



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**CUAUTITLÁN**

**“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LAS LESIONES  
PULMONARES SOSPECHOSAS POR *Mycoplasma  
hyopneumoniae*, MEDIANTE LA TÉCNICA  
DE PLANIMETRÍA Y EL ANÁLISIS  
DIGITAL DE IMÁGENES”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

**P R E S E N T A:**

MARÍA DEL CONSUELO ÁLVAREZ RODRÍGUEZ

ASESOR: DR. TONATIUH ALEJANDRO CRUZ SÁNCHEZ  
COASESORES: M.V.Z. SUSANA GARCÍA VÁZQUEZ  
M.V.Z. MARCO ANTONIO MENDOZA SAAVEDRA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVIENIMA DE  
MEXICO

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Evaluación comparativa de las lesiones pulmonares sospechosas por Mycoplasma hyopneumoniae, mediante la técnica de planimetría y el análisis digital de imágenes"

que presenta la pasante: María del Consuelo Alvarez Rodríguez  
con número de cuenta: 9460627-4 para obtener el título de :  
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Octubre de 2003

PRESIDENTE: Dr. Tonatihu A. Cruz Sánchez

VOCAL Dr. Jorge Luis Tórtora Pérez

SECRETARIO M.C. Juan Ocampo López

PRIMER SUPLENTE M.V.Z. Eugo Ramírez Alvarez

SEGUNDO SUPLENTE M.V.Z. Ignacio Benítez Pérez

**Este trabajo forma parte del programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica ( PAPIIT IN -209701)**

**"ANÁLISIS DE LAS POBLACIONES CELULARES DEL SISTEMA INMUNE DEL TRACTO RESPIRATORIO PORCINO ANTE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE *Mycoplasma hyopneumoniae*"**

## **DEDICATORIAS**

*A ellos quienes me han brindado el mejor regalo que se puede recibir, la oportunidad de ver y conocer la vida, de recibir el amor así como el estar a mi lado en los momentos de fracaso y de triunfos, a ellos que me han enseñado a no darme por vencida y seguir adelante, saber que siempre hay una ventana abierta para seguir luchando por lo que se quiere...*

**GRACIAS POR SER MIS PADRES**

**Mª del Consuelo Rodríguez Mtz.  
José Antonio Álvarez López.**

## **AGRADECIMIENTOS**

***Agradezco a todos mis amigos que de una u otra forma intervinieron a lo largo de la carrera y estuvieron a la par en las buenas y en las malas, así como en los pequeños triunfos y fracasos, que me enseñaron que no estoy sola en el camino y saber que puedo contar con ellos.***

***En especial a ti Ignacio Torres por compartir a mi lado tantas pérdidas y ganancias así como el gran apoyo, comprensión y cariño que me has brindado durante esta vida pequeñita que es una gran carrera de sacrificios, desvelos, recompensas así como el animarme a seguir adelante.***

***A Rubén Luna, José Luis García, Elpidia González, Male, Edna Legaspi, Dr Ochoa, Dr Antonio Licea, Fernando Carrillo, Rebeca Jiménez, Sandra Martínez, Edgar Rojas, Víctor Cruz, Cesar, Héctor Ibáñez***



## **AGRADECIMIENTOS ESPECIALES**

**Al Dr. Velazco por su gran aportación de material biológico así como a la granja porcina "CALIACAC"**

**Al M.V.Z Ignacio Benítez y al Sr. Fernando Laguna por el apoyo a este trabajo de material biológico de las granjas porcinas "El POLVORÍN" Y "TIERRA BLANCA"**

**Al Dr. Marco Antonio Vega por el apoyo de computo, en la realización de la Técnica de digital de Análisis realizada en el (CINVESTAV) I.P.N.**

**Al M.V.Z. Marco Antonio Mendoza Saavedra por la paciencia, apoyo, y comprensión durante todo el proceso de este trabajo**

**Al Ing. Juan R. Garibay Bermúdez, por su apoyo en el análisis estadístico.**

**Al M.V.Z. Blanca Cardenti por su apoyo a este trabajo.**

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>a</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURA.....</b>	<b>b</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>c</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Historia.....	1
1.2. Antecedentes.....	3
1.3. Características generalidades de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	4
1.4. Transmisión.....	8
1.5. Patogenia.....	10
1.6. Signología.....	11
1.7. Lesiones macroscópicas.....	12
1.8. Lesiones microscópicas.....	13
1.9. Diagnostico clínico.....	14
1.10. Diagnostico de laboratorio.....	15
1.11. Técnicas de evaluación de las lesiones pulmonares.....	17
2. Justificación.....	21
3. Objetivo general.....	22
4. Metodología.....	23
5. Resultados.....	30
6. Discusión.....	34
7. Conclusiones.....	37
8. Literatura citada.....	38



## ÍNDICE DE FIGURAS

1.	(Fig.1) Tamaño de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	6
2.	(Fig.2) Morfología de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	6
3.	(Fig.3) Morfología colonial de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> "Huevo estrellado".....	7
4.	(Fig.4) Morfología colonial de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> "Gotas de rocío".....	7
5.	(Fig.5) Sección de una colonia de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	7
6.	(Fig.6) Lesiones macroscópicas en pulmón de cerdo por <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	13
7.	(Fig.7) Lesiones histológicas en bronquios y bronquiólos por <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .....	14
8.	(Fig.8) Sistema de marcación (diagrama).....	17
9.	(Fig.9) Monitoreo de pulmones de cerdo en la línea de matanza.....	18
10.	(Fig.10) Aparato HUSKY FS2 para el monitoreo de lesiones en pulmones.....	18
11.	(Diag. A) Diagrama de procesamiento de los órganos.....	24
12.	(Diag. B) Diagrama experimental.....	25
13.	(Diag. C) Diagrama de la plantilla .....	26
14.	(Diag. D) Marcaron las áreas de lesión en la plantilla teniendo al órgano lesionado a un lado.....	27
15.	(Fig.11) Marcación del contorno del pulmón por ambas vistas utilizando el análisis digital de márgenes.....	28
16.	(Fig.12) Marcación del contorno de las zonas que presentan lesiones por <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> , utilizando el análisis de imágenes.....	28

## ÍNDICE DE CUADROS

1. Clasificación de agentes primarios y secundarios en la Neumonía Enzoótica.....	9
2. Resultados de las lesiones por mycoplasma hyopneumoniae mediante la técnica de la planimetría.....	30
3. Resultados de la lesiones macroscópicas mediante la técnica de análisis digital de imágenes.....	31
4. Comparación de los valores en porcentajes de las dos técnicas de evaluación (Planimetría y Análisis digital de imágenes).....	32
5. Grafica de la comparación de ambas técnicas de acuerdo a los porcentajes obtenidos de las lesiones macroscópicas en pulmones de porcinos.....	33

## **RESUMEN**

En este trabajo se realizó la evaluación comparativa de la lesiones pulmonares sospechosas de *Mycoplasma hyopneumoniae*, mediante la técnica de planimetría y el análisis digital de imágenes. Se recolectaron muestras de 100 pulmones porcinos de animales de entre 3 y 12 semanas de edad, provenientes del Estado de México de los cuales se seleccionaron 29 órganos que presentaban lesiones sospechosas por *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mh), en los demás pulmones se observaron lesiones aparentes por *Actinobacillus pleuroneumoniae* y *Pasteurella sp*, los cuales no se emplearon para este trabajo; a los pulmones seleccionados se les realizó la evaluación del porcentaje de lesiones sospechosas de micoplasma.

Primero se llevó a cabo la evaluación por la técnica de planimetría, la cual se realizó por medio de diagramas de los pulmones (plantillas), que se marcaron en ellas la localización de las lesiones sospechosas por Mh para posteriormente obtener el porcentaje de lesión de cada pulmón, tanto ventral como dorsalmente, después de obtener los valores por esta técnica, se realizó la evaluación por medio del análisis digital de imágenes. Inicialmente se procedió a fotografiar cada pulmón por su lado tanto dorsal como ventral, estas imágenes se emplearon para llevar a cabo la esta evaluación por medio de un equipo de computo y el programa de tratamiento y análisis digital de imágenes QWIN (Leica)<sup>TM</sup>, que se realizó en el Centro de Investigaciones Avanzadas del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), en donde se delimitó el área total de los pulmones y después se marcaron las zonas dañadas tanto ventral como dorsalmente. A partir de valores obtenidos en el analizador digital de imágenes se obtuvo la proporción de las lesiones medidas. Se llevó a cabo un análisis estadístico por medio de la prueba de "t" de Student donde se obtuvo un valor estadísticamente significativo de ( $p \leq 0.001$ ), se realizó la comparación de ambas técnicas. De acuerdo a los resultados finales se observó que la técnica mas adecuada para obtener una mejor evaluación del porcentaje de la lesión pulmonar en enfermedades respiratorias, es la técnica de análisis digital de imágenes en donde se obtuvo el 35.53% de lesiones en comparación con la técnica de planimetría en la que se obtuvo un 45.81%.



## 1 .INTRODUCCIÓN

La Neumonía Enzoótica (NE) es la enfermedad pulmonar contagiosa más difundida de los cerdos, causada por *Mycoplasma hyopneumoniae* (*Mycoplasma suisneumoniae*), que se caracteriza clínicamente por una alta morbilidad y baja mortalidad, que se manifiesta como un padecimiento crónico con una producción de tos seca persistente, por lo cual se presenta una reducción en el desempeño productivo de los animales y en el crecimiento <sup>(1,11,14,18)</sup>.

<http://www.ciencias veterinarias.com>

### 1.1 HISTORIA

La enfermedad se descubrió en la década de los años treinta por Waldmann y Kobe <sup>(12)</sup>.

En 1948 Pullar convenientemente la definió y diferenció de la Influenza Porcina <sup>(12)</sup>.

Esta enfermedad también es conocida como; Gripe de los lechones (Ferkelgrippe) Neumonía endémica, Micoplasmosis porcina, Neumonía micoplasmica, Neumonía Bacteriana, Neumonía porcina, Neumonía Infecciosa, Tos del cemento (zementhusten) y "Neumonía viral"; sin embargo, presumían incorrectamente una etiología viral, por lo que el término Neumonía Enzoótica resulta más adecuado <sup>(6,7,8,12)</sup>.

