

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

*Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“DETERMINACIÓN DE LOS TÍTULOS DE ANTICUERPOS POST
VACUNALES DE *Mycoplasma hyopneumoniae* MEDIANTE LA
TÉCNICA DE ELISA CUANTITATIVA EN CERDOS DE RECRÍA Y
ENGORDE”**

AUTOR:

MARCO DAVID LEÓN APOLO

TUTOR:

DR. JUAN LEONARDO MASACHE MASACHE

CUENCA - ECUADOR

2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Marco David León Apolo con documento de identificación N° 0705750123, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación: **“DETERMINACION DE LOS TÍTULOS DE ANTICUERPOS POST VACUNALES DE *Mycoplasma hyopneumoniae* MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA CUANTITATIVA EN CERDOS DE RECRÍA Y ENGORDE”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Médico Veterinario Zootecnista*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor, me reservo los derechos morales de la obra citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, noviembre de 2021.



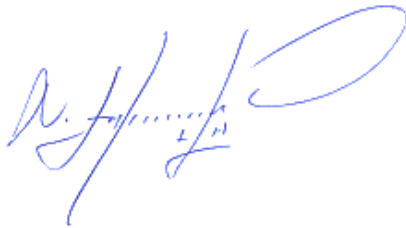
Marco David León Apolo

C.I. 0705750123

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación:
**“DETERMINACION DE LOS TÍTULOS DE ANTICUERPOS POST VACUNALES DE
Mycoplasma hyopneumoniae MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA CUANTITATIVA
EN CERDOS DE RECRÍA Y ENGORDE”**, realizado por Marco David León Apolo,
obteniendo el *Trabajo Experimental* que cumple con todos los requisitos estipulados por la
Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, noviembre de 2021.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Dr. Juan Leonardo Masache Masache', with a large, stylized flourish at the end.

Dr. Juan Leonardo Masache Masache

C.I. 1103109003

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Marco David León Apolo con documento de identificación N° 0705750123, autor del trabajo de titulación: **“DETERMINACION DE LOS TÍTULOS DE ANTICUERPOS POST VACUNALES DE *Mycoplasma hyopneumoniae* MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA CUANTITATIVA EN CERDOS DE RECRÍA Y ENGORDE”**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, noviembre de 2021.



Marco David León Apolo

C.I. 0705750123

DEDICATORIA

Dios, a mis padres Marco Belisario León y Aydee Margarita Apolo por darme su apoyo todo momento, por sus sabios consejos y por sus esfuerzos que gracias a ustedes he podido culminar con mis estudios y ser un profesional, a mis hermanos: Juan, Josué, Cristel y Matías por ser parte de mi vida y mi familia que siempre han estado presente en los momentos más difíciles.

AGRADECIMIENTO

Primeramente, quisiera agradecer a Dios por siempre estar a mi lado guiándome por un buen camino concediéndome su bendición no solo a mí, también a toda mi familia y por darme unos padres maravillosos que gracias a ellos estoy cumpliendo con mis metas.

Mi más profundo agradecimiento a todos los profesionales que conforman la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por compartir a lo largo de la carrera universitaria con sus conocimientos y experiencias que nos sirve para crecer como profesionales y como personas.

También a mi tutor el Dr. Juan Masache por compartir con sus experiencias a lo largo de la carrera universitaria y ahora por ser la guía de mi trabajo experimental.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	14
ABSTRAC	15
1. INTRODUCCIÓN	16
1.1. Problema.....	17
1.2. Delimitación	17
1.2.1. Temporal	17
1.2.2. Espacial	18
1.2.3. Académica.....	18
1.3. Explicación del problema	18
1.4. Objetivos.....	19
1.4.1. Objetivo general	19
1.4.2. Objetivos específicos.....	19
1.5. Hipótesis	19
1.6. Fundamentación teórica.....	20
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y DOCUMENTAL	21
2.1 Producción de cerdos.....	21
2.2 Repercusión económica por neumonía enzoótica porcina	22

