi, 2019).

Las esporas, son inherentes resistentes a las altas temperaturas y al ácido del estómago. En un modelo in vitro valido, se ha demostrado que las esporas de *Bacillus clausii* sobreviven en un entorno gástrico simulado (pH 1.4-1.5) hasta 120 minutos (tasa de supervivencia del 96%). En un modelo que simula el ambiente intestinal (solución salina de bilis y pancreatina - pH 8), además, se ha demostrado que las esporas de *Bacillus clausii* se multiplican de manera estadísticamente significativa (de 10<sup>9</sup> a 10<sup>12</sup> UFC – Unidades formadoras de colonias), en comparación con las habilidades cuantitativas iniciales, 240 minutos después de la incubación. En un estudio de 20 personas, encontró que las esporas de *Bacillus clausii* persisten en el intestino y se pueden encontrar en las heces hasta 12 días después de una sola ingesta por vía oral.

Al respecto, la enterogermina es conocido como un compuesto generado a base de esporas, es un probiótico que se registró como preparación farmacéutica en 1958 y obtuvo el estatus de medicamento de venta libre desde 1999. Este posee esporas de cuatro cepas de *Bacillus clausii* resistentes a los antibióticos (O/C (CNCM I-276), N/R (CNCM I-274), SIN (CNCM I-275), y T (CNCM I-273) se recomienda para restablecer el equilibrio microbiano intestinal, especialmente durante el tratamiento con antibióticos. Actualmente, se encuentran disponibles, las cápsulas liofilizadas y líquido viales, se encuentran disponibles en 55 países de todo el mundo para el tratamiento de la disbiosis intestinal y la prevención de enfermedades infecciosas gastrointestinales (Ghelardi, et al., 2015).

Un frasco de 5 ml posee: Componente activo: 2000 millones (2 billardos) de esporas de *Bacillus clausii* resistentes a poli- antibióticos Excipientes c.s.

#### **2.4 *Bacillus subtilis***

*Bacillus subtilis* es una bacteria generalmente reconocida como segura por la FDA. Es Gram (+) y es industrialmente importante. Esta y otras especies de *Bacillus* se usan en procesos industriales como la producción de vitaminas, enzimas y otros compuestos bioquímicos, por lo ha mejorado la comprensión de sus características moleculares y fisiológicas.

En condiciones de inanición, la bacteria detiene el crecimiento y provoca respuestas que incluyen la inducción de quimiotaxis y motilidad, la producción de antibióticos e hidrolasas. Si esta respuesta no logra restaurar el crecimiento, se induce a las células a formar endosporas que son resistentes a los productos químicos, desecación y radiación.

*B. subtilis* ha sido explorada como una herramienta de expresión y liberación de proteínas recombinantes (Villalva, 2014).

#### **2.5 *Enterococcus faecium***

Son cocos gram-positivos que no forman endosporas. Son anaerobios facultativos, quimiorganótrofos con metabolismo de tipo fermentativo, y mesófilos. Puede crecer entre 10 y 45°C y su crecimiento entre 37 y 40°C es óptimo, que corresponde a la temperatura intestinal. También, puede resistir el estrés por sales biliares (puede soportar el estrés en medios hasta el 40% de sales biliares) y sal. Es una especie común en el tracto digestivo de los animales y ayuda a establecer una flora intestinal adecuada en animales sanos. Además, favorece, el crecimiento de la proliferación de la flora ácido-láctica endógena. Se adhiere a los enterocitos y puede crecer en los intestinos. Limita la proliferación de flora potencialmente patógena, como

*Clostridium*, *Salmonella*, *Campylobacter* o *E. coli* hemorrágicos. Esta característica se debe a varias razones: la exclusión competitiva por ocupación de consumo y espacio de nutrientes; síntesis de ácido láctico y en ciertas ocasiones, a la capacidad de síntesis de bacteriocinas, péptidos de pequeño tamaño molecular capaces de inhibir selectivamente el crecimiento de ciertas cepas de especies sensibles.

Apoya la respuesta del sistema inmunológico

- Desplaza bacterias patógenas para colonizar los intestinos
- Puede mejorar la digestión y la disfunción gastrointestinal.

Debido a que la *Enterococcus faecium* no es ingerido por los animales y no requiere periodo de retirada porque no deja residuos en los productos de origen animal. Además, dado que se produce de forma natural en el sistema digestivo de varias especies animales, no supone ningún riesgo para el medio ambiente una vez liberado Artero et al., (2016).

Su acción Simbiótica de Prebióticos y Probióticos, para colaborar al control de la diarrea y promover un microbiota intestinal saludable y vienen en presentación de sobres individuales con 90 gramos, administración VO.

## **2.6 *Lactobacillus acidophilus***

*Lactobacillus acidophilus* o *lactobacilo acidófilo*, es una bacteria del género *Lactobacillus*. Las bacterias crecen, fácilmente en medios mucho más ácidos que ideales para otros microorganismos (pH 4-5 o menores) y crece en condiciones óptimas a unos 45 °C.

*Lactobacillus acidophilus* es una bacteria del ácido láctico con funciones probióticas, utilizadas a menudo para la formulación de alimentos funcionales y

crecen en condiciones de cultivo similares. Metaboliza azúcares específicos, la inulina es un fructooligosacárido cuya función prebiótica favorece la propagación de la micro-flora intestinal y evita el crecimiento de microorganismos patógenos.

Debido a que juega un papel relevante en el sistema inmunológico, tiene un efecto protector sobre el sistema gastrointestinal. Por ejemplo, *L. acidophilus* evita la adherencia de *Candida albicans* en el tracto digestivo impidiendo la producción de *biofilms* de la levadura ya que reducen su capacidad filamentosa, mediante la regulación inmunológica mediada por citoquinas (James, 2017).

Su acción Simbiótica de Prebióticos y Probióticos, para colaborar al control de la diarrea y promover un microbiota intestinal saludable y vienen en presentación de sobres individuales con 90 gramos, administración VO.

## **2.7 Ficha técnica de la enterogermina**

### **Mecanismo de acción *Bacillus clausii***

Antidiarreico y formador de la flora intestinal.

### **Indicaciones terapéuticas *Bacillus clausii***

- Tratamiento y profilaxis cambios en la flora bacteriana intestinal (disbiosis).
- Tratamiento para reestablecer el equilibrio de la flora bacteriana intestinal, alterada durante el curso de un tratamiento con agentes quimioterapéuticos o antibióticos.
- Trastornos o desórdenes agudos y crónicos en lactantes, causados por intoxicación o por desequilibrios de la flora microbiana intestinal y desvitaminosis.

### **Modo de administración *Bacillus clausii***

Oral. Agítelo antes de usar. Para abrir el frasco, gire la parte superior y retírela. Beber el contenido directamente o diluirlo con agua u otras bebidas (por ejemplo:

té, leche, jugo de naranja). Para lo cual, se debe de tomar este medicamento rápidamente después de abrirlo para evitar la contaminación de la suspensión.

### **Advertencias y precauciones**

No exceda la dosis prescrita. Durante el tratamiento con antibióticos, se recomienda inyectar *Bacillus Claussi* entre dosis de antibiótico (Sanofi, 2002).

## **2.8 Métodos de análisis de microbiota**

Los métodos de caracterizar el microbiota intestinal se basan en métodos de cultivo o herramientas moleculares. La elección de una o la otra depende del propósito del estudio (por ejemplo, la detección de patógenos específicos en muestras clínicas o características generales general del microbiota intestinal), el coste y la disponibilidad de la tecnología.

### **2.8.1 Cultivo bacteriano**

La evaluación de la composición del microbiota intestinal se ha logrado históricamente mediante métodos de cultivo. El cultivo bacteriano se puede usar para evaluar la viabilidad del organismo, la determinación de una infección activa, y para desarrollar pruebas de susceptibilidad a los antibióticos en muestras clínicas. Los cultivos bacterianos son más útiles para evaluar la presencia de patógenos específicos (por ejemplo, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, etc). Sin embargo, el cultivo bacteriano tiene ciertas limitaciones, ya que la mayoría de las bacterias intestinales no pueden ser cultivadas. Lo señalado no quiere decir que estas bacterias no sean cultivables, sino que la información disponible sobre los requerimientos para su crecimiento desconocido. Se estima que menos del 10% de las bacterias intestinales pueden cultivarse, y no todas pueden identificarse (Suchodolski, et al., 2012).

Dado que el cultivo bacteriano subestima la diversidad microbiana, la utilización de técnicas moleculares se ha transformado en el método estándar del análisis del microbiota intestinal Suchodolski et al., (2012). Dichos métodos se basan en la extracción del ADN o ARN de muestras intestinales o fecales, los cuales son amplificados con primers específicos para regiones conservadas. Esta estrategia permite la amplificación del ADN de todas las bacterias, conocidas o desconocidas, que se encuentran en la muestra. Esta mezcla de secuencias luego se separa y se caracteriza mediante secuenciaciones Suchodolski (2010).

La secuenciación del gen 16S ARNr se ha convertido ahora en un estándar en los estudios de la microbiota, misma que proporciona una información útil sobre la composición microbiana y cómo los grupos bacterianos individuales o la comunidad entera difieren entre los animales sanos y los enfermos, o responden a intervenciones dietéticas o terapéuticas. En los estudios de secuenciación, la abundancia de los taxones bacterianos se expresa como proporciones relativas de la comunidad bacteriana total y se compara estadísticamente entre los grupos de tratamiento (Swanson, et al., 2002).

### **2.8.2 Extracción de ADN**

La diversidad genética de una población se puede evaluar mediante varios indicadores mediante marcadores moleculares, los más utilizados son la riqueza alélica, el polimorfismo y la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ).

El método de obtención de ADN a partir de materiales biológicos como cepillos de dientes, saliva, sangre u otros tejidos mediante métodos físicos y químicos se denomina extracción. La extracción implica aislar y purificar el ADN para poder estudiarlo, analizarlo o manipularlo. En la investigación biomédica, el ADN se utiliza para analizar y diagnosticar pacientes con enfermedades neurodegenerativas, cáncer, infecciones y más.

Para estudiar o manipular ácidos nucleicos, primero se debe aislar o extraer el ADN o ARN de las células. Se usan diversas técnicas poseer diversos tipos de ADN. La mayor parte de las técnicas de extracción de ácidos nucleicos implican pasos para alterar la célula y utilizar reacciones enzimáticas para destruir todas las macromoléculas que no se desean (como la degradación de moléculas no deseadas y la separación de la muestra de ADN). Las células se rompen usando un tampón de lisis (una solución que es principalmente un detergente); lisis significa “dividir”. Estas enzimas descomponen las moléculas lipídicas en las membranas celulares y las membranas nucleares. Las macromoléculas se inactivan usando enzimas como proteasas que descomponen las proteínas y ribonucleasas (RNasas) que descomponen el ARN. Luego se precipita el ADN usando alcohol. El ADN genómico suele ser visible como una masa gelatinosa y blanca. Las muestras de ADN se pueden almacenar congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante varios años (Binns, 2013).

### **2.8.3 Secuencia NGS**

Los métodos NGS (next generation sequencing) son un grupo de técnicas diseñadas para secuenciar gran cantidad de segmentos de ADN en paralelismo en un tiempo más corto y con un menor coste por muestra base Lander (2011). Para lograr este objetivo, siguen un abordaje metodológico semejante que se puede resumir en cinco pasos:

- Segmentación del ADN en varios fragmentos.
- Marcaje del ADN por medio de primers o adaptadores que indican el punto de partida para la replicación.
- Amplificación de los fragmentos de ADN marcados con adaptadores por métodos basados en reacción en cadena de la polimerasa.
- Secuenciación o lectura de los fragmentos de ADN.
- Reconstrucción de la secuencia completa por medio de secuencias de referencia y exportación a ficheros de almacenamiento de datos (Pilla & Suchodolski, 2021).

#### **2.8.4 Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S**

Al comparar las secuencias de los ARNr 16S (o de los genes que los codifican) se pueden determinar relaciones filogenéticas entre procariotas. Este hecho tuvo un enorme impacto en la taxonomía bacteriana, dando lugar actual sistema de clasificación y permitiendo una identificación precisa y rápida de las bacterias. En microbiología clínica la identificación molecular basada en el ADNr 16S se usa fundamentalmente para bacterias cuya identificación mediante otros métodos es imposible, difícil o lleva mucho tiempo.

Para la consecuencia posterior, la ampliación genética comienza preferentemente a partir ADN extraído de cultivos bacterianos puros, pero además puede obtenerse directamente de una muestra clínica. Esto último ha llevado al descubrimiento de nuevos agentes patógenos. Dado de potencial, a medida que los recursos técnicos aumenten y el precio se haga más competitivo, la identificación bacteriana basada en el ADNr 16S encontrará probablemente una aplicación más amplia en el laboratorio de microbiología clínica (Rodicio & Mendoza, 2004).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Ubicación de la investigación

- **Localización de la investigación**

El presente estudio se realizó en el consultorio Veterinario Fashions Pets ubicado en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha.