En 1954 Wesslen y Lannek lebaron acabo la investigación etiológica de este proceso al aislar y multiplicar al agente en cultivos celulares y en medios artificiales libres de células. Estos autores denominaron al agente SEP ("swine enzootic pneumonia agente"), con lo que lograron reproducir la enfermedad experimentalmente. <sup>(7,12)</sup>

Para 1965 fue aislado el micoplasma de un pulmón neumónico, demostrando la existencia de la enfermedad en los Estados Unidos por Maré y Switzer, en Inglaterra por Goodwin y colaboradores <sup>(7,13)</sup>.

La posibilidad de que un micoplasma estuviera involucrado en la etiología de la Neumonía Enzoótica fue investigada por dos grupos simultáneamente: uno en Iowa, (E.U.) y otro en Cambridge (Inglaterra). Ambos reportaron en 1965 un micoplasma que producía neumonía típica en los cerdos, al cual los americanos llamaron *M. hyopneumoniae* y los ingleses *M. Suiipneumoniae*. Posteriormente mediante la prueba de inhibición metabólica, se demostró que eran serológicamente idénticos. El Comité de Nomenclatura de Micoplasmas concedió la prioridad al uso de *M. hyopneumoniae*

(3,7,12).



## I.2 ANTECEDENTES

El *Mycoplasma hyopneumoniae* es el principal agente causante de la neumonía enzoótica en los cerdos, se encuentra asociado a pérdidas en la ganancia de peso, eficiencia alimenticia, retraso en el crecimiento con mortalidad baja y morbilidad alta. Los cerdos de todas las edades son susceptibles a la enfermedad, pero es más grave en animales de 1 a 4 semanas de vida <sup>(2,18)</sup>.

<http://www.garth.demon.co.uk>

La neumonía en los cerdos en las etapas de crecimiento y finalización provocan pérdidas económicas considerables en todas las explotaciones porcinas, los problemas respiratorios en los cerdos son una preocupación para la producción porcina la cual ocupa un lugar muy importante dentro de la producción nacional, ya que esta enfermedad incide gravemente en la economía del país, al momento de la matanza se ha observado que de un 50 hasta un 90% de los cerdos presentan alguna lesión neumónica <sup>(1,11, 12)</sup>.

<http://www.porcicultura.com>

El impacto en costo por las lesiones neumónicas se calcula a través de un minucioso examen en el matadero, por lo que se estima, que por cada 1% de pulmón afectado por Neumonía Enzoótica, se reduce el crecimiento 2.2grs/día <sup>(2,4,13)</sup>.

Debido al carácter crónico, el costo de esta enfermedad para la industria porcina es enorme, ocasionando pérdidas por una deficiente ganancia de peso diario y retraso en el crecimiento. La enfermedad se presenta sobre todo en animales que se crían en condiciones intensivas y se presenta como producto de la interacción entre factores ambientales, de manejo y todos aquellos inherentes al huésped y al agente etiológico en especial cuando el clima es húmedo y frío, por lo que se ha calculado que si hay 10% de tejido pulmonar afectado, el cerdo sufre retraso de 5% en la ganancia de peso <sup>(5,13)</sup>.

<http://www.pfizer.com>  
<http://www.pic.com>

### 1.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL *Mycoplasma hyopneumoniae*

El nombre genérico *Mycoplasma* se deriva del griego "MYCO" que quiere decir filamento o micelio y del latín "PLASMA" que se refiere a la plasticidad y pleomorfismo del mismo; Los mycoplasmas son bacterias que tienen la peculiaridad de carecer de pared celular, lo que dificulta mucho su cultivo.

<http://www.pic.com>

En la actualidad se han descrito cinco géneros sin pared celular, de los cuales tres son importantes en animales:

**1.- *Mycoplasma*:** son fermentadores de glucosa no hidrolizan la urea; crecen a pH neutro y requieren esteroides en el medio de cultivo (64 especies) <sup>(6)</sup>.

**2.- *Acholeplasma*:** no requieren esteroides para su crecimiento; genoma de 1.0 x 10 a la 9 daltons; oxidación del NADH localizada en membrana (7 especies) <sup>(6,8)</sup>.

**3.- *Ureoplasma*:** fermentan la urea; crecen bien en pH ácido y requieren esteroides. Debido al pequeño tamaño de sus colonias se describieron durante algún tiempo como micoplasmas T ("Tiny", pequeño) (2 especies) <sup>(6,18)</sup>.

**5.- *Spiroplasma*:** son organismos helicoidales, en algunas etapas de crecimiento; requiere esteroides para crecer; se han aislado de insectos, garrapatas y diversas plantas (3 especies) <sup>(16)</sup>.

**4.- *Formas L*:** carecen de pared celular, la pérdida de ésta puede ser completa o parcial (algunas tienen pared deficiente) y la célula madre puede ser Gram negativa o positiva. Son pleomórficos como los mycoplasmas y continúan reproduciéndose por mutaciones espontáneas o después de tratamientos, como el cultivo en medios isotónicos o hipertónicos que contienen penicilina <sup>(16)</sup>.

## ***Mycoplasma hyopneumoniae***

Pertenece al grupo de las bacterias de menor tamaño (celular y de genoma) y se caracteriza por ser exento de pared celular. Por esta razón es un microorganismo lábil y muy susceptible a la lisis mediada por anticuerpos o por ósmosis <sup>(11,19)</sup>.

<http://www.bacterias.carentes.de.pared.celular.com>

Los micoplasmas presentan la siguiente clasificación:

REINO: Procariota

CLASE III: ***Mollicutes***.

ORDEN: ***Mycoplasmatales***.

FAMILIA: ***Mycoplasmataceae*** ( Necesidad de esterol).

Habitat: hombre y animales

GENERO: ***Mycoplasma*** (64 especies) <sup>(4)</sup>

Es un agente primario capaz de desencadenar el proceso neumónico, pero por sí sólo produce lesiones de poca importancia. Por otro lado, *Pasteurella multocida* se visualizó como agente incapaz de montar una infección primaria, pero responsable de las lesiones severas. Morrison y Pijoan, demostraron que en pulmones colectados de cerdos de abasto *M. hyopneumoniae* y *P. multocida* interactúan sinérgicamente <sup>(15,21)</sup>.

El microorganismo se caracteriza por pasar filtros de 0.22 µm que otros microorganismos no pueden pasar, obteniendo solo al micoplasma, tiene un tamaño de 150 a 600 nm, carece de pared celular, pleomórfico, ( fig 1,2) Gram (-), inmóvil anaerobio facultativo. Es un microorganismo de crecimiento lento, tarda de 7 a 10 días en crecer y su mayor crecimiento es en medios líquidos <sup>(11,15,19)</sup>.



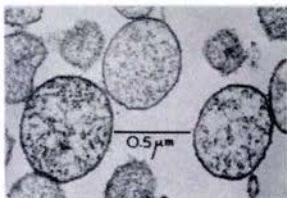


Fig. 1 Tamaño del *Mycoplasma hyopneumoniae*



Fig.2 Se observa morfología variable, puede ser esférica, coma, espiral.

<http://www.pfizer.com> "Lung Lesion Analysis Guide"

Solo prolifera en medios de cultivo complejos que contengan suero porcino o de caballo (como fuente de colesterol), extracto de músculo cardíaco, peptona y extracto de levadura como complemento nutritivo. Los medios deben contener acetato de talio y penicilina para impedir el crecimiento de bacterias que puedan contaminar el medio de cultivo, en condiciones microaerófilas (5-10% de  $\text{CO}_2$ ) y en medios sólidos forman colonias después de 2 a 10 días. Además requiere colesterol para su desarrollo y fermenta la glucosa no hidroliza la urea, presenta una proteína de un peso molecular (PM) de 64,000 daltons específica, es inactivado a las 48 hrs de secado en la ropa o pelo, pero puede persistir por más de 17 días en el agua de lluvia entre los  $2^\circ\text{C}$  y  $7^\circ\text{C}$ . Es sensible *in vitro* a la penicilina G (importante para el aislamiento) y a la tiamulina, tilosina, lincomicina y otros macrólidos como la espiramicina. Son muy sensibles a los agentes externos. Su vitalidad en medio ambiente, depende de la temperatura (a una temperatura de  $-20^\circ\text{C}$  permanecen vivos durante meses) <sup>(9,13)</sup>.

<http://www.mitierra.com>

En cuanto a sus características bioquímicas es: oxidasa negativo, catalasa negativo, presenta metabolismo respiratorio, motilidad negativa. La mayoría de las especies de micoplasmas utilizan glucosa como principal fuente de energía <sup>(19)</sup>.

<http://www.exopol.com/micro/microsero.html>

Las colonias presentan en medio sólido morfologías peculiares, se caracterizan bien por la existencia de una zona central granulosa y una zona periférica más lisa que constituye la llamada forma de "huevo estrellado" (fig.3) o bien presenta una granulación uniforme sin distribución especial, si no homogénea en toda la superficie de la colonia algunos autores la observan como "gotas de rocío" (fig.4) (tamaño 0.5-1mm de diámetro.) <sup>(14,15,16)</sup>

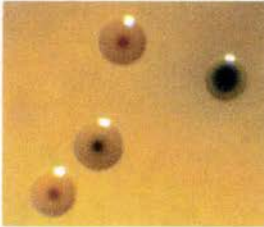


Fig. 3 Colonias características de huevo estrellado, nótese el centro más oscuro; la cual es granulosa y la periferia más clara esta es más lisa

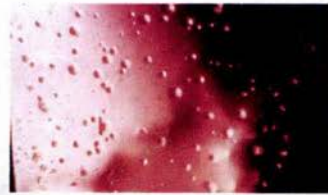


Fig. 4 Granulación uniforme sin distribución especial en la superficie de la colonia de *Mycoplasma hyopneumoniae* <sup>(16)</sup>

<http://www.websaninet2000.com>

La porción central de la colonia embebida en el agar es granulosa y la periferia es más lisa, sobre la superficie del agar. (fig.5)

### SECCION DE UNA COLONIA

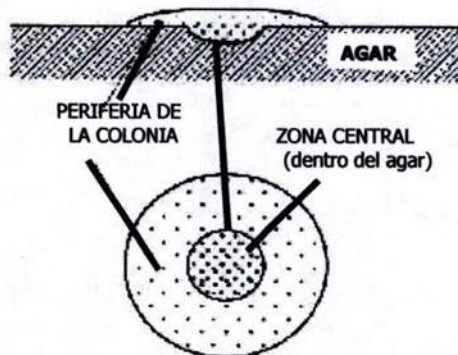


Fig.5 Superficie de la colonia (aparencia de "huevo estrellado")



Las placas de agar se incuban normalmente entre 2 y 10 días, hasta que el crecimiento es aparente, aunque las colonias raramente son suficientemente grandes como para poder observarse a simple vista.