2.3 Origen y Difusión de los cerdos	23
2.4 Clasificación zoológica del cerdo.....	23
Animal	23
: Mamíferos (sus crías se alimentan de leche proveniente de una glándula mamaria)....	23
Artiodáctilos (mamíferos con pezuñas con dedos en cantidad par)	23
<i>Sus</i>	23
Especie:.....	23
Scrofa, Indicus	23
2.5 Sistema de Alimentación	23
2.6 Neumonía Enzootica Porcina	24
2.6.1 Etiología.....	24
2.6.2 Epizootiología.....	25
2.6.3 Transmisión del <i>Mycoplasma</i>	25
2.6.4 El grado de transmisión vertical	26
2.6.5 El grado de transmisión horizontal	26
2.6.6 Las condiciones de manejo, alojamiento y la época del año	26
2.7 Patogenia del <i>Mycoplasma</i>	26
2.7.1 Colonización del epitelio ciliado	26
2.7.2 Modulación de la respuesta inmunitaria adaptativa e innata	27
2.7.3 Estimulación de una reacción inflamatoria prolongada.....	27
2.7.4 Interacción con otros patógenos	28

2.8 Sintomatología.....	28
2.9 Lesiones.....	29
2.9.1 Macroscópicas	29
2.9.2 Microscópicas	29
2.10 Antígenos del <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	29
2.11 Inmunidad.....	30
2.12 Diagnóstico para Mycoplasma	31
2.13 Muestras de sangre para diagnóstico.....	31
2.14 Métodos para extracción de sangre	31
2.15 Sitios de obtención de la muestra en cerdos.....	32
2.16 Obtención de suero sanguíneo.....	33
2.17 Técnica de ELISA	34
2.18 Tipos de ELISA	34
2.18.1 ELISA Directo	34
2.18.2 ELISA Competitivo Directo	35
2.18.3 ELISA Indirecto.....	35
2.18.4 ELISA no Competitiva tipo Sándwich	35
2.19 Método de valoración Cuantitativa	36
2.20 Técnica Elisa para Mycoplasma Hyopneumoniae	36
1.6.1. Componentes del kit.....	38
2. MATERIALES Y MÉTODOS	39

3.1	Materiales	39
3.1.1.	Físicos	39
3.1.2.	Biológicos.....	40
3.1.3.	Químicos	40
3.2.	MÉTODOS.....	41
3.2.1.	Diseño estadístico.....	41
3.2.2.	Selección y tamaño de la muestra	41
3.2.3.	Obtención de muestras sanguíneas.....	41
3.2.4.1.	Preparación de la solución de lavado.....	41
3.2.4.2.	Procedimiento	42
3.2.4.3.	Validación.....	42
3.2.4.4.	Interpretación	42
3.3.	Consideraciones éticas.....	44
4.	RESULTADO Y DISCUSIÓN	45
3.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	63
5.1	Conclusiones.....	63
5.2	Recomendaciones	63
8.	ANEXOS.....	70

INDICICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Mapa del sitio del ensayo	18
<i>Figura 2:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 6 en s/n %	47
<i>Figura 3:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 7 en s/n %	48
<i>Figura 4:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 8 en s/n %	49
<i>Figura 5:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 9 en s/n %	50
<i>Figura 6:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 10 en s/n %	50
<i>Figura 7:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 11 en s/n %	51
<i>Figura 8:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 12 en s/n %	52
<i>Figura 9:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 13 en s/n %	53
<i>Figura 10:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 14 en s/n %	54
<i>Figura 11:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 15 en s/n %	55
<i>Figura 12:</i> Carga de anticuerpos presentes en la semana 16 en s/n %	56
<i>Figura 13:</i> Animales con o sin Ac de mycoplasma de la semana 6 a la semana 10.....	57
<i>Figura 14:</i> porcentaje de anticuerpor presentes de la semana 6 a la 10	57
<i>Figura 15:</i> Animales con o sin Ac de mycoplasma de la semana 11 a la semana 16.....	58
<i>Figura 16:</i> porcentaje de anticuerpor presentes de la semana 11 a la 16	59
<i>Figura 17 :</i> Animales para el estudio	70
<i>Figura 18 :</i> Insumos utilizados para el muestreo	70
<i>Figura 19:</i> desinfeccion del arrea donde se tomó la muestra sanguínea.....	71