- **Situación geográfica y edafoclimática**

<b>Parámetros</b>	<b>Localidad</b>
Latitud	-0.22985
Longitud	78.5249481
Altitud	2.850 msnm
Temperatura máxima	21 °C
Temperatura mínima	7 °C
Temperatura media	°C a 18 °C

- **Zona de vida**

El Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) se localiza en la hoya de Guayllabamba, entre las estribaciones Occidental y Oriental de la cordillera de los Andes. Siendo así que Quito es considerado como un bosque húmedo montano bajo. (Holdridge & Grenke, 1971)

## 3.2 Metodología

### 3.2.1 Material en estudio

6 cachorros caninos

### 3.2.2 Factores en estudio

#### Factor A:

A1. Cachorros caninos

#### Factor B:

B1. Agua destilada

B2. Esporas de *Bacillus Claussi*

### 3.2.3 Tratamientos

**Tabla 2.** *Tratamientos*

Tratamiento	Código	Descripción
T0	A1B1	Cachorros caninos + Agua Destilada
T1	A1B2	Cachorros caninos + Esporas de <i>Bacillus clausi</i>

### 3.2.3 Tipo de diseño experimental

Para el desarrollo de la investigación se realizó con un diseño completamente al azar.

Numero de tratamientos	2
Numero de repeticiones	6
Cantidad de muestras por unidad experimental	2
Número total de muestras a analizar	12

### 3.2.4 Manejo del experimento

Se seleccionó seis cachorros clínicamente sanos de diferentes camadas, todos con una edad mínima de 2 meses y máxima de 5 meses, que hayan seguido la misma dieta alimenticia. Una vez que los propietarios otorgaron su consentimiento, los cachorros fueron admitidos en el estudio. Todos los cachorros se sometieron a un examen físico completo para determinar su estado de salud y se sometieron a un aclimatamiento alimenticio una semana antes de ser asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos de tratamiento.

El grupo de tratamiento (n=3) recibió una dosis de 0,5 ml/kg de esporas de *Bacillus clausii* por vía oral (equivalente a 200 000 000 esporas/kg), por otro lado, el grupo control (n=3) recibió 0,5 ml/kg de agua destilada por vía oral.

Antes de comenzar el tratamiento, a cada cachorro se tomó muestras de sangre en tubos sin aditivos (tapa roja) para medir los niveles séricos de urea y creatinina. Estas muestras se almacenaron en tubos eppendorf y se mantuvieron congeladas para su posterior análisis. Además, se tomaron muestras de heces mediante hisopado rectal. Las muestras fecales fueron sometidas a una extracción de ADN

genómico total para la posterior amplificación del Gen ARNr 16S con el fin de identificar las bacterias presentes en el microbiota intestinal. Al octavo día de iniciado el tratamiento, se tomaron nuevamente muestras de sangre y heces para un segundo análisis.

Para registrar las características morfológicas de las heces, se realizaron encuestas a los propietarios antes de iniciar el experimento y cada 48 horas, del día uno hasta los 21 días después de haber empezado el tratamiento.

### **3.2.6 Métodos de evaluación y datos a tomarse**

**Raza:** Se obtuvo durante el examen físico de los cachorros y se registró en la ficha de recolección de datos.

**Sexo:** Se obtuvo durante el examen físico de los cachorros y se registró en la ficha de recolección de datos.

**Microbiota intestinal:** Mediante hisopado rectal se obtuvo una cantidad de entre 500mg a 1g de heces. El procesamiento de la muestra inicia con la extracción de ADN posteriormente se realiza la amplificación por PCR del gen 16S.

**Niveles séricos de Urea:** Se determinó mediante espectrofotometría enzimática (mmol/L) en plasma sanguíneo.

**Niveles séricos de Creatinina:** Se determinó mediante espectrofotometría enzimática (mmol/L) en plasma sanguíneo.

**Características morfológicas de las heces:** Se realizó mediante el examen visual de las heces y mediante una encuesta realizada al propietario.

### **3.2.7 Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva y se presentan en forma de frecuencias, porcentajes, medias y desviaciones estándar. Los resultados se muestran en tablas y gráficos.

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSION

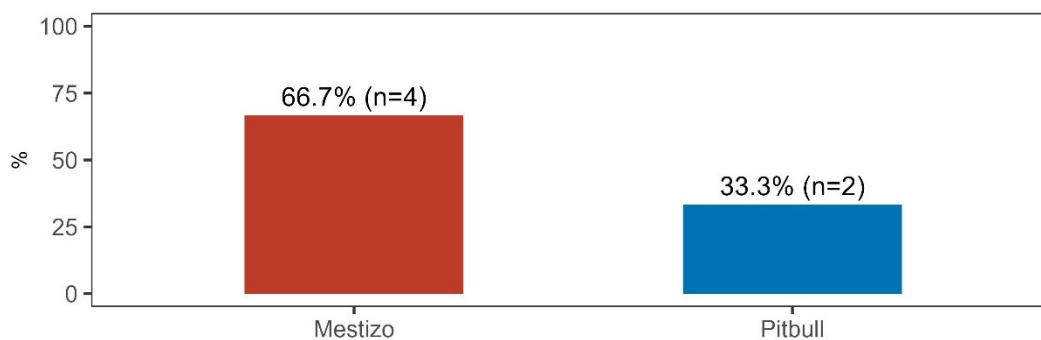
#### 4.1 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

##### 4.1.1 Raza

**Tabla 3.** *Raza de los cachorros*

<b>Raza</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Mestizo</b>	4	66.7 %
<b>Pitbull</b>	2	33.3 %
<b>Total</b>	6	100 %

**Figura 1.** *Raza de los cachorros*



En el estudio participaron cachorros de dos razas: mestizos y pitbull. La mayor parte de los cachorros fueron mestizos, con un total de cuatro cachorros, lo que representa el 66.7% de la muestra. Por otro lado, se incluyeron 2 cachorros de raza pitbull, que constituyen el 33.3% de la muestra.

Se seleccionaron dos razas con el objetivo de minimizar la variabilidad entre los sujetos del estudio, eligiendo cachorros provenientes de la misma camada. Ya que

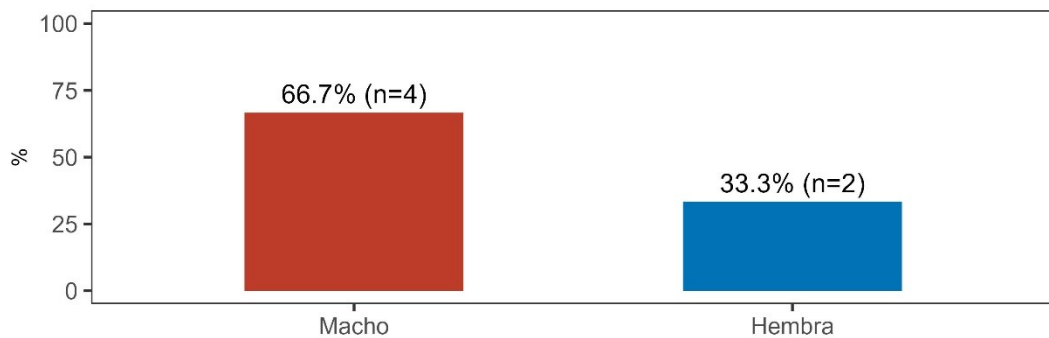
se ha observado que la microbiota intestinal de los cachorros depende de la microbiota de la madre (Balouei et al., 2023). Así como también se ha observado que la microbiota intestinal puede depender de la raza de los perros (Álvarez, et al., 2021).

#### 4.1.2 Sexo

**Tabla 4.** *Sexo de los cachorros*

<b>Raza</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Macho</b>	4	66.7 %
<b>Hembra</b>	2	33.3 %
<b>Total</b>	6	100 %

**Figura 2.** *Sexo de los cachorros*



En cuanto al sexo de los cachorros, cuatro fueron machos, lo que equivale al 66.7% del total, y dos fueron hembras, representando el 33.3% de la muestra.

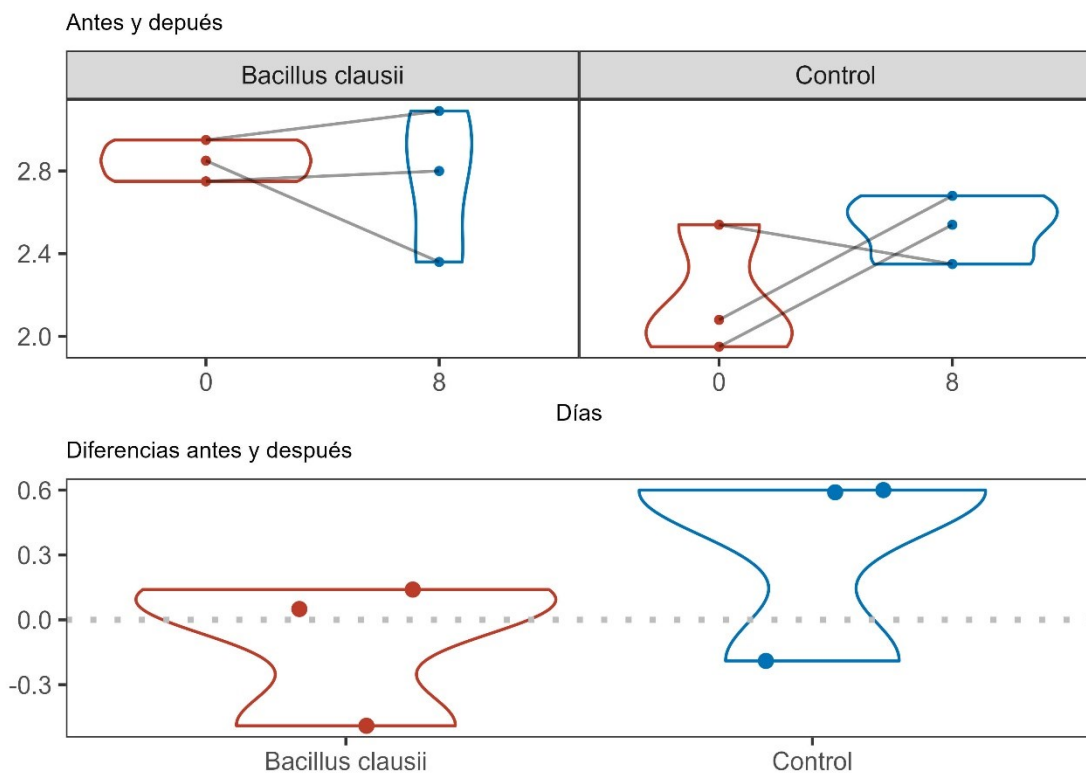
Si bien esta distribución de género no permite extraer conclusiones significativas en cuanto a la microbiota intestinal en respuesta a las esporas de *Bacillus clausii* será necesario un tamaño de muestra más grande para determinar si las diferencias de sexo influyen en la composición de la microbiota intestinal, aunque la influencia suele quedar oculta por las variaciones genéticas (Milanese, 2021).

### 4.1.3 Microbiota intestinal

**Tabla 5.** Índice de Shannon de cada paciente del estudio

Paciente	Tratamiento	Día 0	Día 8	Diferencia
1	Control	2.54	2.35	-0.19
2	Control	2.08	2.68	0.6
3	Control	1.95	2.54	0.59
4	<i>Bacillus clausii</i>	2.85	2.36	-0.49
5	<i>Bacillus clausii</i>	2.75	2.8	0.05
6	<i>Bacillus clausii</i>	2.95	3.09	0.14

**Figura 3.** Índice de Shannon



**Tabla 6.** Índice de Shannon de cada tratamiento según el día

<b>Grupo</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 8</b>
Control	2.19 (0.31)	2.52 (0.16)
<i>Bacillus clausii</i>	2.85 (0.1)	2.75 (0.36)

Nota: Valores expresados como media y desviación estándar

En nuestro estudio observamos que el índice de Shannon para el grupo control fue de 2.19 ( $\pm 0.31$ ) en el Día 0 y de 2.52 ( $\pm 0.16$ ) en el Día 8. En cuanto al grupo tratado con *Bacillus clausii*, el índice de Shannon fue de 2.85 ( $\pm 0.10$ ) en el Día 0 y de 2.75 ( $\pm 0.36$ ) en el Día 8.