Para el examen de las colonias se utilizan tinciones como la de Dienes. En esta tinción se utiliza el azul de metileno y el azul de azur II, se usa para teñir las colonias de mycoplasmas en la cual se corta un cubo del agar que contenga las colonias sospechosas de mycoplasmas y se coloca en un porta objetos, se tiñen con los colorantes. Las colonias se tiñen de color azul oscuro en el centro y de azul claro en la periferia. También se encuentran los medios de EATON, FRIIS, PPLO (Organismos productores de pleuroneumonía) y Yamamoto, que contienen sueros estériles de equino, extracto de levadura, inhibidor de pH (rojo de fenol), más inhibidores para prevenir agentes contaminantes.

<http://www.mdlabs.com>

En frotis teñidos con colorante de Giemsa se aprecian formas bacilares pequeñas, cocoides delgados de 0.1 a 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro y formas con prolongaciones filamentosas de 0.1 a 0.2  $\mu\text{m}$  de grosor. En cultivos celulares crece formando grupos difusos como cocos de 0.5 $\mu\text{m}$  de diámetro en cadenas cortas o anillos de sello bipolar y triangular aproximadamente de 3 $\mu\text{m}$  de diámetro conteniendo una estructura parecida a un coco <sup>(13,14,15)</sup>.

<http://www.mdlabs.com>

#### **1.4. TRANSMISION.**

Done en 1997 menciona que la transmisión de *Mycoplasma hyopneumoniae* es lenta y principalmente por contacto nasal entre animales. En 1995 Morris llevó a cabo un estudio epidemiológico en donde encontró que el contacto directo con secreciones del tracto respiratorio de cerdos infectados. Goodwin en 1984 y Thomsen en 1997 propusieron otras vías de transmisión, como a través de fómites y por vía aerógena. Si el contacto directo es la única ruta de transmisión, la enfermedad sólo podría entrar en una granja por la introducción de animales

infectados. El padecimiento también se transmite y se exagera durante el agrupamiento, el estrés que sufren los cerdos al destetarlos y del periodo de crecimiento hasta la edad comercial de los animales. La temperatura y la humedad también modifican la penetración a los pulmones, tanto de patógenos primarios como secundarios, por que alteran el tamaño de partículas de aerosol infectadas y el mecanismo protector de las vías respiratorias. <sup>(2,15,17,18)</sup>

(<http://www.thepigsite.com> , <http://www.swine.htm>)

Ross propuso en 1986, tres mecanismos por los que la infección de *Mycoplasma hyopneumoniae* se mantiene en una granja : a) Transmisión de madres infectadas a lechones, b) de lechones infectados a otros no infectados en las parideras y c) salas de cuarentena de animales a otros más jóvenes que entran en dichas instalaciones. Por ello, el conocimiento de la dinámica de transmisión del organismo dentro de un grupo de cerdos es crítico para establecer medidas de control en una granja en particular <sup>(19)</sup>.

Los agentes etiológicos suelen clasificarse en primarios y secundarios según la repercusión que tiene su circulación en la población sobre el estado sanitario de la misma. Los agentes primarios son capaces de producir por si mismos la enfermedad y además propician las patologías desencadenadas por los agentes secundarios ( tabla 1).

( <http://www.miexamen.com> , <http://www.oie.int.revistacientifica.com> )

Cuadro 1

### CLASIFICACION DE AGENTES PRIMARIOS Y SECUNDARIOS INVOLUCRADOS EN LA NEUMONÍA ENZOOTICA

PATÓGENOS PRIMARIOS	PATÓGENOS SECUNDARIOS
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	<i>Haemophilus parasuis</i>
Virus del PRRS (Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino) (Arterivirus)	<i>Pasteurella multocida</i>
Virus de Aujeszky (Herpesvirus)	<i>Actinobacillus pleuroneumoniae</i>
Virus de la Influenza porcina ( Orthomixovirus Tipo A)	<i>Streptococcus suis</i> (tipo II)

\*(S. Done, IPVS, 2000) , <http://www.cienciasveterinarias.com>



## 1.5. PATOGENIA:

El periodo de incubación del *Mycoplasma hyopneumoniae* ha sido reportado de 10 a 16 días en condiciones naturales, Betts en 1952 demuestra que en caso de transmisión experimental el periodo de incubación es de 5 a 12 días <sup>(19)</sup>

El *Mycoplasma hyopneumoniae* es específico de su hospedador, y en el medio externo sólo sobrevive por poco tiempo. El microorganismo se disemina en las gotitas de flujo producidas por los cerdos infectados y las cerdas pueden transmitirlo de esta manera a sus cerditos; igualmente puede ser introducida la enfermedad a la piara por la compra de cerdos infectados.

<http://www.e-campo.com-Mycoplasma>

Se ha reportado signos de la enfermedad en los cerdos de 2 a 10 semanas de edad, aunque por lo general se disemina lentamente y muchos cerdos no presentan la enfermedad, hasta que tienen entre 3 a 6 meses de edad. El cerdo infectado elimina aerosoles contaminados que son captados por el sistema respiratorio de un cerdo susceptible, *Mycoplasma hyopneumoniae* coloniza el epitelio ciliado del área traqueal, bronquial y bronquiolar por medio de receptores glucolípidos presentes en estas células, donde puede permanecer por largos periodos y al parecer, por medio de una proteína citotóxica produce la destrucción de los cilios; además la colonización del tracto respiratorio implica una adhesina llamada P97, de esta manera se inicia una respuesta del organismo a través de una infiltración de células mononucleares, principalmente linfocitos, localizados peribronquialmente. Esta infiltración celular está mediada por un factor mitógeno proteico. Al parecer esta respuesta tiene un efecto inmunosupresor, ya que interfiere en la remoción bacteriana que usualmente utiliza el sistema respiratorio como mecanismos de defensa, suprimiendo la inmunidad humoral por la inhibición de linfocitos B y la inmunidad celular por la inhibición de la fagocitosis mediada por macrófagos. Una vez establecida la inmunosupresión, los agentes bacterianos como *Pasteurella multocida* tipo A, tipo D toxigénica, *Actinobacillus pleuropneumoniae* u otros, pueden generar una infección secundaria. <sup>(2,68,1,73)</sup>

(<http://www.grupoveterinariogarth.commlabs.com>, <http://www.e-campo.com-Mycoplasma>)

## 1.6. SIGNOLOGÍA

La manifestación clínica se inicia cuando el epitelio es destruido del área traqueo-bronquial y los signos son más evidentes cuando se presenta una infección secundaria, sin embargo los signos se presentan después de condiciones de estrés, cambios bruscos de temperatura, sobrepoblación y ventilación inadecuada.

En la neumonía enzoótica del cerdo hay una alta morbilidad con una baja mortalidad y las manifestaciones son una tos crónica, seca y no productiva que se exagera con el ejercicio y persiste por 3 semanas o más, también se observa dificultad respiratoria, pelambre hirsuto, estornudo y en algunas ocasiones diarrea, probablemente por debilitamiento del animal y disminución del apetito, lo cual trae como resultado la reducción en la tasa de crecimiento, así como la disminución de la eficiencia alimenticia. Además los animales pueden permanecer deprimidos. La intensidad de la manifestación clínica es mayor en cerdos en la etapa de crecimiento y finalización, aunque se han reportado manifestaciones desde las 3 semanas. Los movimientos respiratorios son normales a menos que el daño pulmonar sea extenso o se desarrolle una infección bacteriana secundaria. Las pérdidas por muerte asociadas con infección bacteriana y estrés pueden ocurrir entre los 4 y 6 meses de edad <sup>(1,3,32)</sup>

Se puede clasificar en dos formas.

**FORMA AGUDA:** Relativamente rara, pueden aparecer brotes graves en piaras susceptibles cuando llega la infección por primera vez, enferman animales de todas las edades alcanzando morbilidad hasta de un 100%, manifiestan anorexia, pirexia de 40.6 a 41.7 °C y molestias respiratorias acompañadas de tos. Los verracos pueden no trabajar, y pueden retrasarse los intervalos destete-servicio, infectando crías de 10 días de edad. La evolución de la enfermedad en una pira requiere aproximadamente 3 semanas, posteriormente tienden a la cronicidad <sup>(12,22)</sup>.

**FORMA CRÓNICA:** Es mucho más frecuente en animales que se enferman cuando tienen 3 a 10 semanas de edad; los cerdos comienzan con una diarrea transitoria y una tos seca repetitiva por la mañana y al alimentarse (es la manifestación principal), alteración de los movimientos respiratorios, no presentan fiebre, ni anorexia evidente, disminuye la tasa de crecimiento, los cerdos pueden llegar a sufrir neumonía aguda por invasión secundaria, puede provocar brotes de tos y neumonía que son particularmente intensos en cerdos de 2 a 4 meses de edad <sup>(12,22)</sup>.

<http://www.mycu/enfermedades..com>

<http://www.websaninet2000.com>

### 1.7 LESIONES MACROSCOPICAS:

Se observa la distribución de las lesiones que se caracterizan por una consolidación lobular definida color gris pálido-en estadios iniciales que va progresando, con los lóbulos cardiaco derecho, cardiaco izquierdo, apical derecho, lóbulo diafragmático, y lóbulo apical izquierdo, en este orden de frecuencia; consisten en áreas neumónicas hepatizadas, que pueden ir desde una coloración rosáceo a grisáceos hasta llegar a moradas o púrpura (fig. 6). Se ha sugerido que esta distribución depende en parte de la posición más vertical de los bronquios en casi todos los lóbulos comúnmente afectados. Los nódulos linfáticos bronquiales y mediastínicos asociados pueden estar agrandados <sup>(2,7,8,9,24)</sup>.