<i>Figura 20:</i> Obtención de la muestra en la vena de la oreja.....	71
<i>Figura 21:</i> Obtención de la muestra por el abdomen.....	72
<i>Figura 22:</i> muestras para el transporte	72
<i>Figura 23:</i> muestras con el suero sanguíneo separado.....	73
<i>Figura 24:</i> Kit de ELISA competitiva para mycoplasma.....	73
<i>Figura 25:</i> Sueros sanguíneos	74
<i>Figura 26:</i> Placas del kit de ELISA listas para la lectura en el equipo..	74
<i>Figura 27 :</i> Equipo de ELISA para la lectura de la placa.	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Materiales Físicos</i>	39
Tabla 2. <i>Materiales Biológicos</i>	40
Tabla 3. <i>Materiales Químicos</i>	40
Tabla 4. <i>Variables dependientes: plasma sanguíneo</i>	43
Tabla 5. Variables independientes: Cerdos de recría y engorde	43
Tabla 6: Resultados obtenidos, para evaluar los niveles de Ac presentes, en mycoplasma	45
Tabla 7: prevalencia de mycoplasma entre la semana 6 a la semana 10	47
Tabla 8: prevalencia de mycoplasma entre la semana 10 a la semana 16	58

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación surgió debido a que en la granja porcina “San Marcos”, ubicada en el cantón Piñas de la provincia de El Oro. Los animales del hato porcino presentaban síntomas tales como: tos seca, bajos de peso y secreciones nasales entre la semana 6 a la 16 de edad; a pesar de que estos ya estaban vacunados contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en la que la primera dosis fue aplicada entre los 7 a 10 días de edad, y la segunda dosis a los 28 a 30 días, en la que tuvo en consideración que las madres no estaban vacunadas previamente. Las muestras fueron tomadas de 6° a la 16° semana de edad. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: los niveles de anticuerpos presentes en los animales en las primeras semanas son bajas, ya que en este caso se esperaba que sean altos debido a que ya estaba vacunados días antes, de la 6° a 10° semana la prevalencia de la enfermedad está entre 10,59%; y desde la 10° a la 16° semana la prevalencia subió ligeramente a 13,45%; y contando con una prevalencia general de 13,37%. Por la que se llegó a concluir que la presencia de la enfermedad se encuentra circulando en la granja.

ABSTRAC

In the present research work it arose due to the fact that in the pig farm "San Marcos", located in the Piñas canton of the province of El Oro. The pig herd animals presented symptoms such as: dry cough, low weight and nasal secretions between 6 to 16 weeks of age; despite the fact that they were already vaccinated against *Mycoplasma hyopneumoniae* in which the first dose was applied between 7 to 10 days of age, and the second dose at 28 to 30 days, in which it was taken into consideration that the mandibles were not previously vaccinated. Samples were taken from 6th to 16th week of age. The results obtained were as follows: the levels of antibodies present in the animals in the first weeks are low, since in this case they were expected to be high because they were already vaccinated days before, from the 6th to 10th week the prevalence of the disease is between 10.59%; and from the 10th to the 16th week the prevalence rose slightly to 13.45%; and with a general prevalence of 13.37%. For which it was concluded that the presence of the disease is circulating in the farm.

1. INTRODUCCIÓN

El *Mycoplasma hyopneumoniae* se presenta mayormente en granjas con alta densidad de población, una ventilación inadecuada y niveles elevados de amoníaco en la atmósfera, también se ha señalado que la temperatura y la humedad modifican la capacidad de penetración del microorganismo a los pulmones, porque alteran el tamaño de las partículas de aerosoles infectadas y el mecanismo protector de las vías respiratorias, además de alterar la sedimentación de dichas partículas (Ibarra, Noé, Alvarado, y Perales, 2000, p.64).

“Las pruebas serológicas son las únicas técnicas para detectar la infección de *M. hyopneumoniae* en animales vivos dentro de una explotación, aunque puede presentar ciertas limitaciones, ya que el largo período de tiempo entre la infección y la seroconversión y el índice variable de seroconversión hace que el uso de la serología para determinar el momento de la infección sea difícil, ya que puede ser tardía y variable” (Hegel, 2010, p.11).

Según el estudio realizado por (Abeledo, Ruano, Vega, y Lobo, 2005) para determinar la presencia de anticuerpos de *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos provenientes de tres granjas, donde se encontró una elevada prevalencia de anticuerpos en reproductoras y crías en una de las unidades, sin diferencias significativas entre ellas.