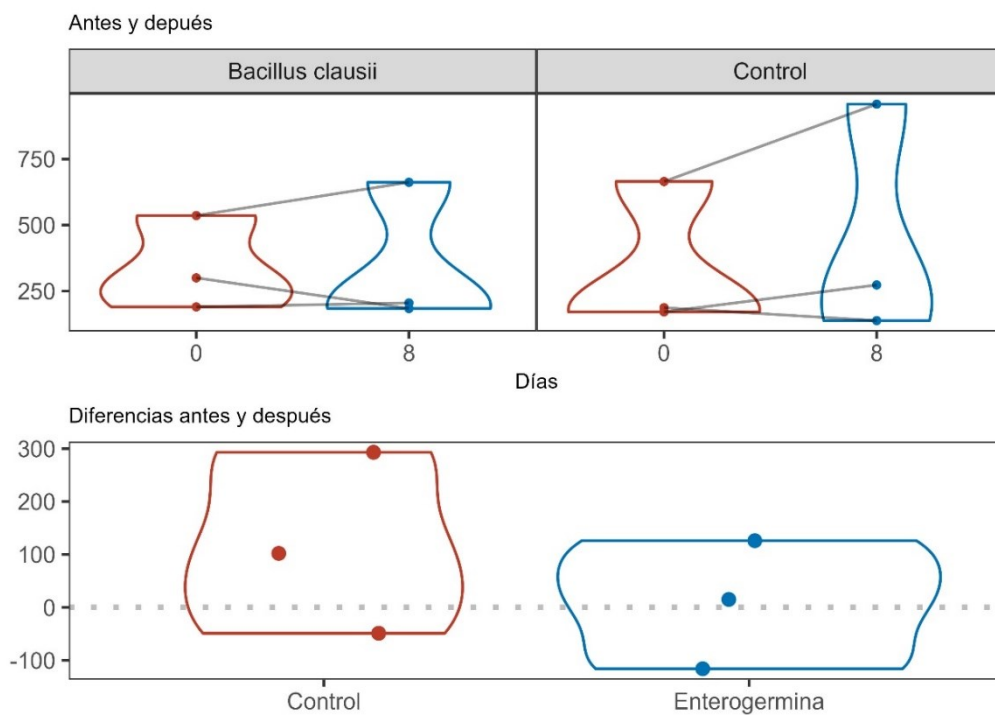
Los índices de Shannon que observamos en nuestro estudio son inferiores a lo observado por (Guarner, et al., 2017) en cachorros hasta los 56 días de edad. Sin embargo, los índices observados en nuestro estudio son similares a lo observado por (Garrigues, et al., 2023) en cachorros de hasta 28 días de edad, así como también es similar a la observado en perros adultos Thomson et al., (2022).

Las diferencias observadas con estos estudios pueden deberse a la diferente microbiota de las madres, ya que se ha observado que esto es un factor importante para el establecimiento de la microbiota de las crías Balouei et al., (2023). Así como puede deberse a las diferente composición y calidad de la dieta de los cachorros estudiados.

**Tabla 7.** Cantidad de especies detectadas en las muestras fecales

Paciente	Tratamiento	Día 0	Día 8	Diferencia
1	Control	171	273	102
2	Control	187	138	-49
3	Control	665	958	293
4	<i>Bacillus clausii</i>	190	205	15
5	<i>Bacillus clausii</i>	300	184	-116
6	<i>Bacillus clausii</i>	536	662	126

**Figura 4.** Cantidad de especies detectadas en las muestras fecales



**Tabla 8.** Cantidad de especies detectadas en las muestras fecales de cada tratamiento según el día

Grupo	Día 0	Día 8
Control	341 (281)	456 (440)
<i>Bacillus clausii</i>	342 (177)	350 (270)

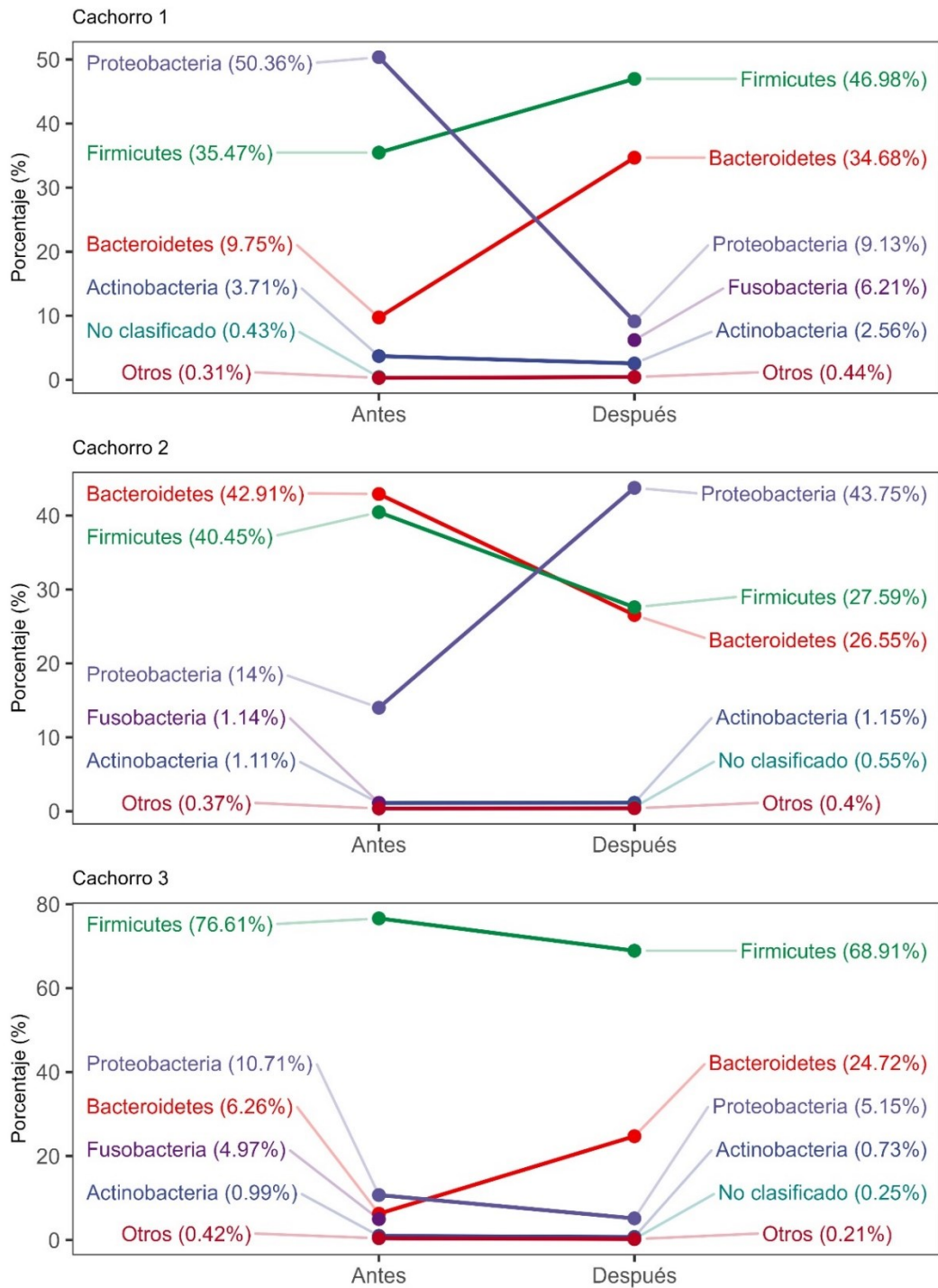
Nota: Valores expresados como media y desviación estándar

En nuestro estudio, observamos que la cantidad de especies detectadas en el grupo control fue de 341 ( $\pm 281$ ) en el Día 0 y de 456 ( $\pm 440$ ) en el Día 8. En cuanto al grupo tratado con *Bacillus clausii*, la cantidad de especies detectadas fue de 342 ( $\pm 177$ ) en el Día 0 y de 350 ( $\pm 270$ ) en el Día 8. Estos resultados superan los reportados por (Guarner, et al., 2017) quienes observaron una menor cantidad de especies. Sin embargo, a pesar de la menor riqueza de especies en su estudio, lograron obtener un mayor índice de Shannon en comparación con nuestros resultados. Esto podría sugerir que, en su estudio, la distribución de las especies fue más equitativa, lo que incrementó la diversidad.

**Tabla 9.** Resultados del tratamiento

	<b>Antes del tratamiento</b>	<b>%</b>	<b>Después del tratamiento</b>	<b>%</b>
	<i>Proteobacteria</i>	50.36	<i>Firmicutes</i>	46.98
	<i>Firmicutes</i>	35.47	<i>Bacteroidetes</i>	34.68
Cachorro 1	<i>Bacteroidetes</i>	9.75	<i>Proteobacteria</i>	9.13
	<i>Actinobacteria</i>	3.71	<i>Fusobacteria</i>	6.21
	No clasificado	0.43	<i>Actinobacteria</i>	2.56
	Otros	0.31	Otros	0.44
	<i>Bacteroidetes</i>	42.91	<i>Proteobacteria</i>	43.7
	<i>Firmicutes</i>	40.45	<i>Firmicutes</i>	27.59
Cachorro 2	<i>Proteobacteria</i>	14	<i>Bacteroidetes</i>	26.55
	<i>Fusobacteria</i>	1.14	<i>Actinobacteria</i>	1.15
	<i>Actinobacteria</i>	1.11	No clasificado	0.55
	Otros	0.37	Otros	0.4
	<i>Firmicutes</i>	76.61	<i>Firmicutes</i>	68.91
	<i>Proteobacteria</i>	10.71	<i>Bacteroidetes</i>	24.72
Cachorro 3	<i>Bacteroidetes</i>	6.26	<i>Proteobacteria</i>	5.15
	<i>Fusobacteria</i>	4.97	<i>Actinobacteria</i>	0.73
	<i>Actinobacteria</i>	0.99	No clasificado	0.25
	Otros	0.42	Otros	0.21

**Figura 5.** Filum del grupo control antes y después del tratamiento



En el grupo control, se observó que las principales bacterias presentes en la microbiota intestinal de los cachorros antes y después del tratamiento fueron *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, aunque con algunas variaciones en sus proporciones.

En el caso del Cachorro 1, *Proteobacteria* fue el filo más abundante antes del tratamiento, seguido por *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Después del tratamiento, se observó un cambio en la composición, con *Firmicutes* convirtiéndose en el filo predominante, mientras que la proporción de *Proteobacteria* disminuyó.

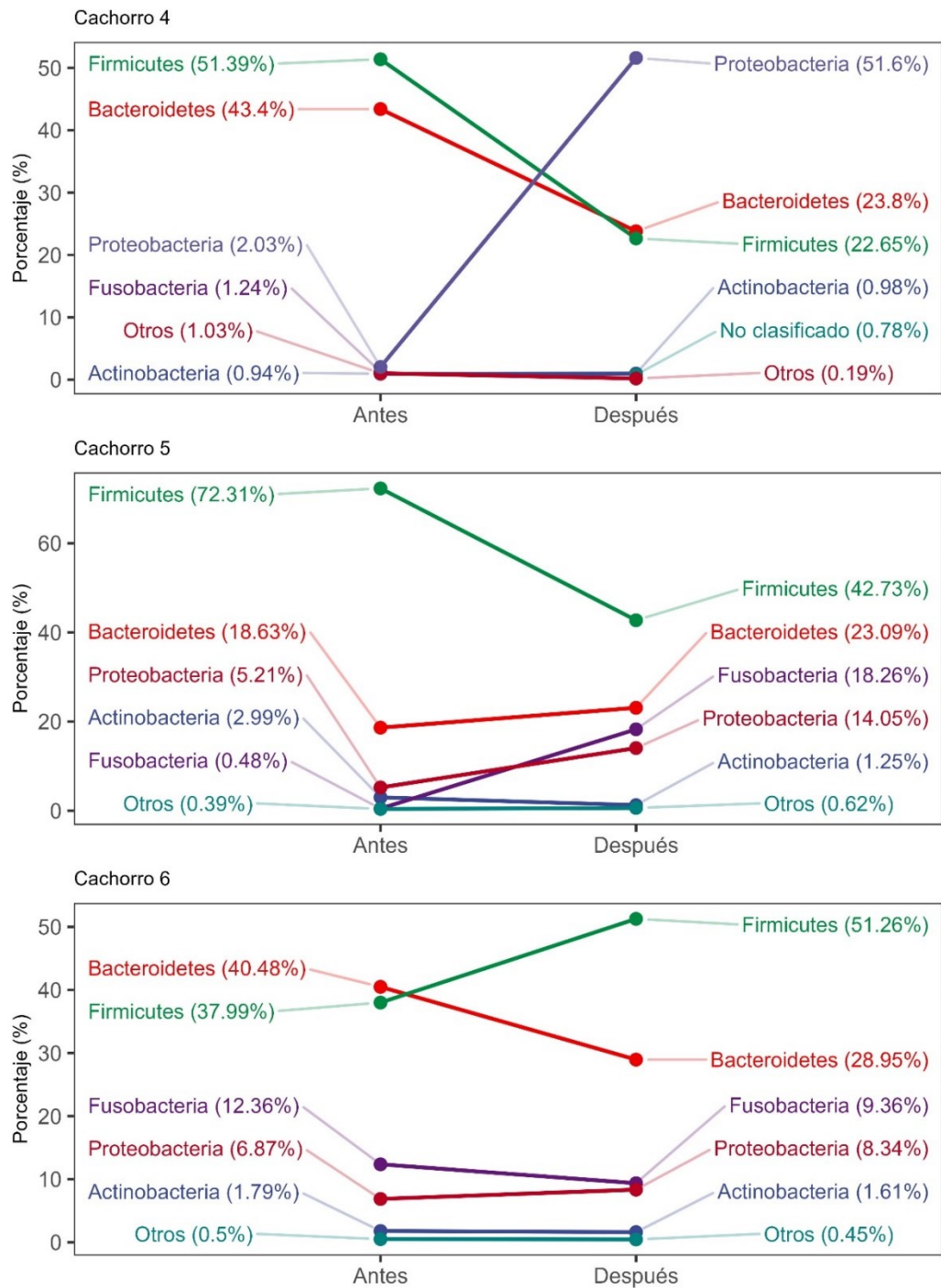
Para el Cachorro 2, *Bacteroidetes* y *Firmicutes* fueron los filos más dominantes antes del tratamiento. Después del tratamiento, la proporción de *Proteobacteria* aumentó significativamente, convirtiéndose en el filo más abundante.