Underadhl y colaboradores en 1980 demostraron que en caso de infección experimental con el agente solo, las lesiones empiezan a aparecer de los 7-10 días postinfección, alcanzando el máximo a los 20-30 días

### Lesiones macroscópicas

Se muestra la localización de las lesiones en una porción de la vista dorsal derecha en lóbulos apicales donde se aprecia en **A, B, C** la coloración característica de la lesión de un color púrpura a diferencia de la zona superior "**D**" con un color rosa claro (tejido normal)

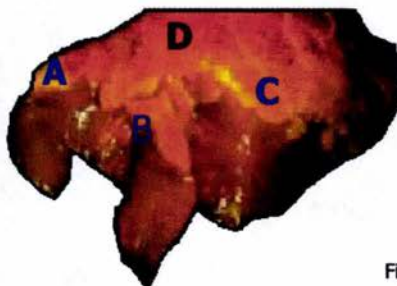


Fig 6

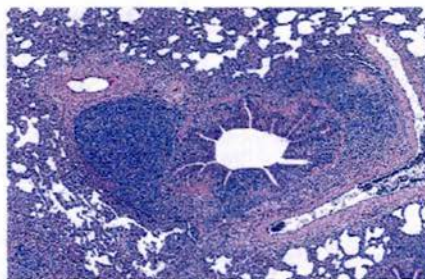
### 1.8. LESIONES MICROSCÓPICAS:

Los primeros cambios histológicos aparecen tres días después de la infección y consisten en inflamación con congestión de los capilares de los tabiques alveolares, la acumulación de polimorfos y neutrófilos con la presencia de bacterias secundarias como *Pasteurella*, en las vías respiratorias y la lámina propia de los bronquiólos. Cinco días postinfección aparecen linfocitos y macrófagos, y para el séptimo día se visualiza la proliferación del BALT (Tejido linfoide nodular asociado a mucosas) alrededor de los bronquiólos (fig. 7). Al mismo tiempo los alvéolos pulmonares contienen muchos macrófagos, linfocitos y plasmocitos. Se produce hiperplasia del epitelio bronquiolar y proliferación de neumocitos tipo II. Entre los cambios posteriores se incluyen proliferación del tejido linfoide que causa oclusión de algunos bronquiólos, hipertrofia de las glándulas bronquiales. <sup>(6)</sup>

<http://www.principiosbasicosenelcriaderodecerdo.htm>

Con el tiempo los animales afectados se recuperan y se manifiesta una regresión de las lesiones, por lo que las cerdas ya adultas (luego de 2 a 4 pariciones) pueden estar libres de infección.

fig. 7 Histológicamente las lesiones se centran en bronquios y bronquiólos, y se caracterizan por una hiperplasia epitelial, inflamación alveolar predominando macrófagos, células plasmáticas y neutrófilos, infiltración de la lámina propia con linfocitos, macrófagos y característicos "manguitos" peribronquiales, peribronquiolares y perivascuales <sup>(23)</sup>



Blanchard y colaboradores en 1992 realizaron estudios de microscopía electrónica donde evidenciaron la pérdida de cilios de 6-11 semanas postinfección y la presencia de leucocitos con micoplasmas en la superficie del tejido dañado <sup>(4)</sup>

<http://www.principiosbasicosen el criadero de cerdo.htm>

### 1.8. DIAGNOSTICO CLINICO:

Por lo general el diagnóstico de neumonía enzoótica se lleva a cabo basándose en la observación de la signología clínica de los animales en la piara y no de un solo animal, la mortalidad baja y morbilidad alta, la diferencia de tamaño corporal entre animales del mismo peso al destete, como consecuencia de diferentes grados de infección en la piara. Esto provoca retrasos en la comercialización y problemas de manejo <sup>(12,22)</sup>

El diagnóstico presuntivo se realiza sobre la base de las condiciones epizootológicas de la enfermedad, la historia clínica, la signología, las lesiones a la necropsia y los resultados histopatológicos

### 1.9. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO:

Es importante llevar a cabo la confirmación por medio de las pruebas de laboratorio, como el implementar un monitoreo en donde se incluyan las siguientes pruebas:

❖ **Inmunofluorescencia:** Consiste en el examen del pulmón utilizando un conjugado policlonico o poliespecifico anti *M. Hyopneumoniae*. La especificidad de esta prueba (conocida también por sus iniciales IFA) es confusa puesto que *Mh* comparte propiedades antigénicas con *M. floclulare* y *M. hyorinis*..<sup>(7)</sup>

❖ **Cultivo:** El análisis mediante cultivo de muestras de pulmón con una identificación subsecuente de los aislamientos utilizando; epifluoresceina, inhibición de crecimiento, inmunotransferencia para detectar la proteína p36, prueba de la sonda de ADN y PCR o reacción en cadena de la polimeraza. El método de cultivo es tedioso y tardado debido a que *M.h.* crece muy lentamente, además del efecto de confusión que producen otros micoplasmas u otras bacterias presentes en el aparato respiratorio <sup>(7)</sup>

❖ **Técnicas de biología molecular:** La detección de micoplasma con la sonda específica de ADN en muestras clínicas (en lavados traqueobronquiales o en pulmones) es rápida pero no es suficientemente sensible. La técnica de PCR, desallorrada recientemente, incrementó significativamente la sensibilidad. Al mismo tiempo, reveló la existencia de heterogenicidad entre las cepas. Sin embargo, la prueba diagnostica de PCR no ha logrado convertirse en una prueba de rutina para el diagnostico de del infección, pese a sus grandes ventajas, como son el hecho de evitar el cultivo de micoplasma de no ser afectada la muestra por el efecto de los antibióticos y otras bacterias presentes en las muestras, la obtención del resultado en poco tiempo, aún antes de que haya respuesta serológica, aunque también tiene importantes desventajas, tales como la complejidad del examen, el costo elevado la presencia de algunos resultados positivos o negativos<sup>(7)</sup>

❖ **Serología:** La serología también se utiliza para establecer el estado inmunitario de las personas. Para estos propósitos con frecuencia se utilizaban, en un principio, las técnicas de fijación de complemento, de hemoaglutinación indirecta y la aglutinación en latex, las cuales no resultaron ser suficientemente sensibles. La prueba de ELISA utilizando un antígeno soluble en Tween 20 es muy sensible, sin embargo a menudo se observan reacciones cruzadas con anticuerpos de *M. flocculare* y *M. hyorinis* debido a que tienen como proteínas comunes la p74, p53 y las proteínas p73 y p41. <sup>(7)</sup>

Sin embargo en México el diagnóstico de campo de esta enfermedad se apoya únicamente de los signos clínicos, las lesiones macroscópicas y microscópicas en la gran mayoría de los casos <sup>(5,8,9,11,12,13,19,22,24)</sup>

<http://www.e-campo.com>

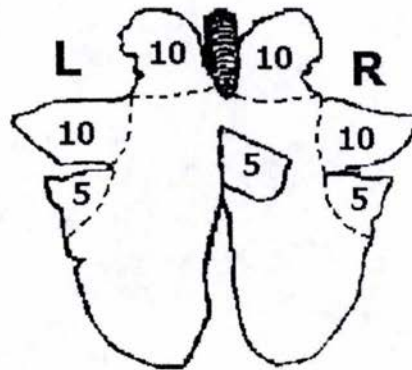


### 1.10 TÉCNICAS DE EVALUACIÓN DE LESIONES PULMONARES

Se han efectuado diferentes métodos para la obtención del porcentaje de lesiones pulmonares en la línea de matanza y en trabajos de investigación, entre los cuales se cita algunos de ellos:

❖ **Sistema de puntuación:** este método está basado en la severidad y extensión de las áreas de consolidación en donde cada lóbulo del pulmón normal se le ha asignado un valor, lóbulos apicales craneales de 10 puntos, lóbulos apicales caudales y el lóbulo cardiaco de 5 puntos, la puntuación puede ir de 0 puntos si no hay lesión en el pulmón pero puede llegar hasta 55 puntos si las lesiones aparecen en los lóbulos, y una puntuación por encima de 15 indica una pérdida económica en ese animal debido al efecto de la neumonía enzoótica.

<http://epicentre.massey.ac.nz/staerk7.htm>



**SISTEMA DE MARCACIÓN**

Fig.8

❖ **Sistema de puntos:** este sistema fluctúa desde 1 a 5 dependiendo del grado de severidad de la lesión macroscópica en cada lóbulo del pulmón. La suma de las lesiones de todos los lóbulos indica el grado de daño que se presenta en el pulmón; para fines del calculo estadístico las lesiones se agrupan en 3 categoría:

- A. Para lesiones de 1 a 5 puntos      leve
- B. Para lesiones de 5 a 10 puntos      media
- C. Para lesiones de 10 a 15 puntos      severa

(Ochoa 1978)

❖ **Pig Mon:** Daviest y colaboradores en 1993 llevaron a cabo un programa de monitoreo que evalúa lesiones pulmonares en el matadero de cientos de granjas (fig. 9). En este programa de monitoreo se utiliza un aparato llamado **HUSKY FS2** (fig.10) Este es un sistema de puntuación, el cual reúne información sobre lesiones presentes en los pulmones. Este método se emplea al final de la línea de matanza en donde se va registrando la puntuación de las áreas lesionadas en porcentaje, este método se lleva actualmente a cabo en USA, España, New Zealand <sup>(10,11,45)</sup>.

<http://www.cienciasveterinarias.com>

Fig.9



Se muestra el momento en que se evalúa las lesiones pulmonares con el HUSKY FS2

<http://www.pfizer.com>

<http://www.cranmerlawrence.com>

Fig 10



Aparato (HUSKY FS2) que se utiliza para llevar acabo el monitoreo de las lesiones neumónicas

❖ **Análisis de Imágenes:** el análisis digital de imágenes es la ciencia de las mediciones geométricas de cualquier fuente. Su principal aplicación es la microscopía cuantitativa para la que ofrece datos estadísticamente significativos de una manera rápida y exacta sustituyendo así a los subjetivos métodos tradicionales.

Dichas mediciones pueden ser la fracción volumétrica de las distintas fases de una aleación o de una muestra geológica, la distribución por números y por tamaños de partículas contaminantes filtradas del aire o de un líquido hidráulico, o la distribución de la densidad óptica integrada en los núcleos de células manchadas por ello.