“Por otro lado, para el diagnóstico de la NEP la presencia de signos clínicos y la inspección de lesiones pulmonares en frigorífico son utilizadas para un diagnóstico presuntivo, pero técnicas de laboratorio como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la serología (más específicamente ensayo inmunoenzimático-ELISA-), entre otras, son necesarias para el diagnóstico definitivo del agente” (Bautista, Tiranti, Ferrero, Ambrogi y Tamiozzo, 2016, p.10).

1.1. Problema

El *Mycoplasma hyopneumoniae* es uno de los más importantes patógenos que generan enfermedad en la producción porcina, es el agente etiológico de la neumonía enzoótica en los cerdos, que genera grandes pérdidas económicas y su infección puede combinarse con la acción de otros patógenos produciendo un síndrome llamado Complejo Respiratorio Porcino.

Las pruebas serológicas desempeñan un papel importante en el seguimiento y mantenimiento del nivel de salud de las explotaciones porcinas, estas pruebas serológicas se utilizan para el seguimiento clínico de enfermedades, para determinar los niveles de salud en una granja, para manejar las estrategias de introducción de animales de reemplazo y para evaluar planes de vacunación (Secundino, 2015).

El motivo de realizar esta investigación es para determinar los niveles de anticuerpos de *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos clínicamente enfermos donde sospechamos la presencia de *mycoplasma hyopneumoniae* y que mediante la técnica de ELISA podremos verificar o determinar si este patógeno es el causante principal de estos animales clínicamente enfermos.

1.2. Delimitación

1.2.1. Temporal

El presente trabajo tuvo una duración de cuatrocientas horas, las cuales fueron distribuidas en el proceso experimental (redacción del proyecto, toma de muestras, recolección de información (encuestas para los animales clínicamente enfermos), procesamiento de la muestra (ELISA), tabulación de datos y escritura del documento final.

1.2.2. Espacial

La presente investigación se realizó en el sitio las Palmas, Parroquia Saracay del cantón Piñas, provincia El Oro, ubicada 450 msnm, con una temperatura que varía de 24 -30°C y su longitud es 110 km². En cerdos de recría y engorde de la granja porcina (San Marcos), los análisis serológicos se llevaron a cabo en el laboratorio clínico veterinario de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia ubicado en la clínica veterinaria Polivet de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

Figura 1. Mapa del sitio del ensayo



Fuente: (Google Maps, 2019)

1.2.3. Académica

Con el presente trabajo investigativo se pretende fortalecer los conocimientos adquiridos en el aula y así poder proporcionar datos que nos permitan tener un mejor control a la enfermedad del *Mycoplasma* en cerdos.

1.3. Explicación del problema

Es de considerable importancia realizar los estudios respectivos en el sitio las Palmas, Parroquia Saracay del cantón Piñas debido a que existen muchas explotaciones porcícolas y también está presente la enfermedad en la zona, por lo que la contribución de este estudio

respectivo puede despertar interés en los criadores haciendo que mejoren sus explotaciones de una forma más eficiente, disminuyen las pérdidas económicas que ocasiona esta enfermedad ya que para muchos la porcicultura representa el sustento del diario vivir.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Diagnosticar los niveles de anticuerpos post vacunales de *Mycoplasma hyopneumoniae* mediante la técnica de ELISA cuantitativa en cerdos de recría y engorde.

1.4.2. Objetivos específicos

- Medir los niveles de anticuerpos post vacunales de *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos de recría y engorde de la semana seis hasta la semana 16.
- Calcular la prevalencia de *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos de recría de la semana 6 a la 10.
- Calcular la prevalencia de *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos de engorde de la semana 11 a la 16.

1.5. Hipótesis

H0: Los cerdos de recría y engorde no presentan anticuerpos post vacunales contra el *Mycoplasma hyopneumoniae*.

H1: Los cerdos de recría y engorde presentan anticuerpos contra el *Mycoplasma hyopneumoniae*.

1.6.Fundamentación teórica.

La presente investigación estuvo encaminada en conseguir datos que nos ayuden a dar una conclusión eficaz de los resultados obtenidos y de esta manera brindar recomendaciones en lo que concierne a la enfermedad de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

En la actualidad las personas están creando conciencia de la importancia de controlar la enfermedad de mycoplasma por las muchas pérdidas económicas que produce esta enfermedad, con el aporte de esta investigación los productores tendrán mayor conocimiento de la enfermedad y de los estudios que pueden realizar para comprobar si tienen o no la enfermedad.