Finalmente, en el Cachorro 3, *Firmicutes* se mantuvo como el filo predominante tanto antes como después del tratamiento, aunque con una reducción en su proporción post-tratamiento. También se observó un aumento en la proporción de *Bacteroidetes* después del tratamiento.

**Tabla 10.** *Filum del grupo tratando antes y después del tratamiento*

	<b>Antes del tratamiento</b>	<b>%</b>	<b>Despues del tratamiento</b>	<b>%</b>
Cachorro 4	<i>Firmicutes</i>	51.39	<i>Proteobacteria</i>	51.6
	<i>Bacteroidetes</i>	43.4	<i>Bacteroidetes</i>	23.8
	<i>Proteobacteria</i>	2.03	<i>Firmicutes</i>	22.65
	<i>Fusobacteria</i>	1.24	<i>Actinobacteria</i>	0.98
	Otros	1.03	No clasificado	0.78
	<i>Actinobacteria</i>	0.94	Otros	0.19
Cachorro 5	<i>Firmicutes</i>	72.31	<i>Firmicutes</i>	42.73
	<i>Bacteroidetes</i>	18.63	<i>Bacteroidetes</i>	23.09
	<i>Proteobacteria</i>	5.21	<i>Fusobacteria</i>	18.26
	<i>Actinobacteria</i>	2.99	<i>Proteobacteria</i>	14.05
	<i>Fusobacteria</i>	0.48	<i>Actinobacteria</i>	1.25
	Otros	0.39	Otros	0.62
Cachorro 6	<i>Bacteroidetes</i>	40.48	<i>Firmicutes</i>	51.26
	<i>Firmicutes</i>	37.99	<i>Bacteroidetes</i>	28.95
	<i>Fusobacteria</i>	12.36	<i>Fusobacteria</i>	9.36
	<i>Proteobacteria</i>	6.87	<i>Proteobacteria</i>	8.34
	<i>Actinobacteria</i>	1.79	<i>Actinobacteria</i>	1.61
	Otros	0.5	Otros	0.45

**Figura 6.** Filum del grupo tratado antes y después del tratamiento



En el grupo tratado, se observaron cambios en la composición de la microbiota intestinal de los cachorros antes y después del tratamiento.

En el caso del Cachorro 4, *Firmicutes* era el filo predominante antes del tratamiento, pero después del tratamiento, *Proteobacteria* se convirtió en el filo más abundante, desplazando a *Firmicutes* y *Bacteroidetes*.

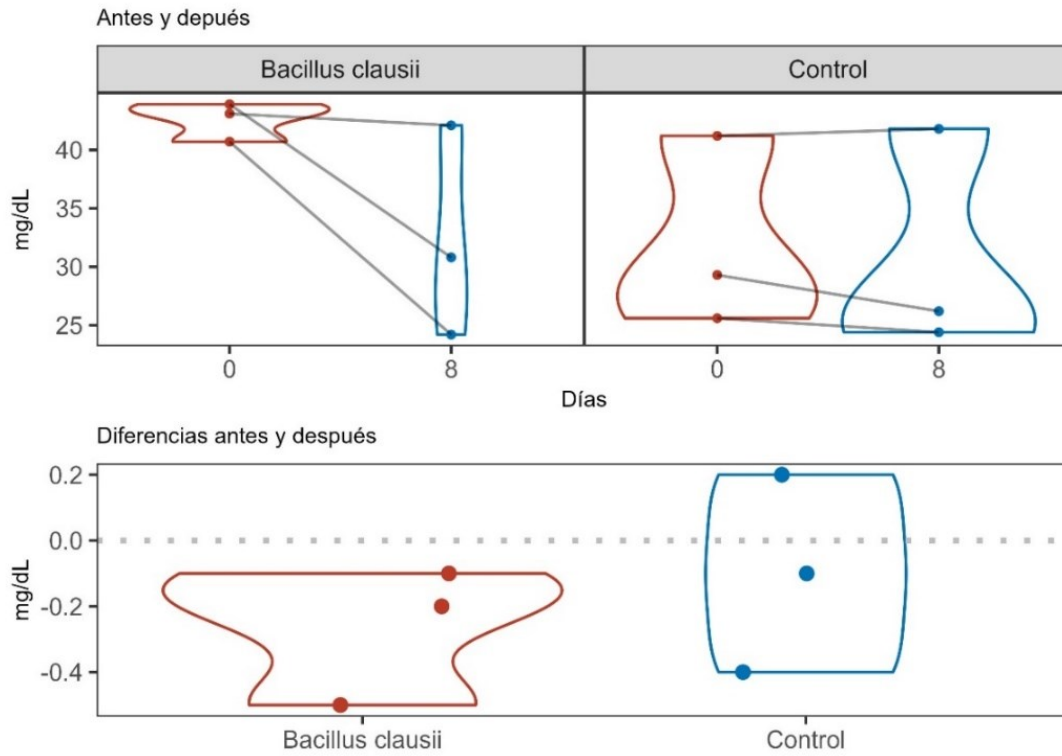
Para el Cachorro 5, *Firmicutes* mantuvo su predominancia antes del tratamiento. Sin embargo, después del tratamiento, su proporción disminuyó considerablemente, mientras que la proporción de *Fusobacteria* y *Proteobacteria* aumentó, lo que indica un cambio significativo en la composición bacteriana.

Finalmente, en el Cachorro 6, *Bacteroidetes* era el filo más abundante antes del tratamiento, seguido de *Firmicutes*. Tras el tratamiento, *Firmicutes* se convirtió en el filo dominante, mientras que *Bacteroidetes* y *Fusobacteria* mostraron una reducción en su proporción.

En el grupo control y tratado se observó un predominio *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, Lo cual concuerda con lo observado por (Guarner, et al., 2017) en cachorros a los 56 días, quienes creen que estas bacterias pueden participar en la digestión y utilización de macronutrientes en cachorros. Por lo cual la microbiota observada en los cachorros de nuestro estudio se puede considerar el habitual para cachorros de esta edad.

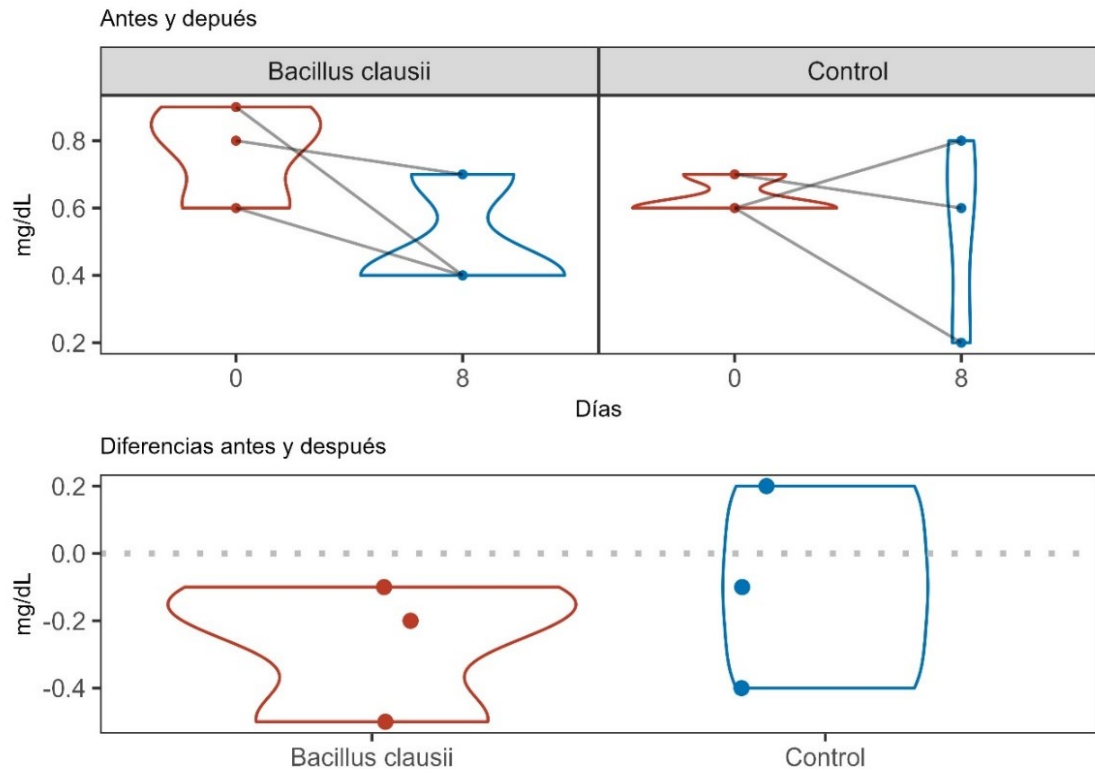
#### 4.1.4 Niveles séricos de Urea

**Figura 7.** Niveles séricos de Urea



#### 4.1.5 Niveles séricos de Creatinina

**Figura 8.** Niveles séricos de Creatinina



#### 4.1.5 Niveles séricos de urea y creatinina

**Tabla 11.** Niveles séricos de urea y creatinina

Analito	Grupo	Día 0	Día 8	Diferencia
Urea (mg/dL)	Control	32 (8.15)	30.8 (9.5)	-1.2 (1.8)
	<i>Bacillus clausii</i>	42.6 (1.6)	32.4 (9.0)	-10.2 (8.1)
Creatinina (mg/dL)	Control	0.6 (0.05)	0.5 (0.3)	-0.1 (0.3)
	<i>Bacillus clausii</i>	0.7 (0.1)	0.5 (0.1)	-0.2 (0.2)

Los resultados muestran que en el grupo control, los niveles de urea disminuyeron de 32 mg/dL en el día 0 a 30.8 mg/dL en el día 8. En el grupo tratado con *Bacillus clausii*, los niveles de urea pasaron de 42.6 mg/dL en el día 0 a 32.4 mg/dL en el día 8. En cuanto a la creatinina, en el grupo control, los niveles se redujeron de 0.6 mg/dL en el día 0 a 0.5 mg/dL en el día 8. En el grupo tratado con *Bacillus clausii*, los niveles de creatinina también disminuyeron de 0.7 mg/dL en el día 0 a 0.5 mg/dL en el día 8.

En nuestro estudio observamos que los pacientes que recibieron esporas *Bacillus clausii* mostraron menores niveles de urea y creatinina luego del tratamiento. En contraste, en con pacientes humanos con enfermedad renal crónica, no se ha observado una disminución en estos analitos al utilizar probióticos (De Faria, et al., 2018). Esta diferencia podría deberse a que en humanos se emplearon diferentes tipos de probióticos, o bien, la disminución observada en nuestro estudio podría estar influenciada por el reducido número de animales participantes.

#### 4.1.6 Características morfológicas de las heces

Durante el estudio, se evaluaron varias características morfológicas de las heces, incluyendo la coloración, consistencia, presencia de mucosidad y el número de

defecaciones por día, tanto en el grupo control como en el grupo que recibió *Bacillus clausii*.

No se observaron cambios en la coloración de las heces a lo largo del tiempo entre los tratamientos. La consistencia de las heces se mantuvo firme antes, durante y después del tratamiento en el grupo control. De manera similar, en el grupo que recibió *Bacillus clausii*, la consistencia de las heces fue firme, excepto en un paciente que presentó heces líquidas el día previo al tratamiento. Sin embargo, en los días posteriores, las heces de este paciente volvieron a ser firmes.

Ningún paciente presentó mucosidad en las heces antes, durante ni después del tratamiento. No se registraron cambios en el número de defecaciones por día.

En nuestro estudio, no se observaron efectos adversos en los perros tratados con esporas de *Bacillus clausii*, lo que sugiere que en esta especie su administración es segura. Estos resultados son consistentes con lo observado en humanos, donde el uso de *Bacillus clausii* se considerado seguro, a pesar de un par de informes de septicemia (Ghelardi, et al., 2015). La ausencia de efectos adversos en nuestro estudio proporciona evidencia que respalda la seguridad de *Bacillus clausii* en perros. Sin embargo, es fundamental señalar que este estudio se llevó a cabo en una pequeña cantidad de animales. Por lo cual son necesarios futuros estudios con un mayor número de animales para confirmar estos hallazgos y para detectar cualquier posible efecto adverso que pudiera surgir con un uso más extendido.