El Análisis digital de imágenes apareció por primera vez como técnica que se podía conseguir fácilmente en 1963 como la introducción del QTM A (Microscopio Televisión Cuantitativo), diseñado por Metals Research Ltd., que más tarde pasó a formar parte de Leica. Este instrumento se ideó para su uso en laboratorios metalúrgicos, especialmente para el control de calidad de la pureza del acero y otras mediciones de microestructuras, pero pronto se descubrió su utilidad en otros campos.

Algunas de las primeras aplicaciones en el campo de la Biología fueron la medición del tamaño de los espacios para aire en los pulmones (para cuantificar el daño de los mismos) y el cómputo de granos de plata en la autorradiografías.

Desde entonces las técnicas de análisis digital de imágenes se han aplicado en casi todos los campos de la ciencia y la tecnología desde la Anatomía hasta la Zoología y se han ampliado para incluir funciones de procesamiento de imágenes como la filtración y la mejora de imágenes.

Qwin es el equipo de herramienta de Análisis Digital de Imágenes de Leica basado en Windows que se ejecuta en el entorno industrial estándar de Microsoft Windows, Leica Qwin ofrece varios tipos de mediciones que van desde mediciones

manuales interactivas de objetos hasta análisis "automáticos" totalmente automatizados, por ejemplo: las imperfecciones del acero.

Ejemplos de dichas mediciones son:

La planimetría de longitud, distancia y superficie.

El porcentaje de fases, las fracciones de superficie y volumétricas.

La densitometría calibrada.

El análisis de la forma y el tamaño de las partículas.

El perfilamiento de grises <sup>(14)</sup>

❖ **Técnica de Planimetría:** este método fue empleado para evaluar las lesiones macroscópicas de pulmones dañados por primera vez en 1987 por Abel Ciprian, en donde por medio de diagramas pulmonares normalizados de vista dorsal y ventral, calculó el promedio del área dañada de ambas vistas de pulmones de porcinos con lesiones neumónicas y calculó el porcentaje del área ocupada por las lesiones, tomando como base el porcentaje del área total del pulmón <sup>(6,7)</sup>



## **2. JUSTIFICACIÓN.**

Se han realizado técnicas para evaluar lesiones pulmonares de porcinos con enfermedades respiratorias, las cuales han presentado errores en cuanto a la medición de las zonas lesionadas; ya que también se toman en cuenta las áreas sin lesión, por lo que este trabajo llevar a cabo una comparación entre la técnica de planimetría y la técnica análisis digital de Imagen como un método más eficaz, empleando el analizador digital de imágenes para obtener una medición más confiable de la lesión pulmonar sospechosa por *Mycoplasma hyopneumoniae*.

### **3. OBJETIVO GENERAL.**

Desarrollar la evaluación comparativa del grado de lesión pulmonar, sospechosa de *Mycoplasma hyopneumoniae*, mediante las técnicas de planimetría y el análisis de imágenes.

### **OBJETIVOS PARTICULARES.**

1. Realizar la evaluación del grado de lesión macroscópica que se presenta en pulmones de porcinos sospechosos de *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante la técnica de Planimetría.
2. Realizar la evaluación del grado de lesión macroscópica que se presenta en pulmones de cerdo sospechosos de *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante la técnica de análisis digital de imagen.
3. Realizar la evaluación comparativa de ambos métodos para conocer la técnica más adecuada y precisa en la evaluación de las lesiones macroscópicas sospechosas de *Mycoplasma hyopneumoniae*, aplicando el método estadístico

## 4. METODOLOGÍA

### MATERIAL BIOLÓGICO

Se recolectaron 100 pulmones lesionados de animales entre 3 y 12 semanas de edad, sospechosos de infección por *Mycoplasma hyopneumoniae*, provenientes de granjas del Estado de México.

La obtención de los órganos se llevó a cabo de la siguiente manera:

- a) Pulmones de animales de abasto en el momento del sacrificio estos órganos se recolectaron en días terciados por lo que se conservaron en congelación
- b) Animales que se encontraron muertos dentro de los corrales, los pulmones se conservaron en refrigeración.
- c) Animales enfermos, que fueron sacrificados, estos pulmones se trabajaron en fresco.

Estos órganos se trasladaron a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC), al laboratorio de Microbiología en donde se llevó a cabo la selección de aquellos pulmones que presentaron lesiones macroscópicas sospechosas de *Mycoplasma hyopneumoniae*, se trabajó con 29 órganos se tomó esta cantidad como una muestra representativa, ya que los otros pulmones presentaban lesiones sugestivas por otros agentes como: *Actinobacillus pleuroneumoniae*, *Pasteurella sp.*

Posteriormente se llevo acabo la evaluación por medio de la técnica de planimetría, los pulmones fueron fotografiados por sus dos vistas tanto dorsal como ventralmente, estas imágenes fueron guardadas como formato BMP (Filtro de gráficos de mapa de bits de Windows) y convertidas después a formato TIF (Formato de trazos de imagen), en donde se emplearon para la técnica de análisis digital de imágenes (dig. A),

Dig. A

## DIAGRAMA DE PROCESAMIENTO DE LOS ÓRGANOS

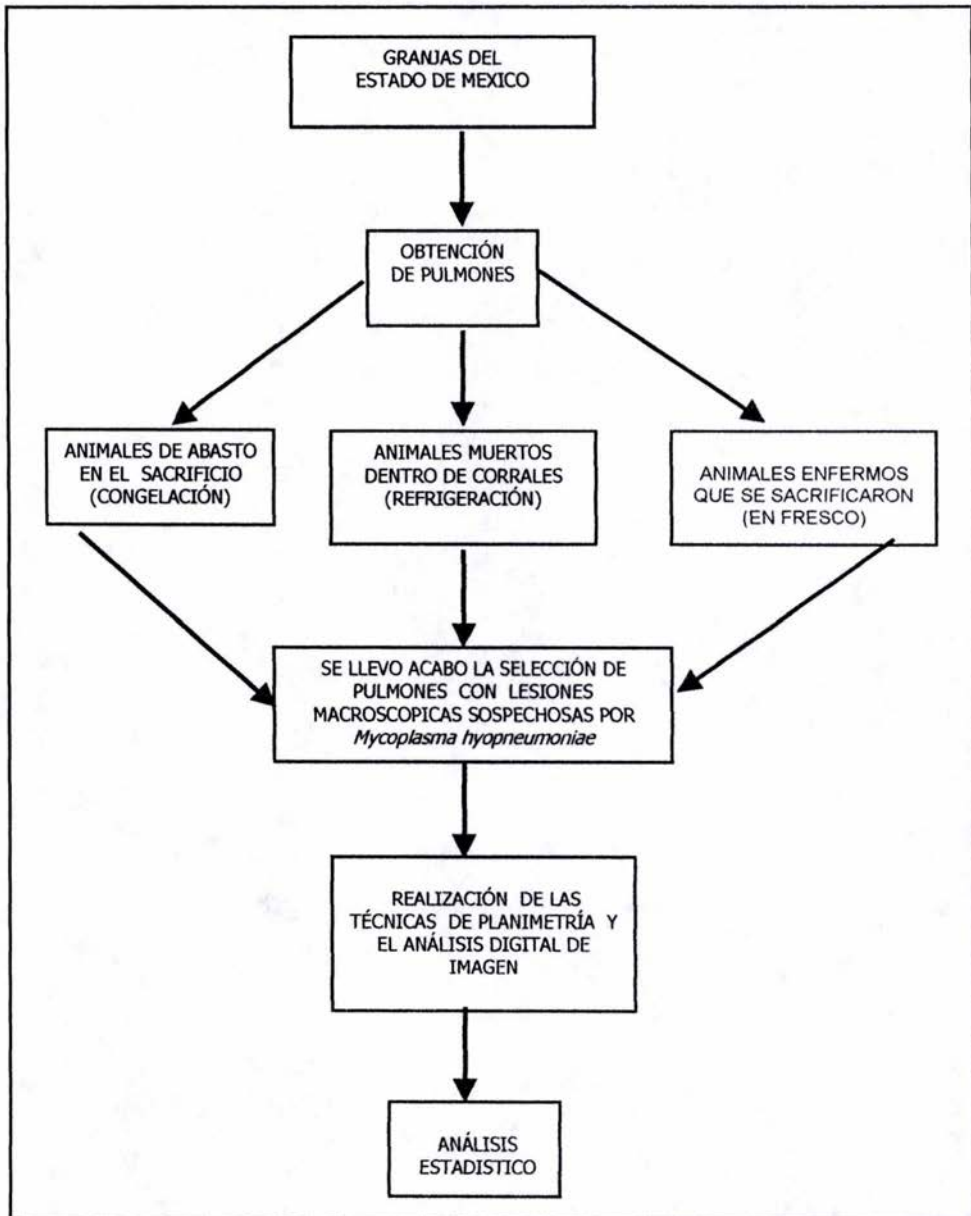
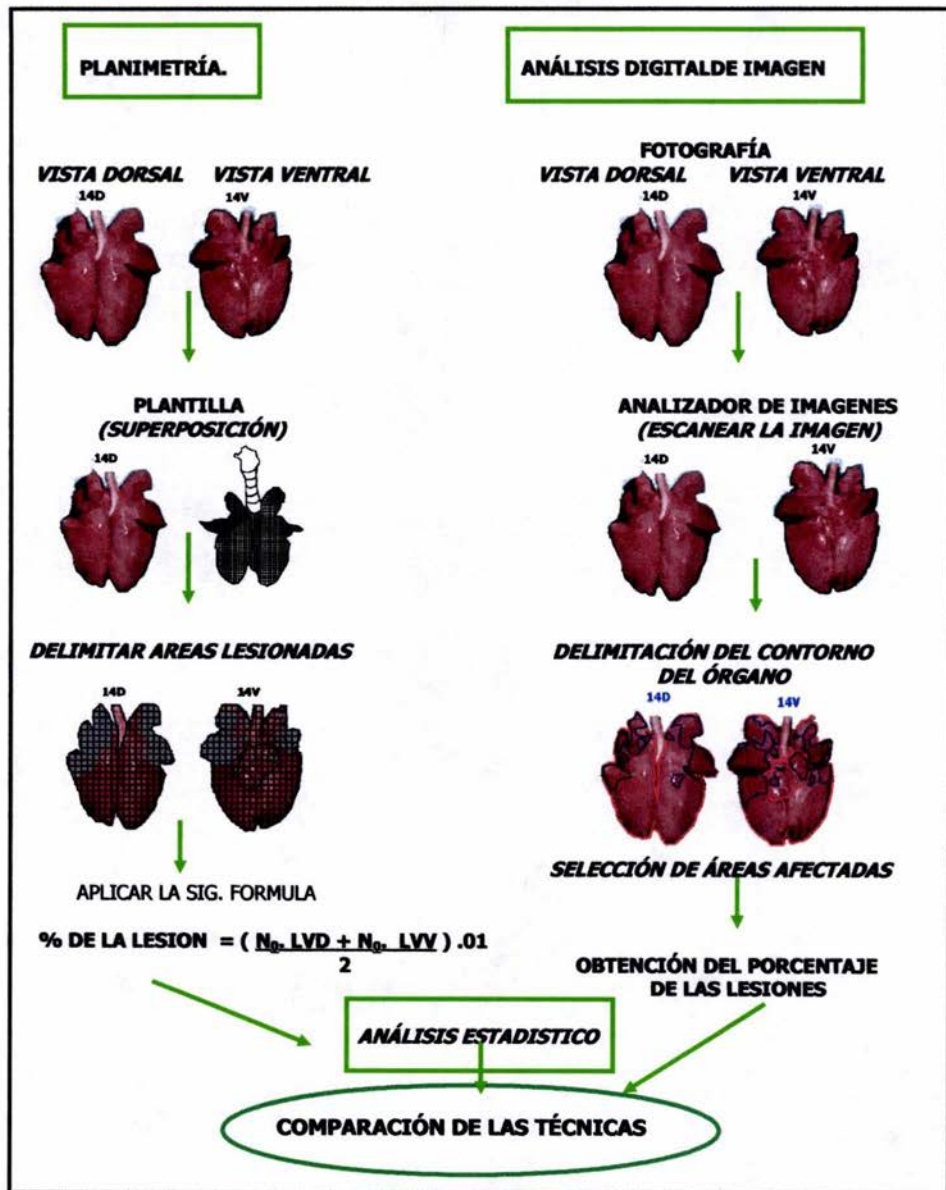