De esta manera los resultados obtenidos en esta investigación servirán de referencia al cantón Piñas para seguir investigando y controlando esta enfermedad en los cerdos.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y DOCUMENTAL

2.1 Producción de cerdos

Según la FAO (2016) menciona que la carne roja de mayor consumo mundial es la carne de cerdo, cuya demanda en las últimas décadas ha experimentado un fuerte incremento.

La producción de los cuatro tipos de proteína animal terrestre más significativos a nivel mundial (cerdo, aves, bovinos y ovinos) ha registrado un crecimiento anual de 2.3% en el período 2000-2013 hasta alcanzar un total de 303 millones de toneladas métricas (TM) en el último año, según datos de FAOSTAT. La carne de cerdo creció a un ritmo de 2.1% anual para mantenerse en primer lugar, destacando luego el mayor crecimiento de la producción de aves (3.6% anual en igual lapso) que le llevó a ubicarse como la segunda más importante, relegando al tercer lugar a la carne de bovinos (cuyo aumento anual fue de 1.1%), mientras la producción ovina (con un aumento anual de 1.5%) conservaba una importancia menor dentro del grupo (Plaza, 2016, p. 5).

La carne de cerdo al ocupar el primer lugar de consumo a nivel mundial esta exige que se aumenten las producciones, por lo tanto, la presencia de distintas enfermedades se hace notable.

Las enfermedades respiratorias se consideran uno de los problemas de salud animal más importantes en la producción porcina. El *Mycoplasma hyopneumoniae* es el agente bacteriano primario más importante, con baja mortalidad, disminución de la ganancia media diaria de peso, la conversión alimenticia y daños al epitelio ciliados de las vías aéreas y los pulmones . (Aricapa, Jaramillo, Mesa, Martínez y Suikan, 2010, p. 37).

La sintomatología clínica y las pérdidas económicas son de diversa magnitud y como resultado de una compleja interacción con bacterias secundarias, deficiencias en el manejo

y condiciones medio ambientales adversas (Torres, et al., 2006, p. 59, como se citó en Camacho, 2000).

2.2 Repercusión económica por neumonía enzoótica porcina

Las enfermedades respiratorias son problemas que afectan la industria porcina mundial ocasionando alta morbilidad, afectando la rentabilidad de granjas porcinas, ya que las tasas de crecimiento de los cerdos afectados al llegar a la etapa de acabado son inferiores a las óptimas. Entre estas enfermedades, la neumonía enzoótica es una de las causas principales del retraso en el crecimiento en los porcinos. Además de frenar el crecimiento, esta enfermedad, aún en la forma subclínicas, disminuye la eficiencia de la conversión del alimento, incrementando los costos y reducción en los márgenes de ganancia. También producen un crecimiento desigual que prolonga los días de retención de los animales más afectados en los corrales, ocasionando que las instalaciones sean ocupadas por más tiempo, reduciendo aún más el rendimiento (Valdivia y Calle, 1999, p. 71).

Esta enfermedad constituye una de las causas que producen mayores pérdidas económicas en granjas de producción intensiva. En la actualidad su mayor presentación se establece desde la fase de transición hasta el engorde. Es probable que su mayor incidencia en los últimos años esté asociada con cambios en los sistemas de producción más que con la aparición de nuevos patógenos. Nuevas tecnologías, instalaciones, manejo, todo dentro-todo fuera, la producción en dos, tres y múltiples sitios han generado granjas más grandes, con altas tasas de reposición, orígenes múltiples, destetes precoces, edades variables al destete, con impacto sobre presión de infección-estado inmune de los animales, lo que afecta a la epidemiología de la enfermedad, siendo por tanto, más difícil implementar estrategias para su tratamiento, control y/o erradicación, y por consiguiente con disminución de los índices productivos que se traducen en mayores pérdidas económicas (Heraéz, Rodríguez, Espinoza, Fernández, y Andrada, 2003, p. 89).