## 4.2 Comprobación de hipótesis

Debido a las limitaciones del estudio, incluyendo el reducido número de animales y la variabilidad en los datos, no se pudo realizar un análisis estadístico robusto para comprobar la hipótesis planteada. Sin embargo, los cambios observados en la microbiota intestinal de los cachorros tratados con *Bacillus clausii* no fueron lo suficientemente consistentes como para sugerir alteraciones significativas. Por lo tanto, aunque no se puede rechazar formalmente la hipótesis nula ( $H_0$ ), los resultados obtenidos proporcionan indicios de que *Bacillus clausii* no causó cambios notables en la composición global de la microbiota intestinal bajo las condiciones de este estudio.

## CAPITULO V

### 5.1 CONCLUSIONES

La caracterización de la microbiota intestinal reveló un predominio de los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* en los cachorros, independientemente de si pertenecían al grupo control o tratado en el día 0. Estos dos filos bacterianos constituyeron la mayor parte del microbiota intestinal en todos los cachorros, lo que es consistente la microbiota en esta etapa de desarrollo. Además, se detectaron otras bacterias en menores proporciones, como *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, y *Actinobacteria*.

La administración de *Bacillus clausii* no provocó grandes cambios en la microbiota intestinal de los cachorros, manteniéndose una composición bacteriana similar a la observada en el grupo control.

El análisis de los niveles séricos de urea y creatinina indicó que, tras la administración de esporas de *Bacillus clausii*, ambos analitos disminuyeron en los cachorros tratados. Aunque se observó una reducción más marcada en el grupo tratado en comparación con el grupo control, estas variaciones no resultan concluyentes debido al tamaño limitado de la muestra y la variabilidad individual. En cuanto a las características morfológicas de las heces, no se detectaron cambios significativos en la coloración, consistencia, presencia de mucosidad, o el número de defecaciones por día en los cachorros tratados con *Bacillus clausii*. Las heces mantuvieron una consistencia firme durante todo el estudio, y no se registraron efectos adversos notables en los cachorros.

## 5.2 RECOMENDACIONES

En base a las conclusiones obtenidas en la presente investigación recomienda:

- En futuras investigaciones incrementar significativamente el tamaño de la muestra, incorporando un mayor número de cachorros en diversas edades, razas y condiciones de salud. Esto permitirá obtener datos más representativos y generalizables sobre los efectos del *Bacillus clausii* en la microbiota intestinal, la funcionalidad renal y las características morfológicas de las heces.
- Extender el periodo de seguimiento post-tratamiento para observar si los cambios en la microbiota intestinal y en los parámetros renales se mantienen o cambian con el tiempo.
- Realizar estudios que evalúen distintas dosis y protocolos de administración de *Bacillus clausii*, con el fin de determinar cuál es el régimen más efectivo y seguro para promover mejoras sostenibles en la microbiota intestinal y sus efectos en la función renal.

## BIBLIOGRAFIA

- Álvarez, J., Fernández, J., Guarner, F., Gueimonde, M., Rodríguez, J., Saenz, M., & Sanz, Y. (2021). Microbiota intestinal y salud Gut microbes and health. *Gastroenterología y Hepatología*, 44(7), 519-535. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.01.009>
- Alverdy, J., y Chang, E. (2008). The re-emerging role of the intestinal microflora in critical illness and inflammation: why the gut hypothesis of sepsis syndrome will not go away. *J Leukoc Biol*, 83(3), 461-466. <https://doi.org/10.1189/jlb.0607372>.
- Artero, C., Ascencio, K., y Baños, J. (2016). *Adición de probióticos Bacillus subtilis, Enterococcus faecium, Pediococcus acidilactici y Lactobacillus reuteri, en la alimentación de Oreochromis niloticus (TILAPIA) Y SU efecto en la fase de engorde*. Santa Ana- El Salvador: Universidad de El Salvador.
- Artis, D. (2008). Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol*, 8(6), 411-420. <https://doi.org/10.1038/nri2316>.
- Balouei, F., Stefanon, B., Sgorlon, S., & Sandri, M. (2023). Factors Affecting Gut Microbiota of Puppies from Birth to Weaning. *Animals (Basel)*, 6(13), 578. <https://doi.org/10.3390/ani13040578>.
- Benno, Y., Nakao, H., Uchida, K., y Misouka, T. (1992). Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. *J Vet Med Sci*, 54(4), 703-706. <https://doi.org/https://doi.org/10.1292/jvms.54.703>
- Bermúdez-Brito, M., Plaza, J., Muñoz-Quezada, S., y Gomez-Llorente, Á. (2012). Mecanismos de acción de los probióticos. *Annals of nutrition and metabolism*, 61(2), 160-174. <https://doi.org/10.1159/000342079>.

- Bik, E., Eckburg, P., Gill, S., Nelson, K., Purdom, E., François, F., . . . Relman, D. (2006). Análisis molecular de la microbiota bacteriana en el estómago humano. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103(3), 732-737. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506655103>.
- Binns, N. (2013, enero 17). *Probiotics, prebiotics and the Gut microbiota. Belgium: International Life Sciences Institute*. [https://doi.org/https://semipyp.es/pdf/pub/monografico\\_ils\\_i.pdf](https://doi.org/https://semipyp.es/pdf/pub/monografico_ils_i.pdf)
- Binns, N. (5 de 01 de 2013). *Probiotics, prebiotics and the Gut microbiota. Belgium: International Life Sciences Institute*. [https://doi.org/https://semipyp.es/pdf/pub/monografico\\_ils\\_i.pdf](https://doi.org/https://semipyp.es/pdf/pub/monografico_ils_i.pdf)
- Bordbar, R. (20 de Mayo de 2015). *Probióticos para perros: apoyo a la salud intestinal de los perros*. PetLabCo.: [https://www.petlabco.co.uk/collections/probiotics?utm\\_source=google&utm\\_medium=g&utm\\_campaign=21361479766&gc\\_id=21361479766&h\\_ad\\_id=701502959749&gad\\_source=1&gclid=EAIAIQobChMIqs\\_tn5yliAMVLKFaBR32gipJEAAYASAAEgIbdfD\\_BwE](https://www.petlabco.co.uk/collections/probiotics?utm_source=google&utm_medium=g&utm_campaign=21361479766&gc_id=21361479766&h_ad_id=701502959749&gad_source=1&gclid=EAIAIQobChMIqs_tn5yliAMVLKFaBR32gipJEAAYASAAEgIbdfD_BwE)
- Cajal, R. (1913). *Reglas y consejos sobre investigación biológica* (segunda ed.). Madrid: Imp. De Nicolás Moya.
- Cerovic, V., Jenkins, C., Barnes, A., Milling, S., & MacPherson, A. (2009). Hyporesponsiveness of intestinal dendritic cells to TLR stimulation is limited to TLR4. *J Immunol.*, 182(4), 2405-2415. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802318>.
- Chenoll, E., Casinos, B., Bataller, E., Astals, P., Echevarría, J., Iglesias, J., . . . Genovés, S. (2011). Novel probiotic *Bifidobacterium bifidum* CECT 7366 strain active against the pathogenic bacterium *Helicobacter pylori*. *Appl*

*Environ Microbiol*, 77(4), 1335-1345. <https://doi.org/10.1128/AEM.01820-10>.

Clapper, W., y Meade, G. (1963). Normal flora of the nose, throat, and lower intestine of dogs. *J Bacteriol*, 85, 643-648. <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/jb.85.3.643-648.1963>

De Faria, A., Borges, N., Sumie, L., Dolegan, C., Lima, F., Carvalho, D., . . . Madra, D. (2018). Efectos de la suplementación con probióticos sobre biomarcadores inflamatorios y toxinas urémicas en pacientes renales crónicos no sometidos a diálisis: un ensayo doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo. *Revista de alimentos funcionales*, 46, 378-383. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.018>

Frávega, R. (2020). Síndrome diarreico hemorrágico agudo. Una revisión práctica. *Revista Clínica de Urgencias Veterinarias*, 17, 2-8. [https://webdeveterinaria.com/wp-content/uploads/2020/07/Clinurgetvet\\_17\\_Sindrome\\_diarreico\\_hemorragico.pdf](https://webdeveterinaria.com/wp-content/uploads/2020/07/Clinurgetvet_17_Sindrome_diarreico_hemorragico.pdf)

Garcia-Mazcorro, J., Dowd, E., Poulsen, J., Steiner, J., & Suchodolski, J. (2012). Abundancia y variabilidad temporal a corto plazo de la microbiota fecal en perros sanos. *Microbiología Open* 1, 1(3), 340-347. <https://doi.org/10.1002/mbo3.36>

Garrigues, Q., Apper, E., Rodiles, A., Rovere, N., Chastant, S., & Mila, H. (2023). Composition and evolution of the gut microbiota of growing puppies is impacted by their birth weight. *Sci Rep*, 13(1), 117-147. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41422-9>.

- Ghelardi, E., Celandroni, F., Salvetti, S., Gueye, S., Lupetti, A., & Senesi, S. (2015). Survival and persistence of *Bacillus clausii* in the human gastrointestinal tract following oral administration as spore-based probiotic formulation. *J Appl Microbiol.*, *119*(2), 552-559. <https://doi.org/10.1111/jam.12848>.
- Gómez, M., y Acero, F. (2011). Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, *74*(82), 74-82. <https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/download/680/724/1290>
- Guarner, F., Sanders, M., Eliakim, R., Fedorak, R., Gangl, A., Garish, G., . . . Le Mair, A. (2017, 08 15). *Probióticos y prebióticos*. Organización Mundial de Gastroenterología. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Prebióticos y Prebióticos.: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/.../probiotics-spanish-2011.pdf>
- Handl, S., Dowd, S., Garcia-Mazcorro, J., Steiner, J., y Suchodolski, J. (2011). Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS Microbiol Ecol*, *76*(2), 301-310. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01058.x>
- Holdridge, L., y Grenke, W. (1971). *Forest Environments in Tropical Life Zones: A Pilot Study*. Oxford: Pergamon Press.
- Hooper, L., y Gordon, J. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, *292*(5519), 1115-1118. <https://doi.org/10.1126/ciencia.1058709>.
- Icaza-Chavez, M. (2013). Microbiota intestinal en la salud y enfermedad. *Revista de gastroenterología de Mexico*, *78*(4), 240-248.

<https://doi.org/https://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-microbiota-intestinal-salud-enfermedad-articulo-S0375090613001468>

James, M. (2017). *Evaluación de las condiciones de cultivo de Lactobacillus acidophilus y Lactobacillus casei a nivel de laboratorio, con inulina como fuente de carbono*. Quito: Universidad de las Américas.

Johnston, K., Lamport, U., y Bata, R. (1993). An unexpected bacterial flora in the proximal small intestine of normal cats. in the proximal small intestine of normal cats. *Vet Rec*, 132(14), 362–363. <https://doi.org/10.1136/vr.132.14.362>.

Klaenhammer, T., y Kuller, M. (1999). Selection and design of probiotics. *Int J Food Microbiol*, 15(50), 45–57. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(99\)00076-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(99)00076-8).

Lander, E. (2011). Initial impact of the sequencing of the human genome. *Nature*, 470(7333), 187-97. <https://doi.org/10.1038/nature09792>.

Lotz, M., Ménard, S., & Hornef, M. (2007). Innate immune recognition on the intestinal mucosa. *Int j Med Microbiol*, 297(5), 379-392. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.03.010>.

Marseglia, G., Tosca, M., Cirillo, I., Licari, A., Leone, M., Marseglia, A., . . . Ciprandi, G. (2007). Efficacy of *Bacillus clausii* spores in the prevention of recurrent respiratory infections in children: a pilot study. *Ther Clin Risk Manag*, 3(1), 13-17. <https://doi.org/10.2147/tcrm.2007.3.1.13>.

Milanese, A. (2021). El microbioma intestinal y las enfermedades relacionadas con las hormonas sexuales. *Fronteras en microbiología*, 12.

Muñoz, Y. (5 de 10 de 2021). *La enfermedad inflamatoria intestinal canina*. Quito: Universidad Europea.

Pilla, S., y Suchodolski, J. (2021). The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. *Veterinary Clinics: Small Animal*, 51(3), 605-621. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002>

Ramiro-Puig, E., Pérez-Cano, J., Castellote, C., Franch, A., & Castell, M. (2008). El intestino: pieza clave del sistema inmunitario. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100(1). [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1130-01082008000100006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082008000100006)

Rodicio, M., y Mendoza, M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 22(4), 238-245. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(04\)73073-6](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(04)73073-6)

Sanchez, N. (2015). *Evaluación del efecto probiótico de las cepas Lactobacillus reuteri CECT7266 y Lactobacillus fermentum CECT7265 en perros sanos*". Universidad Autónoma de Barcelona.