Diagrama del proceso de las muestras de pulmones con lesión sospechosa de  
*Mycoplasma hyopneumoniae*  
 Dig. B

### DIAGRAMA EXPERIMENTAL



## TÉCNICA DE PLANIMETRIA

A los 29 pulmones se les identificó de la siguiente manera:

Se utilizó una plantilla en donde se anotó el número del órgano, fecha y lugar de procedencia, en esta plantilla también se realizaron diagramas del contorno del pulmón normal por sus dos vistas, dorsal y ventral. Se realizó una cuadrícula en donde cada cuadrado tiene una medida de  $0.5\text{cm}^2$  y el total de ellos por ambas vistas se tomó como el 100% del área total del órgano. (diagrama C)

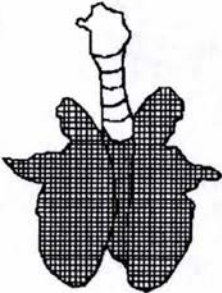
Diag. C

**Reporte de localización de lesiones macroscópicas.  
(PLANTILLA)**

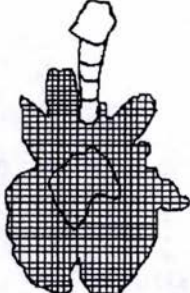
Fecha: \_\_\_\_\_

Cerdo No. \_\_\_\_\_

Lugar: \_\_\_\_\_



VISTA DORSAL

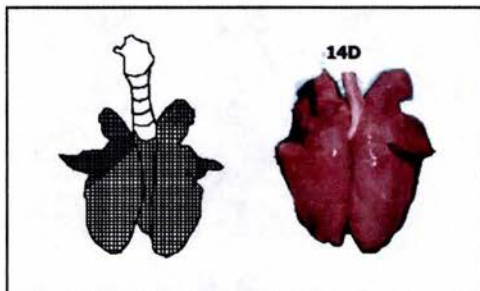


VISTA VENTRAL

Observaciones:

Se muestra la plantilla que se utilizó para registrar las zonas o áreas de lesión, tanto dorsal como ventral.

Una vez que se identificaron los órganos en cada una de las plantillas, se procedió a sombrear en el diagrama aquellas zonas lesionadas sospechosas de mycoplasma tanto dorsal como ventral, teniendo al órgano a un lado. ( diagrama D)



Diag. D Se muestra como se marcaron las áreas de lesión en la plantilla teniendo al órgano lesionado a un lado

Posteriormente se sobrepuso el diagrama realizado a la imagen de un pulmón cuadriculado en acetato y se llevará a cabo el conteo de espacios del cuadriculado que presentará cada lesión. Se calculará el promedio del área ocupada por las lesiones neumónicas tomando como base el porcentaje del área total del pulmón, empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ DE LA LESION} = \frac{(\text{No. LVD} + \text{No. LVV})}{2} \cdot 01$$

En donde:

**No. LVD = Número de las lesiones de la vista dorsal**

**No. LVV = Número de las lesiones de la vista ventral**

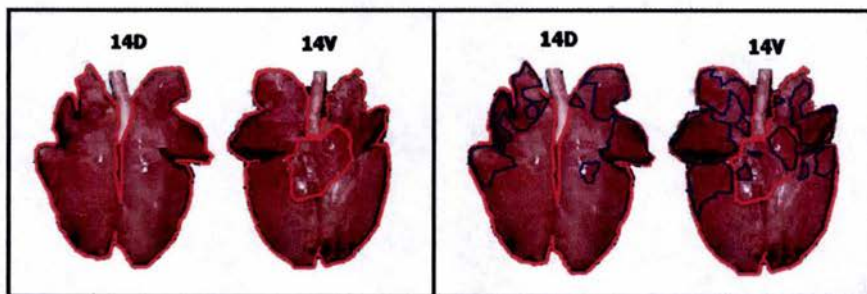
**2 = Es la representación de las dos vistas**

**.01 = Es el porcentaje del pulmón total**

Con los valores obtenidos de las lesiones pulmonares totales en porcentajes (cuadro2) se fotografió cada órgano por sus dos vistas, tanto dorsal como ventral, se escanearon para tener las imágenes disponibles en la utilización de la técnica de análisis de imágenes en donde se llevo a cabo una nueva evaluación de las lesiones de estos órganos.

### MÉTODO DE ANÁLISIS DE IMÁGENES

Al termino de la técnica de planimetría, se realizó la técnica de análisis digital de imágenes en el Centro de Investigaciones Avanzadas del Instituto Politécnico Nacional, el cual consistió en tomar fotografías de los órganos tanto dorsal como ventralmente, estas se escanearon para poder utilizar las imágenes en un equipo de computo(PC, con procesador Pentium IV y memoria de 256 RAM) utilizando el programa de análisis digital de imágenes Qwin (LEICA)<sup>TM</sup> a cada imagen de los pulmones se delimitó el contorno tanto ventral como dorsalmente, para obtener el área total del órgano (100%) (fig 11), posteriormente se midieron las zonas lesionadas delimitando solo el contorno de estas lesiones en ambas vistas del órgano( fig.12 ).



**Fig 11**

La línea marcó el contorno de ambas vistas; para obtener el porcentaje del área total del pulmón.

**Fig. 12**

Las líneas azules, muestran el contorno de las zonas lesionadas, de las cuales se obtuvo el porcentaje.



Con los datos obtenidos, ( cuadro 3) se procedió a trabajar con el programa Excel versión 7.0 (Microsoft)<sup>TM</sup> para efectuar el análisis estadístico por medio de la prueba "t" de Student de ambos y realizar una comparación entre ambas técnicas (cuadro 4).

El análisis estadístico se efectuó mediante la prueba de "t" de Student en la cual se llevó acabo la comparación de medidas con muestras apareadas para establecer la diferencia entre estas dos técnicas, en la obtención de porcentajes de daño por *Mycoplasma hyopneumoniae* a nivel macroscópico de pulmones de porcinos, estas medidas se obtuvieron a nivel superficial calculando el área lesionada.

### 5. RESULTADOS

Estos fueron los resultados que se obtuvieron después de realizar las Técnicas de planimetría y el análisis digital de imagen de los 29 pulmones de cerdo con lesiones por *Mycoplasma hyopneumoniae*

#### RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE PLANIMETRÍA

Cuadro 2

MUESTRA No.	LUGAR	FECHA	No. LVD	No. LVV	$\Sigma$ LVD, LVV	$\Sigma$ LVD, LVV / 2	$[\Sigma \text{ LVD, LVV} / 2] \cdot 0.01$	% LESION
1	CALIACAC	9/07/02	41	46	87	43.5	0.435	<b>43.5</b>
2	CALIACAC	9/07/02	40	48	88	44	0.44	<b>44</b>
3	POLVORIN	16/07/02	49	80	129	64.5	0.645	<b>64.5</b>
4	POLVORIN	16/07/02	14	11	94	47	0.47	<b>47</b>
5	POLVORIN	16/07/02	16	6	22	11	0.11	<b>11</b>
6	POLVORIN	16/07/02	16	21	37	18.5	0.185	<b>18.5</b>
7	TIERRA BLANCA	29/07/02	11	13	24	12	0.12	<b>12</b>
8	TIERRA BLANCA	29/07/02	10	0	10	5	0.05	<b>5</b>
9	CALIACAC	16/07/02	36	58	94	47	0.47	<b>47</b>
10	CALIACAC	16/07/02	47	62	102	54.5	0.545	<b>54.5</b>
11	POLVORIN	16/07/02	28	0	28	14	0.14	<b>14</b>
12	POLVORIN	16/07/02	26	24	50	25	0.25	<b>25</b>
13	CALIACAC	16/07/02	46	54	100	50	0.50	<b>50</b>
14	CALIACAC	22/07/02	48	59	107	53.5	0.535	<b>53.5</b>
15	CALIACAC	22/07/02	50	58	108	54	0.54	<b>54</b>
16	CALIACAC	22/07/02	45	65	110	55	0.55	<b>55</b>
17	TIERRA BLANCA	29/07/02	54	62	116	58	0.58	<b>58</b>
18	TIERRA BLANCA	29/07/02	83	93	176	88	0.88	<b>88</b>
19	CALIACAC	3/09/02	66	89	155	77.5	0.775	<b>77.5</b>
20	CALIACAC	3/09/02	19	4	23	11.5	0.115	<b>11.5</b>
21	CALIACAC	20/09/02	41	53	94	47	0.47	<b>47</b>
22	CALIACAC	23/09/02	53	54	107	53.5	0.535	<b>53.5</b>
23	CALIACAC	9/07/02	40	60	100	50	0.50	<b>50</b>
24	CALIACAC	21/09/02	44	52	96	48	0.48	<b>48</b>
25	CALIACAC	2/07/02	48	56	104	52	0.52	<b>52</b>
26	CALIACAC	2/07/02	85	79	164	82	0.82	<b>82</b>
27	CALIACAC	7/10/02	35	63	98	49	0.49	<b>49</b>
28	CALIACAC	7/10/02	55	82	137	68.5	0.685	<b>68.5</b>
29	CALIACAC	30/11/02	57	55	112	56	0.56	<b>56</b>

No. LVD = Número de lesiones de la vista dorsal.