2.3 Origen y Difusión de los cerdos

“El cerdo moderno descende tanto del jabalí europeo como del asiático, se fundamenta en el criterio de que el jabalí asiático es responsable del origen del cerdo de orejas erectas y cortas”. El cerdo proveniente del Mediterráneo (*Sus Mediterraneus*) se considera la forma intermedia entre el *Sus Scrofa Ferus L* y el *Sus indicus*”. (Monge, 2005, p. 5)

2.4 Clasificación zoológica del cerdo

Nombre científico:	<i>Sus scrofa domesticus</i>
Reino:	Animal
Tipo:	Cordados (presenta un eje central óseo- columna vertebral)
Clase:	: Mamíferos (sus crías se alimentan de leche proveniente de una glándula mamaria)
Orden:	Artiodáctilos (mamíferos con pezuñas con dedos en cantidad par)
Género:	<i>Sus</i>
Especie:	Scrofa, Indicus

(Monge, 2005, p. 5)

2.5 Sistema de Alimentación

Está formado por dos tipos:

Alimentación con Concentrado: Consiste en el uso de concentrado comercial, cuya cantidad dependerá de la etapa de crecimiento en que se encuentra los cerdos. (Chinchilla, Chi y Carrillo, 1998, p. 14)

Alimentación de Cuido: Consiste en utilizar una combinación de productos y sub-productos agropecuarios como yuca, banano, tiquisque, ayote, suero de leche, caña de azúcar

u otros, cuya cantidad dependerá también de la etapa de crecimiento del cerdo (Chinchilla, et al., 1998, p. 14).

2.6 Neumonía Enzootica Porcina

“Es una enfermedad respiratoria crónica de los porcinos, producida por *Mycoplasma hyopneumoniae*, que se caracteriza por producir tos seca, persistente y retardo en el crecimiento”. (Figuroa, et al., 1984, p. 213).

La neumonía enzoótica, o neumonía micoplásmica porcina, es una enfermedad con alta morbilidad y baja mortalidad, la más frecuente de todas las enfermedades respiratorias del cerdo, muy contagiosa por vía respiratoria y de gran importancia económica para las explotaciones porcinas, sobre todo por el retraso en el crecimiento que determina y, consiguientemente, la disminución de la ganancia en peso.

Afecta a los animales de recría y de cebo en sistemas de producción intensiva, especialmente en el sistema continuo de producción y menos en el sistema por partidas (“todo dentro-todo fuera”). Es producida por *Mycoplasma hyopneumoniae* y se complica y agrava por la participación secundaria de diversas bacterias (Moreno, 2003, pp. 149-150).

2.6.1 Etiología

“El *Mycoplasma Hyopneumoniae*, este es un microorganismo pleomórfico pequeño, carece de pared celular, teniendo únicamente una membrana limitante, esta condición hace al organismo bastante resistent a diferentes agentes quimioterapéuticos” (Figuroa, et al., 1984, p. 214)

Los mycoplasmas, las células procariotas más pequeñas capaces de autorreplicarse, son microorganismos pleomorficos. Debido a que no pueden sintetizar peptidoglucano o sus precursores, no poseen una pared celular rígida, sino que están rodeados por una membrana externa flexible de tres capas. Son resistentes a antibióticos como la penicilina que interfieren en la síntesis de las paredes celulares de las bacterias. Precisan en medios

enriquecidos para su desarrollo y, aunque la mayoría de los *Mycoplasmas* son anaerobios facultativos, algunos crecen de forma óptima en una atmosfera con un 5% a 10% de CO²) (Quinn, Markey y Maguire, 2005, p. 125)

Puede cultivarse en cultivos de tejidos del pulmón de porcino en medio sólidos, conteniendo 20 % o más de suero de cerdo y otros factores de crecimiento, donde produce colonias muy pequeñas que tiene forma de huevo frito. Es aeróbico y crece a temperaturas de 37°C. El M. *Hyopneumoniae* muere rápidamente en el medio ambiente y es fácil destruirlo por medio de desinfectantes (Figueroa, et al., 1984, p. 214).