Sanofi. (2002). *ENTEROGERMINA® 2000 MILLONES (2 MILLARDOS)/5 mL SUSPENSIÓN ORAL*. Sanofi.

Sanofi. (13 de 12 de 2019). *Enterogermina Plus*. Sanofi: <https://www.enterogerminaplus.com/es-ar/probioticos/bacillus-clausii>

Schiffirin, E., y Blum, S. (2002). Interactions between the microbiota and the intestinal mucosa. *Eur J Clin Nutr*, 56(3), 60-64. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601489>

- Sokol, H., Seksik, P., Furet, J., Firmesse, O., Nion-Larmurier, I., Beaugerie, L., . . . Doré, J. (2009). Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis*, 15(8), 1183-1189. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ibd.20903>
- Specter, M. (2012). Los gérmenes somos nosotros: las bacterias nos enferman. ¿También nos mantienen vivos? *The New Yorker*, 22, 32-39. <https://www.newyorker.com/magazine/2012/10/22/germs-are-us>
- Suchodolski, J. (2010). Companion animals symposium: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *Journal of Animal Science*, 89(5), 1520-1530. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3377>
- Suchodolski, J., Camacho, J., y Steiner, J. (2008). Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol*, 66(3), 567-578. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x>.
- Suchodolski, J., Dowd, E., Westermarck, E., Stiner, J., Wolcott, R., Spillmann, T., & Harmoinen, J. (2009). The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. *BMC Microbiol*, 2, 210. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-210>.
- Suchodolski, M., Garcia-Mazcorro, U., Heilmann, D., Kachroo, I., M.-m. D., & Toresson, L. (2012). El microbioma fecal en perros con diarrea aguda y enfermedad inflamatoria intestinal idiopática. *PLoS ONE* 7, e51907.
- Swanson, K., Grieshop, C., Flickinger, E., Bauer, L., Chow, J., Lobo, B., . . . Fahey, G. (2002). Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein

catabolite concentrations in healthy adult dogs. *J Nutr*, 132(12), 3721-3731.  
<https://doi.org/10.1093/jn/132.12.3721>

Thomson, P., Santibáñez, R., Rodríguez-Salas, C., Flores-Yañez, C., & Garrido, D. (2022). Differences in the composition and predicted functions of the intestinal microbiome of obese and normal weight adult dogs. *PeerJ*, 16(10), 12695. <https://doi.org/10.7717/peerj.12695>.

Villalva, A. (2014). *Generación de una cepa de Bacillus subtilis como modelo de expresión de ARN de proteínas*. Baja California: CICESE.

# ANEXOS

## ANEXO 1.

Mapa de ubicación de la investigación



## ANEXO 2

Id	Momento	Phylum	Total_hits	Percent_hits
Cachorro 1	Antes	Acidobacteria	15	0.08
Cachorro 1	Antes	Actinobacteria	738	3.71
Cachorro 1	Antes	Bacteroidetes	1939	9.75
Cachorro 1	Antes	Candidatus_Saccharibacteria	1	0.01
Cachorro 1	Antes	Chlamydiae	1	0.01
Cachorro 1	Antes	Chloroflexi	2	0.01
Cachorro 1	Antes	Firmicutes	7055	35.47
Cachorro 1	Antes	Fusobacteria	27	0.14
Cachorro 1	Antes	No clasificado	85	0.43
Cachorro 1	Antes	Planctomycetes	6	0.03
Cachorro 1	Antes	Proteobacteria	10018	50.36
Cachorro 1	Antes	Spirochaetes	1	0.01
Cachorro 1	Antes	Verrucomicrobia	2	0.01
Cachorro 1	Antes	candidate_division_WPSUnclassified2	1	0.01
Cachorro 1	Después	Acidobacteria	9	0.04
Cachorro 1	Después	Actinobacteria	619	2.56
Cachorro 1	Después	Bacteroidetes	8400	34.68
Cachorro 1	Después	Chrysiogenetes	1	0
Cachorro 1	Después	Cyanobacteria/Chloroplast	1	0
Cachorro 1	Después	DeinococcusUnclassifiedThermus	2	0.01
Cachorro 1	Después	Fibrobacteres	2	0.01
Cachorro 1	Después	Firmicutes	11380	46.98
Cachorro 1	Después	Fusobacteria	1505	6.21
Cachorro 1	Después	Latescibacteria	1	0
Cachorro 1	Después	No clasificado	84	0.35
Cachorro 1	Después	Planctomycetes	1	0
Cachorro 1	Después	Proteobacteria	2211	9.13
Cachorro 1	Después	Tenericutes	2	0.01
Cachorro 1	Después	Thermotogae	1	0
Cachorro 1	Después	Verrucomicrobia	2	0.01
Cachorro 1	Después	candidate_division_WPSUnclassified1	2	0.01
Cachorro 2	Antes	Acidobacteria	8	0.03
Cachorro 2	Antes	Actinobacteria	270	1.11
Cachorro 2	Antes	Bacteroidetes	10420	42.91
Cachorro 2	Antes	Candidatus_Saccharibacteria	1	0
Cachorro 2	Antes	Chloroflexi	3	0.01
Cachorro 2	Antes	Fibrobacteres	3	0.01
Cachorro 2	Antes	Firmicutes	9822	40.45

Cachorro 2	Antes	Fusobacteria	276	1.14
Cachorro 2	Antes	Gemmatimonadetes	1	0
Cachorro 2	Antes	No clasificado	76	0.31
Cachorro 2	Antes	Proteobacteria	3400	14
Cachorro 2	Antes	Spirochaetes	2	0.01
Cachorro 2	Antes	Synergistetes	1	0
Cachorro 2	Antes	Thermotogae	1	0
Cachorro 2	Después	Acidobacteria	23	0.04
Cachorro 2	Después	Actinobacteria	652	1.15
Cachorro 2	Después	Aminicenantes	1	0
Cachorro 2	Después	Armatimonadetes	2	0
Cachorro 2	Después	Bacteroidetes	15067	26.55
Cachorro 2	Después	Chloroflexi	1	0
Cachorro 2	Después	Cyanobacteria/Chloroplast	5	0.01
Cachorro 2	Después	Deferribacteres	2	0
Cachorro 2	Después	Fibrobacteres	3	0.01
Cachorro 2	Después	Firmicutes	15659	27.59
Cachorro 2	Después	Fusobacteria	176	0.31
Cachorro 2	Después	Nitrospirae	1	0
Cachorro 2	Después	No clasificado	314	0.55
Cachorro 2	Después	Planctomycetes	5	0.01
Cachorro 2	Después	Proteobacteria	24833	43.75
Cachorro 2	Después	Spirochaetes	2	0
Cachorro 2	Después	Tenericutes	5	0.01
Cachorro 2	Después	Verrucomicrobia	4	0.01
Cachorro 2	Después	candidate_division_WPSUnclassified1	1	0
Cachorro 3	Antes	Acidobacteria	8	0.03
Cachorro 3	Antes	Actinobacteria	270	1.11
Cachorro 3	Antes	Bacteroidetes	10420	42.91
Cachorro 3	Antes	Candidatus_Saccharibacteria	1	0
Cachorro 3	Antes	Chloroflexi	3	0.01
Cachorro 3	Antes	Fibrobacteres	3	0.01
Cachorro 3	Antes	Firmicutes	9822	40.45
Cachorro 3	Antes	Fusobacteria	276	1.14
Cachorro 3	Antes	Gemmatimonadetes	1	0

Cachorro 3	Antes	No clasificado	76	0.31
Cachorro 3	Antes	Proteobacteria	3400	14
Cachorro 3	Antes	Spirochaetes	2	0.01
Cachorro 3	Antes	Synergistetes	1	0
Cachorro 3	Antes	Thermotogae	1	0
Cachorro 3	Después	Acidobacteria	23	0.04
Cachorro 3	Después	Actinobacteria	652	1.15
Cachorro 3	Después	Aminicenantes	1	0
Cachorro 3	Después	Armatimonadetes	2	0
Cachorro 3	Después	Bacteroidetes	15067	26.55
Cachorro 3	Después	Chloroflexi	1	0
Cachorro 3	Después	Cyanobacteria/Chloroplast	5	0.01
Cachorro 3	Después	Deferribacteres	2	0
Cachorro 3	Después	Fibrobacteres	3	0.01
Cachorro 3	Después	Firmicutes	15659	27.59
Cachorro 3	Después	Fusobacteria	176	0.31
Cachorro 3	Después	Nitrospirae	1	0
Cachorro 3	Después	No clasificado	314	0.55
Cachorro 3	Después	Planctomycetes	5	0.01
Cachorro 3	Después	Proteobacteria	24833	43.75
Cachorro 3	Después	Spirochaetes	2	0
Cachorro 3	Después	Tenericutes	5	0.01
Cachorro 3	Después	Verrucomicrobia	4	0.01
Cachorro 3	Después	candidate_division_WPSUnclassified1	1	0
Cachorro 4	Antes	Acidobacteria	13	0.11
Cachorro 4	Antes	Actinobacteria	113	0.94
Cachorro 4	Antes	Armatimonadetes	2	0.02
Cachorro 4	Antes	Bacteroidetes	5197	43.4
Cachorro 4	Antes	Candidatus_Saccharibacteria	1	0.01
Cachorro 4	Antes	Chloroflexi	1	0.01
Cachorro 4	Antes	Crenarchaeota	1	0.01
Cachorro 4	Antes	Cyanobacteria/Chloroplast	1	0.01
Cachorro 4	Antes	Deferribacteres	3	0.03
Cachorro 4	Antes	Firmicutes	6153	51.39
Cachorro 4	Antes	Fusobacteria	148	1.24
Cachorro 4	Antes	Ignavibacteriae	1	0.01
Cachorro 4	Antes	No clasificado	85	0.71
Cachorro 4	Antes	Parcubacteria	2	0.02
Cachorro 4	Antes	Planctomycetes	4	0.03

Cachorro 4	Antes	Proteobacteria	243	2.03
Cachorro 4	Antes	Thermodesulfobacteria	1	0.01
Cachorro 4	Antes	Thermotogae	1	0.01
Cachorro 4	Antes	Verrucomicrobia	3	0.03
Cachorro 4	Antes	candidate_division_WPSUnclassified1	1	0.01
Cachorro 4	Después	Acidobacteria	21	0.05
Cachorro 4	Después	Actinobacteria	436	0.98
Cachorro 4	Después	Bacteroidetes	10621	23.8
Cachorro 4	Después	Chlamydiae	1	0
Cachorro 4	Después	Chloroflexi	1	0
Cachorro 4	Después	Cyanobacteria/Chloroplast	4	0.01
Cachorro 4	Después	Deferribacteres	3	0.01
Cachorro 4	Después	Fibrobacteres	1	0
Cachorro 4	Después	Firmicutes	10108	22.65
Cachorro 4	Después	Fusobacteria	44	0.1
Cachorro 4	Después	Gemmatimonadetes	1	0
Cachorro 4	Después	Latescibacteria	2	0
Cachorro 4	Después	No clasificado	349	0.78
Cachorro 4	Después	Planctomycetes	3	0.01
Cachorro 4	Después	Proteobacteria	23027	51.6
Cachorro 4	Después	Spirochaetes	1	0
Cachorro 4	Después	Synergistetes	1	0
Cachorro 4	Después	Verrucomicrobia	3	0.01
Cachorro 4	Después	candidate_division_WPSUnclassified1	1	0
Cachorro 5	Antes	Acidobacteria	39	0.07
Cachorro 5	Antes	Actinobacteria	1709	2.99
Cachorro 5	Antes	Aquificae	1	0
Cachorro 5	Antes	Armatimonadetes	1	0
Cachorro 5	Antes	Atribacteria	2	0
Cachorro 5	Antes	Bacteroidetes	10657	18.63
Cachorro 5	Antes	Candidatus_Saccharibacteria	1	0
Cachorro 5	Antes	Chlamydiae	2	0
Cachorro 5	Antes	Chlorobi	1	0
Cachorro 5	Antes	Chloroflexi	4	0.01
Cachorro 5	Antes	Cyanobacteria/Chloroplast	3	0.01
Cachorro 5	Antes	DeinococcusUnclassifiedThermus	1	0
Cachorro 5	Antes	Elusimicrobia	1	0
Cachorro 5	Antes	Firmicutes	41372	72.31
Cachorro 5	Antes	Fusobacteria	273	0.48