No. LVV = Número de lesiones de la vista ventral

$\Sigma$  LVD, LVV = Sumatoria de lesiones de ambas vistas

$\Sigma$  LVD, LVV / 2 = Sumatorias de lesiones de ambas vistas dividida entre dos.

$[\Sigma \text{ LVD, LVV} / 2] \cdot 0.01$  = Sumatorias de lesiones de ambas vistas dividida entre dos y multiplicada por . 01

**RESULTADO DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE IMAGENES**

Cuadro 3

<b>MUESTRA No.</b>	<b>LUGAR</b>	<b>FECHA</b>	<b>AT</b>	<b>AL</b>	<b>AL*100/AT</b>	<b>% LESION</b>
1	CALIACAC	9/07/02	2569306.7	895886.78	34.8688139	<b>34.87</b>
2	CALIACAC	9/07/02	4373959.4	1925793.05	44.0285991	<b>44.03</b>
3	POLVORIN	16/07/02	8326877.9	4835780.94	58.0743587	<b>58.07</b>
4	POLVORIN	16/07/02	562298.69	64333.45	11.4411524	<b>11.44</b>
5	POLVORIN	16/07/02	4167200.3	482966.897	11.5897212	<b>11.59</b>
6	POLVORIN	16/07/02	666808.02	145969.28	21.8907505	<b>21.89</b>
7	TIERRA BLANCA	29/07/02	938886.05	56979.4	6.06883018	<b>6.07</b>
8	TIERRA BLANCA	29/07/02	779610.88	86676.945	11.1179753	<b>11.12</b>
9	CALIACAC	16/07/02	3051375.9	1397663.98	45.8043855	<b>45.8</b>
10	CALIACAC	16/07/02	3159704	1766427.74	55.9048487	<b>55.9</b>
11	POLVORIN	16/07/02	544433.57	46054.154	8.4590952	<b>8.46</b>
12	POLVORIN	16/07/02	537194.1	151208.991	28.1479247	<b>28.15</b>
13	CALIACAC	16/07/02	834029.78	436422.657	52.3269873	<b>52.33</b>
14	CALIACAC	22/07/02	5666452.9	2656952.04	46.8891577	<b>46.9</b>
15	CALIACAC	22/07/02	7574122.2	2974168.98	39.2675072	<b>39.27</b>
16	CALIACAC	22/07/02	5462724.6	1554631.4	28.4589012	<b>28.46</b>
17	TIERRA BLANCA	29/07/02	4038899.54	1533084.58	37.9579775	<b>37.96</b>
18	TIERRA BLANCA	29/07/02	4276731.93	1801123	42.1144703	<b>42.11</b>
19	CALIACAC	3/09/02	1500423.72	560278.39	37.3413445	<b>37.34</b>
20	CALIACAC	3/09/02	7532462.3	912789.97	12.1180822	<b>12.12</b>
21	CALIACAC	20/09/02	1632156.2	216173.661	42.8414207	<b>42.8</b>
22	CALIACAC	23/09/02	6100110	2130132.6	26.42337924	<b>26.42</b>
23	CALIACAC	9/07/02	6232710	1646892.6	49.0825939	<b>49.08</b>
24	CALIACAC	21/09/02	5082575.4	1297871.45	25.5357048	<b>25.53</b>
25	CALIACAC	2/07/02	5215790.6	1972357.83	37.8151268	<b>37.81</b>
26	CALIACAC	2/07/02	5179388.94	4088848.13	78.9446048	<b>78.94</b>
27	CALIACAC	7/10/02	4231630	1452211.2	34.3180098	<b>34.32</b>
28	CALIACAC	7/10/02	3499475.1	1695310.76	48.4447156	<b>48.44</b>
29	CALIACAC	30/11/02	1422564.04	757808.181	53.2705846	<b>53.27</b>

AT = área total del órgano.

AL = área de lesión del órgano.

100= porcentaje total del órgano.

%L = porcentaje lesionado del órgano.



## COMPARACIÓN DE LOS VALORES EN PORCENTAJES DE LAS DOS TÉCNICAS

### PLANIMETRÍA Y ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES

Cuadro 4

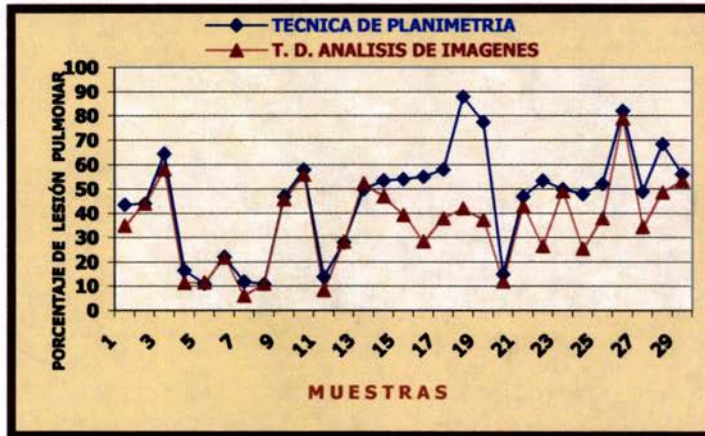
No. MUESTRA	% LESION	
	PLANIMETRIA	ANALIZADOR DE IMAGENES
1	43.5	34.87
2	44	44.03
3	64.5	58.07
4	16.5	11.44
5	11	11.59
6	22	21.89
7	12	6.07
8	11	11.12
9	47	45.8
10	58	55.9
11	14	8.46
12	28	28.15
13	50	52.33
14	53.5	46.9
15	54	39.27
16	55	28.46
17	58	37.96
18	88	42.11
19	77.5	37.34
20	15	12.12
21	47	42.8
22	53.5	26.42
23	50	49.08
24	48	25.53
25	52	37.81
26	82	78.94
27	49	34.32
28	68.5	48.44
29	56	53.27

En este cuadro se muestran los porcentajes de las dos técnicas con un promedio final para la técnica de planimetría de 45.81% y del análisis digital de imágenes de 35.55%,



**GRAFICA DE LA COMPARACIÓN DE AMBAS TÉCNICAS DEACUERDO  
A LOS PORCENTAJES DE LESIÓN OBTENIDOS**

Grafica



En esta grafica se observa la comparación de los valores en porcentajes de la técnica de planimetría contra la técnica de análisis digital de imágenes en donde se puede apreciar que en la técnica de planimetría, los valores son más altos en las muestras 1,15,16,17,18,19,22,24,28, en donde encontramos que estas alteraciones son causa de el modo en que se captaron las imágenes así como el estado físico de los pulmones, el tipo de equipo fotográfico que se empleo para este trabajo.

En cuanto a los resultados estadísticos se obtuvo que por medio de la prueba de "t" de Sudent se obtuvo un valor estadísticamente significativo de ( $p \leq 0.001$ ), por lo que los métodos son diferentes, la técnica de planimetría da valores mayores 45.81% y que la técnica de Análisis de Imágenes es de 35.55%, la variación del porcentaje entre ambas técnicas se encuentra entre 3.8178 y 16.7346%.

## 5. DISCUSION

Las técnicas de evaluación de lesiones pulmonares han sufrido cambios a lo largo de los últimos años <sup>(14)</sup>.

Se ha utilizado en investigaciones anteriores la técnica de planimetría, propuesta por el Dr. Abel Ciprian <sup>(6)</sup>, dicha técnica tiene ventajas como son las siguientes; Se puede realizar en condiciones de campo, es económica, rápida sin embargo esta técnica presenta errores de precisión y se considera laboriosa, por lo que se emplea un diagrama y una plantilla de un pulmón normal, para cada pulmón.

El estudio por el Análisis de Imágenes es una técnica digital avanzada que permite cuantificar de una manera mas exacta las lesiones pulmonares a nivel macroscópico, pero esta técnica es costosa y de poca accesibilidad hasta el momento, se ha empleado solamente a nivel de investigación.

En este estudio se encontró una diferencia estadísticamente significativa de ( $p \leq 0.001$ ), resultando mejor la técnica de análisis de imágenes.

En los resultados obtenidos se encontró que las muestras 1, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 24 y 28 de la técnica de planimetría, presentaron un valor mayor en los porcentaje en comparación con la técnica de análisis digital de imágenes (grafica 1) por lo que se le atribuye:

- A)** El trabajar con órganos congelados y refrigerados se encuentran alteraciones en cuanto a lesiones.
- B)** El tiempo de congelamiento de los órganos también es importante, mientras mas tiempo estén en ese estado no será posible apreciar adecuadamente las áreas lesionadas.
- C)** En la técnica de planimetría se observo que origina errores de preescisión por que al emplear una plantilla (diagrama B), se marcan las zonas con lesión y sin

lesión, esto originó que los porcentajes fueran mas altos en comparación con la técnica de análisis digital de imágenes, en esta solo se obtuvieron los valores de las áreas lesionadas.