2.6.2 Epizootiología

Los cerdos son la única especie atacada M. *Hyopneumoniae* y aunque son susceptibles todos los grupos de edad, las crías son más gravemente afectadas. La introducción de la infección en una piara suele tener lugar por medio del ingreso de cerdos enfermos o por medio de portadores crónicos de la enfermedad. La naturaleza enzoótica de la enfermedad se debe a la persistencia del agente causal en porcinos clínicamente normales, que han curado de la enfermedad, y que se constituyen en fuente permanente de infección para cerdos susceptibles. La transmisión más común ocurre de un cerdo a otro por inhalación de aerosoles conteniendo el Mycoplasma. Un animal infectado puede eliminar gran cantidad de microorganismos en aerosoles, durante los accesos de tos. Generalmente los lechones se infectan con Mycoplasmas procedentes de la madre. (Figueroa, et al., 1984, p. 214)

2.6.3 Transmisión del *Mycoplasma*

Se transmite por el movimiento de cerdos portadores o por el aire a una distancia de 2,5-3Km (1,5-2 millas) con las condiciones climáticas apropiadas. Fuera del cerdo, el organismo muere rápidamente, especialmente con desecación. Sin embargo, en condiciones húmedas y frescas puede sobrevivir dos o tres días. El periodo de incubación es prolongado, de dos a

ocho semanas, antes de que aparezcan los signos clínicos. Cuando la infección no se complica y se presenta en cerdos correctamente alojados y bien manejados resulta una enfermedad relativamente poco importante y solo produce efectos leves en los animales. (Muirhead y Thomas, 2001, pág. 350).

2.6.4 El grado de transmisión vertical

Se ha determinado una transmisión vertical en cerdas reproductoras, principalmente nulíparas, que son las que presentan mayor prevalencia y excreción, por lo que, a mayor tasa de renuevo, tendremos mayor prevalencia en las reproductoras y por tanto una mayor presión de infección sobre los lechones (Espigares, 2016, p. 2)

2.6.5 El grado de transmisión horizontal

Se ha descrito que un lechón infectado (no vacunado) transmitirá la infección a aproximadamente otros 3 compañeros de corral, por otro, se sabe que un animal puede estar infectado subclínicamente (a nivel de bronquios) hasta 8 meses post-infección, así pues *M. hyopneumoniae* se transmite de forma lenta pero muy duradera. (Espigares, 2016, p. 2).

2.6.6 Las condiciones de manejo, alojamiento y la época del año

Esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en los meses más fríos y húmedos, teniendo una importancia fundamental la presencia de sistemas de climatización y ventilación deficientes, sistemas de adopciones-cesiones erróneos (Espigares, 2016, p. 2)

2.7 Patogenia del Mycoplasma

La patogenia comienza con la entrada del microorganismo por la vía oro-nasal. A partir de aquí, el efecto de *M. hyopneumoniae* se puede dividir en cuatro fases o eventos:

2.7.1 Colonización del epitelio ciliado

La colonización comienza con la adhesión de *M. hyopneumoniae* a los cilios de las células epiteliales de las vías respiratorias superiores. Esta adhesión conduce inicialmente a

la pérdida de movimiento de los cilios o ciliostasis y, posteriormente, a la destrucción de los mismos y de parte de las células epiteliales a las que se adhieren. Esto se acompaña de la pérdida de células caliciformes, productoras de moco. La destrucción de cilios y la disminución en la producción de moco llevan a la pérdida de funcionalidad del aparato mucociliar, lo que permite que bacterias secundarias como *Pasteurella multocida*, *Haemophilus parasuis* o *Streptococcus suis*, entre otras, proliferen y produzcan un daño tisular más grave, provocando la aparición de la enfermedad conocida como neumonía enzoótica. (Prieto, Martínez y Segales, 2017, pp. 105-106).

2.7.2 Modulación de la respuesta inmunitaria adaptativa e innata

La infección por *M. hyopneumoniae* es capaz de modular la respuesta inmunitaria innata y adaptativa en el hospedador. Esta modulación conduce a una colonización prolongada en el tiempo y al desarrollo de una respuesta inflamatoria crónica. De forma paralela a la colonización de los cilios, se produce una infiltración de macrófagos y de linfocitos T y B en el tejido conjuntivo peribronquiolar y perivascular que lleva a la formación de nódulos linfoides peribronquiales y perivasculares, causantes de una de las lesiones más características de la infección. No obstante, la funcionalidad de estos linfocitos está alterada, lo que produce una disminución de la respuesta inmunitaria, especialmente de base celular. Por su parte, los macrófagos muestran una capacidad fagocitaria reducida, lo que a su vez reduce la capacidad de eliminación de otros patógenos secundarios que pueden llegar a las vías respiratorias bajas y a los alvéolos como consecuencia de la alteración del aparato mucociliar (Prieto, et al., 2017, pp. 105-106)