Cachorro 5	Antes	Gemmatimonadetes	3	0.01
Cachorro 5	Antes	Latescibacteria	3	0.01
Cachorro 5	Antes	Microgenomates	1	0
Cachorro 5	Antes	Nitrospirae	2	0
Cachorro 5	Antes	No clasificado	104	0.18
Cachorro 5	Antes	Parcubacteria	3	0.01
Cachorro 5	Antes	Planctomycetes	30	0.05
Cachorro 5	Antes	Poribacteria	1	0
Cachorro 5	Antes	Proteobacteria	2980	5.21
Cachorro 5	Antes	Synergistetes	3	0.01
Cachorro 5	Antes	Tenericutes	9	0.02
Cachorro 5	Antes	Verrucomicrobia	7	0.01
Cachorro 5	Después	Acidobacteria	22	0.07
Cachorro 5	Después	Actinobacteria	421	1.25
Cachorro 5	Después	Armatimonadetes	1	0
Cachorro 5	Después	Bacteroidetes	7806	23.09
Cachorro 5	Después	Chlamydiae	1	0
Cachorro 5	Después	Chloroflexi	2	0.01
Cachorro 5	Después	Cyanobacteria/Chloroplast	2	0.01
Cachorro 5	Después	Firmicutes	14448	42.73
Cachorro 5	Después	Fusobacteria	6174	18.26
Cachorro 5	Después	Gemmatimonadetes	3	0.01
Cachorro 5	Después	Latescibacteria	1	0
Cachorro 5	Después	No clasificado	166	0.49
Cachorro 5	Después	Planctomycetes	4	0.01
Cachorro 5	Después	Proteobacteria	4752	14.05
Cachorro 5	Después	Synergistetes	1	0
Cachorro 5	Después	Verrucomicrobia	6	0.02
Cachorro 5	Después	candidate_division_WPSUnclassified1	1	0
Cachorro 6	Antes	Acidobacteria	70	0.03
Cachorro 6	Antes	Actinobacteria	3730	1.79
Cachorro 6	Antes	Aquificae	1	0
Cachorro 6	Antes	Armatimonadetes	5	0
Cachorro 6	Antes	Atribacteria	5	0
Cachorro 6	Antes	Bacteroidetes	84518	40.48
Cachorro 6	Antes	Candidatus_Saccharibacteria	1	0
Cachorro 6	Antes	Chloroflexi	8	0
Cachorro 6	Antes	Cyanobacteria/Chloroplast	14	0.01
Cachorro 6	Antes	Deferribacteres	1	0

Cachorro 6	Antes	DeinococcusUnclassifiedThermus	1	0
Cachorro 6	Antes	Fibrobacteres	62	0.03
Cachorro 6	Antes	Firmicutes	79321	37.99
Cachorro 6	Antes	Fusobacteria	25800	12.36
Cachorro 6	Antes	Gemmatimonadetes	2	0
Cachorro 6	Antes	Latescibacteria	1	0
Cachorro 6	Antes	Nitrospirae	1	0
Cachorro 6	Antes	No clasificado	820	0.39
Cachorro 6	Antes	Parcubacteria	1	0
Cachorro 6	Antes	Planctomycetes	2	0
Cachorro 6	Antes	Proteobacteria	14336	6.87
Cachorro 6	Antes	SR1	1	0
Cachorro 6	Antes	Spirochaetes	61	0.03
Cachorro 6	Antes	Synergistetes	8	0
Cachorro 6	Antes	Tenericutes	16	0.01
Cachorro 6	Antes	Thermotogae	6	0
Cachorro 6	Antes	Verrucomicrobia	4	0
Cachorro 6	Después	Acidobacteria	70	0.04
Cachorro 6	Después	Actinobacteria	3166	1.61
Cachorro 6	Después	Aquificae	9	0
Cachorro 6	Después	Armatimonadetes	10	0.01
Cachorro 6	Después	Atribacteria	1	0
Cachorro 6	Después	Bacteroidetes	56911	28.95
Cachorro 6	Después	Caldiserica	2	0
Cachorro 6	Después	Candidatus_Saccharibacteria	1	0
Cachorro 6	Después	Chlamydiae	3	0
Cachorro 6	Después	Chloroflexi	5	0
Cachorro 6	Después	Cyanobacteria/Chloroplast	23	0.01
Cachorro 6	Después	Deferribacteres	5	0
Cachorro 6	Después	DeinococcusUnclassifiedThermus	3	0
Cachorro 6	Después	Fibrobacteres	31	0.02
Cachorro 6	Después	Firmicutes	100751	51.26
Cachorro 6	Después	Fusobacteria	18402	9.36
Cachorro 6	Después	Gemmatimonadetes	4	0
Cachorro 6	Después	Hydrogenedentes	1	0
Cachorro 6	Después	Latescibacteria	2	0
Cachorro 6	Después	Microgenomates	1	0
Cachorro 6	Después	Nitrospirae	2	0
Cachorro 6	Después	No clasificado	708	0.36

Cachorro 6	Después	Parcubacteria	1	0
Cachorro 6	Después	Planctomycetes	5	0
Cachorro 6	Después	Poribacteria	2	0
Cachorro 6	Después	Proteobacteria	16399	8.34
Cachorro 6	Después	Spirochaetes	19	0.01
Cachorro 6	Después	Synergistetes	5	0
Cachorro 6	Después	Tenericutes	6	0
Cachorro 6	Después	Thermotogae	4	0
Cachorro 6	Después	Verrucomicrobia	8	0

ID	Día	Grupo	Urea	Creatinina	Shannon	Especies	Pregunta 1	Pregunta 2	Pregunta 3	Pregunta 4
1	2	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
1	4	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
1	0	Control	25.6	0.6	2.08	187	Marrón	Firme	No	Tres o más
1	6	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
1	8	Control	24.4	0.2	2.68	138	Marrón	Firme	No	Tres o más
1	10	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
1	12	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
1	14	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
1	16	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	2	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	4	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	0	Control			1.95	665	Marrón	Firme	No	Tres o más
2	6	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	8	Control			2.54	958	Marrón	Firme	No	Tres o más
2	10	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	12	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	14	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
2	16	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	2	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	4	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	0	Control	41.2	0.6	2.54	171	Marrón	Firme	No	Tres o más
3	6	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	8	Control	41.8	0.8	2.35	273	Marrón	Firme	No	Tres o más
3	10	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	12	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	14	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
3	16	Control					Marrón	Firme	No	Tres o más
4	2	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
4	4	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
4	6	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
4	0	Enterogermina			2.95	536	Marrón	Firme	No	Tres o más
4	8	Enterogermina			3.09	662	Marrón	Firme	No	Tres o más
4	10	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
4	12	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más

4	14	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
4	16	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	2	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	4	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	0	Enterogermina	43.1	0.6	2.85	190	Negro o granate	Firme	No	Tres o más
5	6	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	8	Enterogermina	42.1	0.4	2.36	205	Marrón	Firme	No	Tres o más
5	10	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	12	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	14	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
5	16	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	2	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	4	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	0	Enterogermina	40.7	0.9	2.75	300	Marrón	Líquida	No	Tres o más
6	6	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	8	Enterogermina	24.2	0.4	2.8	184	Marrón	Firme	No	Tres o más
6	10	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	12	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	14	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más
6	16	Enterogermina					Marrón	Firme	No	Tres o más

# Cachorro 1

16S Metagenomics Report



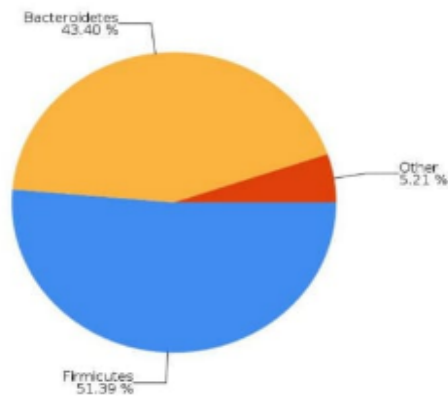
## Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	6,153	51.39 %
Bacteroidetes	5,197	43.40 %
Proteobacteria	243	2.03 %
Fusobacteria	148	1.24 %
Actinobacteria	113	0.94 %
Unclassified at Phylum level	85	0.71 %
Acidobacteria	13	0.11 %
Planctomycetes	4	0.03 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 20. This table shows the top 8 of 20 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

## Top Phylum Classification Results



16S Metagenomics Report



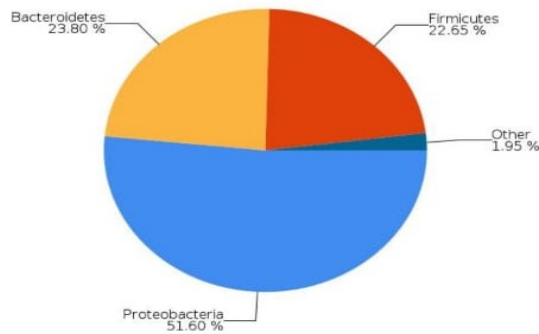
## Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Proteobacteria	23,027	51.60 %
Bacteroidetes	10,621	23.80 %
Firmicutes	10,108	22.65 %
Actinobacteria	436	0.98 %
Unclassified at Phylum level	349	0.78 %
Fusobacteria	44	0.10 %
Acidobacteria	21	0.05 %
Cyanobacteria/Chloroplast	4	0.01 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 19. This table shows the top 8 of 19 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

## Top Phylum Classification Results



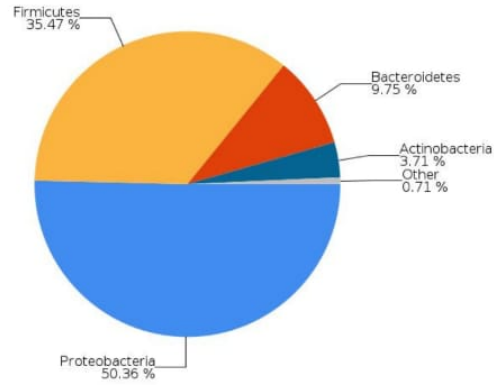
**Top Phylum Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Proteobacteria	10,018	50.36 %
Firmicutes	7,055	35.47 %
Bacteroidetes	1,939	9.75 %
Actinobacteria	738	3.71 %
Unclassified at Phylum level	85	0.43 %
Fusobacteria	27	0.14 %
Acidobacteria	15	0.08 %
Planctomycetes	6	0.03 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 14. This table shows the top 8 of 14 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Phylum Classification Results**



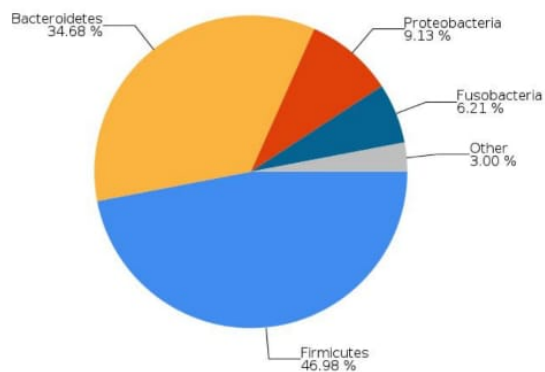
**Top Phylum Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	11,380	46.98 %
Bacteroidetes	8,400	34.68 %
Proteobacteria	2,211	9.13 %
Fusobacteria	1,505	6.21 %
Actinobacteria	619	2.56 %
Unclassified at Phylum level	84	0.35 %
Acidobacteria	9	0.04 %
DeinococcusUnclassifiedThermus	2	0.01 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 17. This table shows the top 8 of 17 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Phylum Classification Results**



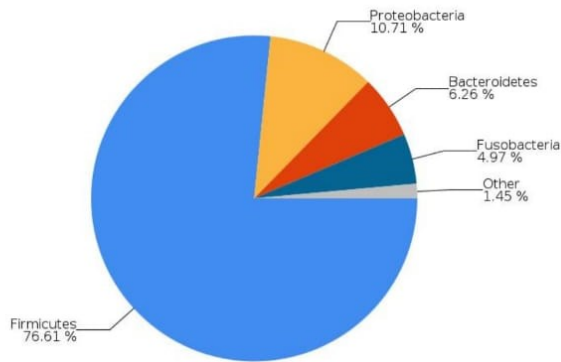
**Top Phylum Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	184,678	76.61 %
Proteobacteria	25,817	10.71 %
Bacteroidetes	15,093	6.26 %
Fusobacteria	11,985	4.97 %
Actinobacteria	2,380	0.99 %
Unclassified at Phylum level	882	0.37 %
Acidobacteria	98	0.04 %
Tenericutes	23	0.01 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 30. This table shows the top 8 of 30 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Phylum Classification Results**



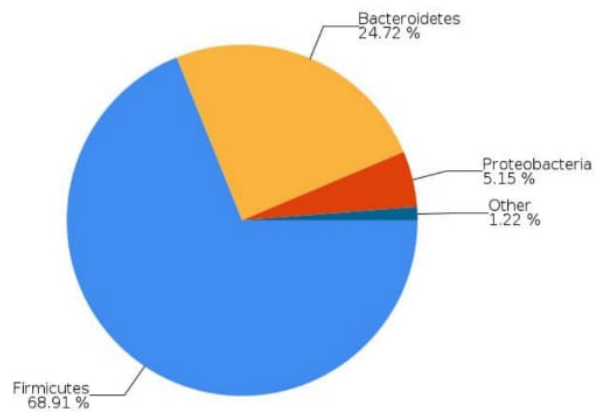
**Top Phylum Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	265,264	68.91 %
Bacteroidetes	95,173	24.72 %
Proteobacteria	19,812	5.15 %
Actinobacteria	2,803	0.73 %
Unclassified at Phylum level	965	0.25 %
Fusobacteria	420	0.11 %
Acidobacteria	175	0.05 %
Cyanobacteria/Chloroplast	55	0.01 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 36. This table shows the top 8 of 36 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Phylum Classification Results**