- D)** El uso de cámara fotográfica convencional (CANON) , en donde el acercamiento no fue suficiente para apreciar adecuadamente el limite de las zonas lesionadas.
- E)** El empleo de una cámara digital (EPSON), en donde las imágenes obtenidas se captaban y guardaban en un JPG y posteriormente a un formato TIF, que el contraste del color no es el mismo.  
a una imagen natural, la coloración cambia.
- F)** La forma de tomar las fotografías, en cuanto a la iluminación al momento de fotografiar a los pulmones.
- G)** La utilización de monitores diferentes en donde varia el color, la nitidez y el brillo de las imágenes.
- H)** La forma de tomar las fotografías, en cuanto a la iluminación al momento de fotografiar a los pulmones.
- I)** La nitidez de las imágenes en cuanto al color de las áreas lesionadas que se emplearon en el análisis digital de imágenes.

Estos factores originaron alteraciones en los porcentajes, por lo que es importante que la valoración se lleve acabo con órganos frescos ya que las lesiones presentes en el pulmón se observaran mejor; que en un órgano congelado o refrigerado para emplear ambas técnicas y preferentemente para obtener resultados mas acertados, en el caso de utilizar la técnica de análisis digital de imágenes, es importante y adecuado la utilización de órganos frescos y mandar la imagen directamente, para la obtención de los porcentajes de lesiones macroscópicas de los pulmones.

Se recomienda el uso de la técnica de análisis de Imágenes ya que ofrece datos estadísticamente significativos, por ser más precisa y complementa a la técnica de

planimetría, por tener una mayor confiabilidad de los resultados de enfermedades respiratorias.

Otro aspecto de este trabajo es la incursión del uso de esta metodología digital la cual permitirá su aplicación en investigaciones futuras.



## 7. CONCLUSIONES.

Al termino de este trabajo en donde se llevo acabo la evaluación comparativa de las lesiones pulmonares por *Mycoplasma hyopneumoniae* de 29 muestras de pulmones porcinos, mediante las técnicas de planimetría y el análisis de imágenes:

- ❖ La técnica de planimetría, origina errores en la interpretación de los resultados por que evalúa zonas lesionadas y no lesionadas.
  
- ❖ La técnica de análisis digital de imágenes es la más adecuada para obtener el porcentaje de lesiones pulmonares ya que evalúa solo las zonas lesionadas.

En la comparación de ambas técnicas, se obtuvo un valor estadísticamente significativo de ( $p \leq 0.001$ ), por lo que los métodos son diferentes, la técnica de planimetría arroja valores de 45.81% en comparación con la técnica de análisis digital de imágenes que es de 35.55%, se encuentra una variación del porcentaje entre ambas técnicas de 3.8178 y 16.7346%.

## 8. LITERATURA CITADA

1. Blood. D. C, Radostits O. M, J. A Henderson "Medicina veterinaria", Vol. 1, 7<sup>a</sup> edición, edit. Interamericana Mc Graw-Hill. 1992, Tema "Neumonía Enzoótica "
2. Calsamiglia M, Unidad de Histología y Anatomía Patología. Departamento de Anatomía y Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria. U.A de Barcelona, Bella Terra Barcelona, 2000. Tema "*Mycoplasma hyopneumoniae* "
3. Carlyle T. J, Hunt R. D, King N. W, Veterinary Pathology, 6<sup>th</sup> edition, 1997, Marylan, U.S.A., Tema "Enfermedades respiratorias del cerdo"
4. Cartón W.W., McGavin M. Donald, Thomson's. "Special Veterinary Pathology", 2<sup>nd</sup> edition, Mosgy, 1995, U.S.A. Tema "Pneumonias of pig"
5. Christensen, N.H "Evaluation of the effects of enzootic pneumonia in pig on gain and days to slaughter under New Zelanda Conditions, N. Zeal. Vet. J .43 : 146-148, 1995.
6. Ciprián Abel, Mendoza S, Memorias del curso de Enfermedades Respiratorias del Cerdo, edit. Fort Doge Aanimal Health, Línea Porcina, Cuautitlán Izcalli Edo de Méx. Agosto 2001,
7. Cruz S. T, "Efecto de la infección experimental de *Mycoplasma hyopneumoniae* sobre la inmunidad celular en el pulmón de lechones "Tesis; Fac. de Est. Sup. Cuautitlán; UNAM; México; 2000.
8. Díaz E. F, Asesor Técnico Especialista en Cerdos, "Todo lo que usted quiere saber sobre *Mycoplasma hyopneumoniae*, Porcicultura 2000-2002.

9. Edwards. M.J.et al. Vet.: J.47,4777. "Enfermedades Respiratorias del Cerdo"  
Aust. 2000.
10. Fuentes M. PhD. Laboratorios Biogram, C.A., "Entendiendo el Complejo  
Respiratorio Porcino", (en linea) Venezuela Porcina 2000.
11. Hans P, Klaus B. "Manual de las enfermedades del cerdos" editorial Acribia.  
S.A. España. 2001
12. Joachim B, "Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos", Tomo  
I, Edit. Acribia, 1ª reimpresión, 1987, Zaragoza (España), Tema  
"Enfermedades Bacterianas"
13. Kobisch M. y N. F. Friis, "Mycoplasmosis porcina", (en linea) Rev. Sci.  
Tach.Off. int. Epiz 1996, 15 (4), 1569-1606.
14. Leica, Guia del Usuario para Leica Qwin, Copyrigh © Imaging Systems Ltd,  
Cambridge England, Versión: 1, Julio 1997.
15. Leman D. Allen, Straw B. E., Mengeling W. L., Disease of swine, 7<sup>th</sup> edition,  
Iowa State University Press/ Ames, 1992, Iowa, U.S.A. Tema "Mycoplasmal  
Pneumonia of Swine"
16. López L. A. "Aislamiento de Micoplasmas de una granja porcina con  
mortalidad de lechones" Tesis Fac. de Est. Sup. Cuautitlán; UNAM; México;  
1998
17. Manual Merck de veterinaria 3ª edición en español, edit Centrum Rahway,  
N.J, U.S.A. 1994, Barcelona, España, Tema "Neumonía Enzoótica"

18. Pérez G.I. "Procesos respiratorios en el cebo porcino: Factores predisponentes y etiológicos", (en línea) Departamento Técnico de Scherir Plough, 2001
19. Ross, R. F Mycoplasma Diseases, In: "Diseases of swine" 6<sup>th</sup>, Eds Leman Ad. Iowa State University Press, Ames. Tema "Enfermedades micoplásmicas"
20. Smith W.J., D.J Taylor. R. H. C. penny, A Colour Atlas of "Diseases and Disorders of the pig." , Published by wolfe, Publisihing Ltd 1990. Tema "Infección por Mycoplasma hyopneumoniae"
21. Straw E. Barbara, D' Allaire S, Mengelin L. William, Taylor J David "Enfermedades del cerdo" 8<sup>o</sup> edic, edt Intermedica Buenos Aires 1999,.
22. Taylor D.J. Enfermedades del Cerdo, 2<sup>a</sup> edición, edit. Manual Moderno, S.A. de C.V., México, 1992.
23. Taylor D.J., Pig Diseases, 5<sup>th</sup> Edition, The Burlington Press (Cambridge) Ltd, Great Britain, 1991.
24. Williams JJ, Torres LMA, Sansor NR, "Prevalencia, caracterización y extensión de las lesiones en pulmones de cerdos sacrificados en el rastro municipal de Mérida Yucatán, México", Rev. Biomed 2000; 11(1): 25-32.



## Consultas en Internet

- ❖ [http://www.Cranmer Lawrence & Company Ltd](http://www.CranmerLawrence&CompanyLtd.com) - Husky FS2 Assets For Sale, Hire, Rental.htm
- ❖ [http://www. Ciencias, veterinarias.com](http://www.CienciasVeterinarias.com) (WEB Consejo Gral. De Colegios Veterinarios en España.)
- ❖ [http://www.bacteriascarentes. de pared celular htm.](http://www.bacteriascarentes.com)
- ❖ [http://www. pic.com.](http://www.pic.com) "Enfermedades Respiratorias del Cerdo"
- ❖ [http://www.WEB SANINET 2000.](http://www.WEBSANINET2000.com) "*Mycoplasma hyopneumoniae*"
- ❖ [http://www.micoplasmas vm.iastate. edultab-site/lac.gif](http://www.micoplasmasvm.iastate.edu)
- ❖ <http://www.pfizer.com> "Lung Lesion Analysis Guide"
- ❖ <http://www.thepigsite.com> "Enzootic Pneumonia, EP, Mycoplasma hyopneumoniae Infección",
- ❖ [http://www.swine.htm.](http://www.swine.htm) "Neumonía Enzoótica"
- ❖ [http://www.mi examen.com](http://www.mexamen.com)-"enfermedades respiratorias.
- ❖ <http://www.cienciasveterinarias.com/>
- ❖ <http://www.e-campo.com>-"*Mycoplasma hyopneumoniae*: Diagnostico e inmunidad"
- ❖ [http://www.mi tierra.com](http://www.mitierra.com) -Diario noticias "Neumonía enzoótica de los porcinos" 28junio2000
- ❖ <http://www.oie.int/> revista científica y técnica, vol.15(4),diciembre de 1996"las micoplasmosis animales y su control" ,
- ❖ <http://www.garth.demon.co.uk> "Neumonía Enzoótica"
- ❖ [http://www.MDLabs Services;](http://www.MDLabsServices.com) laboratory Diagnosis of Mycoplasma Infections.
- ❖ [http://www.myco/enfermedades neumónicas en bovinos, cerdos y aves:](http://www.myco.com) "Cerdos"

- ❖ <http://www.porcicultura.com>. "Entendiendo el Complejo Respiratorio Porcino"
- ❖ <http://www.principiosbasicosenlacriadelcerdo.htm> M.V.Z. Héctor Avilan. Pharmacia & Upjohn.
- ❖ <http://www.grupoveterinarioGarth> "breve resumen de las enfermedades porcinas"
- ❖ <http://www..exopol.com/micro/microsero.html>. "Mycoplasmas en pequeños rumiantes"
- ❖ <http://www.epicentre.massey.ac.nz/staerk7.htm> Katharina DC Särth "Risk Factors for Respiratory Diseases in new Zeland pig Herds."