# Cachorro 4

16S Metagenomics Report



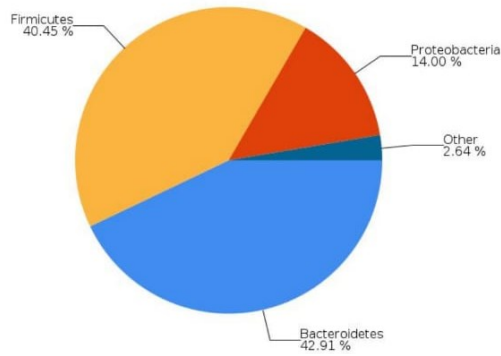
## Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Bacteroidetes	10,420	42.91 %
Firmicutes	9,822	40.45 %
Proteobacteria	3,400	14.00 %
Fusobacteria	276	1.14 %
Actinobacteria	270	1.11 %
Unclassified at Phylum level	76	0.31 %
Acidobacteria	8	0.03 %
Fibrobacteres	3	0.01 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 14. This table shows the top 8 of 14 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance

## Top Phylum Classification Results



16S Metagenomics Report



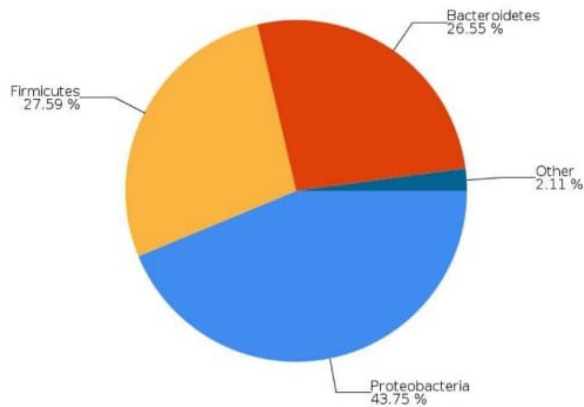
## Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Proteobacteria	24,833	43.75 %
Firmicutes	15,659	27.59 %
Bacteroidetes	15,067	26.55 %
Actinobacteria	652	1.15 %
Unclassified at Phylum level	314	0.55 %
Fusobacteria	176	0.31 %
Acidobacteria	23	0.04 %
Cyanobacteria/Chloroplast	5	0.01 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 19. This table shows the top 8 of 19 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

## Top Phylum Classification Results



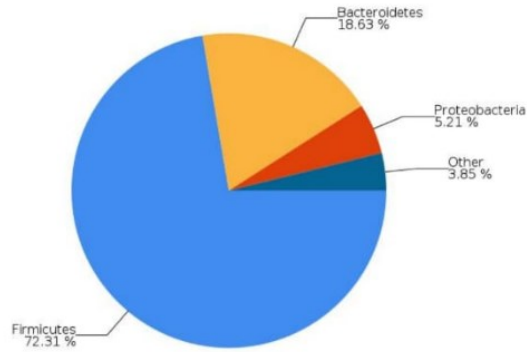
**Top Phylum Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	41,372	72.31 %
Bacteroidetes	10,657	18.63 %
Proteobacteria	2,980	5.21 %
Actinobacteria	1,709	2.99 %
Fusobacteria	273	0.48 %
Unclassified at Phylum level	104	0.18 %
Acidobacteria	39	0.07 %
Planctomycetes	30	0.05 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 27. This table shows the top 8 of 27 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Phylum Classification Results**



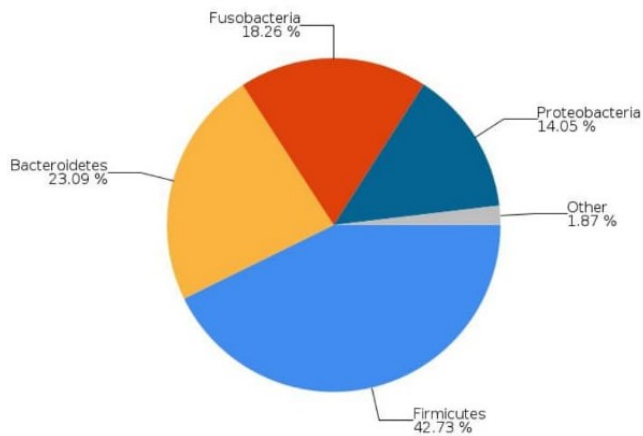
**Top Phylum Classification Results**

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	14,448	42.73 %
Bacteroidetes	7,806	23.09 %
Fusobacteria	6,174	18.26 %
Proteobacteria	4,752	14.05 %
Actinobacteria	421	1.25 %
Unclassified at Phylum level	166	0.49 %
Acidobacteria	22	0.07 %
Verrucomicrobia	6	0.02 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 17. This table shows the top 8 of 17 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

**Top Phylum Classification Results**



# Cachorro 6

16S Metagenomics Report



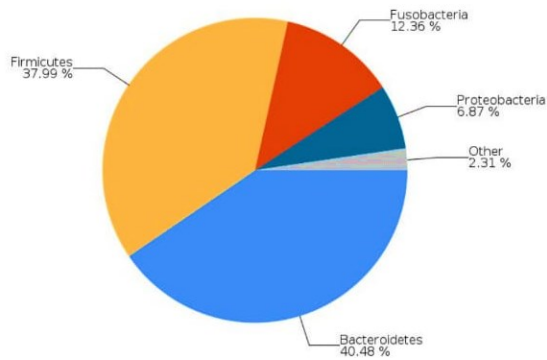
## Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Bacteroidetes	84,518	40.48 %
Firmicutes	79,321	37.99 %
Fusobacteria	25,800	12.36 %
Proteobacteria	14,336	6.87 %
Actinobacteria	3,730	1.79 %
Unclassified at Phylum level	820	0.39 %
Acidobacteria	70	0.03 %
Fibrobacteres	62	0.03 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 27. This table shows the top 8 of 27 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

## Top Phylum Classification Results



16S Metagenomics Report



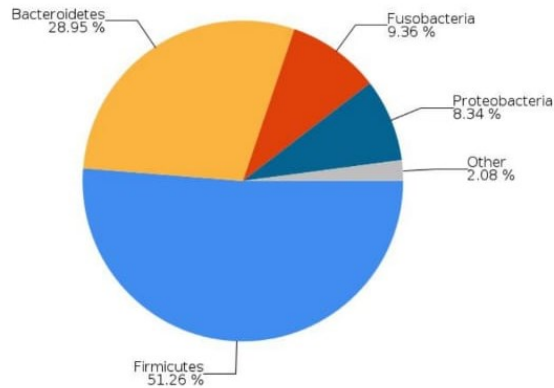
## Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Firmicutes	100,751	51.26 %
Bacteroidetes	56,911	28.95 %
Fusobacteria	18,402	9.36 %
Proteobacteria	16,399	8.34 %
Actinobacteria	3,166	1.61 %
Unclassified at Phylum level	708	0.36 %
Acidobacteria	70	0.04 %
Fibrobacteres	31	0.02 %

Total Phylum-level Taxonomic Categories Identified: 31. This table shows the top 8 of 31 classifications.

Note: The "Other" category in this pie chart is the sum of all classifications with less than 3.50 % abundance.

## Top Phylum Classification Results



### ANEXO 3.

Fotografías del trabajo de campo.



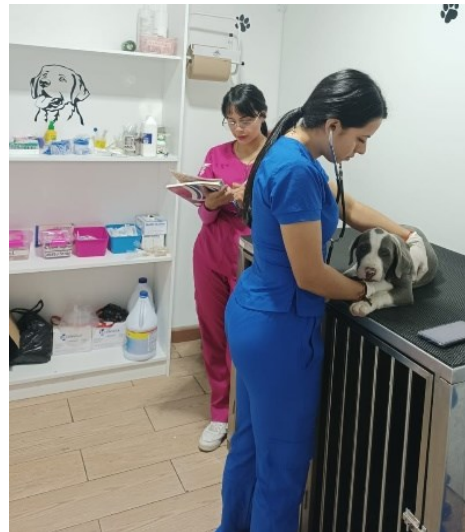
Paciente del primer grupo.



Paciente del primer grupo.



Examen físico general (exploración de mucosas oculares, oral, tiempo de llenado capilar) del paciente A del primer grupo.



Examen físico general (auscultación cardíaca y respiratoria) del paciente A del primer grupo.



Examen físico general (palpación) del paciente B del primer grupo.



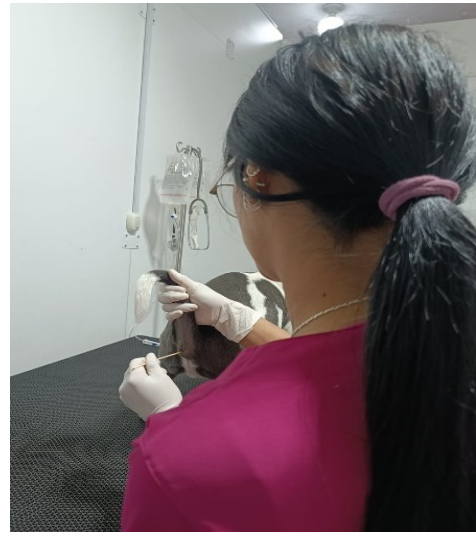
Extracción de sangre para evaluar urea y creatinina del paciente A del primer grupo.



Extracción de sangre para evaluar urea y creatinina del paciente B del primer grupo.



Extracción de sangre para evaluar urea y creatinina del paciente B del primer grupo.



Hisopado rectal del paciente B del primer grupo.



Paciente del segundo grupo.



Paciente del segundo grupo.



Examen físico general (exploración de mucosas oculares, oral, palpación) del paciente A del primer grupo.



Examen físico general (tiempo de llenado capilar y toma de temperatura) del paciente A del primer grupo.



Extracción de sangre para evaluar urea y creatinina del paciente B del segundo grupo.



Hisopado rectal del paciente A del segundo grupo.



Visita de campo por parte del tribunal.



Visita de campo por parte del tribunal.



Paciente A del tercer grupo.



Paciente B del tercer grupo.



Examen físico general (exploración de mucosas oculares, oral, tiempo de llenado capilar) del paciente B del tercer grupo.



Examen físico general (auscultación cardíaca y respiratoria) del paciente B del tercer grupo.



Extracción de sangre para evaluar urea y creatinina del paciente A del tercer grupo.



Extracción de sangre para evaluar urea y creatinina del paciente B del tercer grupo.



Hisopado rectal del paciente A del tercer grupo.



Hisopado rectal del paciente B del tercer grupo.

## GLOSARIO DE TÉRMINOS TÉCNICOS

***Bacillus clausi***: Es un tipo de bacteria benéfica (probiótico) que ayuda a recuperar el equilibrio de tu flora intestinal.

**Disbiosis Intestinal**: Alteración de la flora intestinal a nivel de: Disminución de la riqueza o diversidad de microorganismos beneficiosos. Alteración de las funciones de la flora intestinal.

**Firmicutes**: Son un filo de bacterias, la mayoría de las cuales tienen una estructura celular Gram-positiva.

**Fusobacteria**: Las fusobacterias son un filo de bacterias anaerobias obligadas Gram negativas con lipopolisacáridos. Son bacilos que se encuentran como comensales o patógenos.

**Galactooligosacaridos**: Grupo de carbohidratos compuestos por oligogalactosa en conjunto con unidades de lactosa y glucosa.

**Hidrolisis**: Es una reacción química en la que la adición de agua provoca la ruptura de los enlaces moleculares.

**Homeostasis**: Estado de equilibrio entre todos los sistemas del cuerpo necesarios para sobrevivir y funcionar de forma adecuada.

**Inulina**: Es un carbohidrato no digerible que está presente en muchos vegetales, frutas y cereales.

**Lactulosa**: La lactulosa es un azúcar sintético usado para tratar el estreñimiento (constipación).

**Metaboloma**: Conjunto dinámico de metabolitos que representan la respuesta metabólica, en condiciones normales, de una célula o un organismo.

**Microbiota**: La microbiota es el conjunto de bacterias que colonizan la piel, el aparato digestivo, incluida la boca, y el aparato genital.

**Pirosecuenciación:** Es una técnica que se utiliza para determinar el porcentaje de metilación de DNA de una muestra. La metilación de DNA consiste en la adición de grupos metilo en residuos de citosina y es un mecanismo epigenético que regula la expresión génica.

**Proteobacteria:** Son grupo diverso de bacterias pertenecientes al filo Proteobacteria, como el propio nombre indica. Se caracterizan por su diversidad genética y metabólica

**Sistema Inmunitario:** Red compleja de células, tejidos, órganos y las sustancias que estos producen, y que ayudan al cuerpo a combatir infecciones y otras enfermedades.