2.7.3 Estimulación de una reacción inflamatoria prolongada

Estos macrófagos, secretan citosinas proinflamatorias, especialmente IL-1, IL-6, IL-8 y TNF α , como consecuencia de la infección por *M. hyopneumoniae*. La producción de estas citosinas proinflamatorias por parte del hospedador estimula los procesos inflamatorios que

conducen a la infiltración de células mononucleares en el pulmón, y son el principal causante del daño tisular y las lesiones observadas como consecuencia de la infección (Prieto 2017, pp. 105-106)

En este punto hay que destacar que la infección por *M. hyopneumoniae* no siempre conlleva la aparición de neumonía, ya que la virulencia de las cepas depende de la capacidad de inducir una respuesta inflamatoria potente y de su capacidad de multiplicación en el pulmón. (Prieto, et al., 2017, pp. 105-106)

2.7.4 Interacción con otros patógenos

La alteración del sistema mucociliar y de la capacidad fagocitaria de los macrófagos inducida por *M. hyopneumoniae* es clave para la colonización del pulmón por otras bacterias, como *P. multocida*, responsables de la aparición de los signos clínicos y lesiones propios de la neumonía enzoótica (Prieto, et al., 2017, pp. 105,106). Así como para la aparición del complejo respiratorio porcino. En estos casos la gravedad del proceso dependerá no solo de la virulencia de la cepa de *M. hyopneumoniae* implicada, sino también de la combinación específica con otros agentes, con sus características patogénicas concretas, que se produzca (Prieto et al., 2017, pp. 105,106).

2.8 Sintomatología

El periodo de incubación es de 10 a 15 días (Figuroa et al., 1984, p. 215) Los síntomas clínicos incluyen la tos improductiva crónica, retraso del crecimiento, lento comienzo y lenta difusión de la enfermedad, y aparición repetidas veces de los signos de la enfermedad (Kavanagh, 2001, p. 1).

El primer síntoma que se observa es la tos seca y esporádica, durante la mañana y la noche es más patente y con el ejercicio se exagera pudiendo desaparecer al cabo de dos o tres semanas o persistir indefinidamente. Diarrea ligera puede observarse cuando los

animales empiezan a toser. Aunque se conserva el apetito hay retardo del crecimiento. No se presenta fiebre y solo ocasionalmente hay disnea. La enfermedad clínicamente grave aparece solamente cuando esta complicada por infecciones secundarias en cuyo caso se observan signos de neumonía severa. (Figuerola et al.,1984, p. 215)

2.9 Lesiones

2.9.1 Macroscópicas

“Las lesiones macroscópicas se caracterizan por la presencia de áreas neumónicas en los lóbulos cardiacos y apical””. (Figuerola et al., 1984, p. 215). Las lesiones más significativas encontradas en cerdos afectados son: la presencia de áreas de consolidación de color gris, pálido, gris- rojas, de consistencia carnosa”. (Morales y Alcocer, 1989, p. 30) Los linfonódulos bronquiales y mediastinicos están a menudo marcadamente agrandados y edematizados (Figuerola et al.,1984, p. 215).

2.9.2 Microscópicas

Microscópicamente la característica principal es la hiperplasia del tejido linfoide. Los cambios se presentan gradualmente y principal con la hiperplasia de células alveolares, edema escaso y unas pocas células mononucleares libres en los espacios alveolares, posteriormente se observa edema marcado e hiperplasia del tejido linfoide alrededor de los bronquios, bronquiolos y vasos sanguíneos (Figuerola et al., 1984, p. 215).

2.10 Antígenos del *Mycoplasma hyopneumoniae*

Los antígenos son moléculas de microorganismo invasores, las cuales son capturadas y procesadas por células del sistema inmunitario, así desencadenando una respuesta inmunitaria por parte del organismo (Tizard, 2010, p. 82).

El análisis antigénico de los Mycoplasmas presenta muchas dificultades a causa del pequeño volumen del microorganismo. La antigenicidad se localiza en la membrana

citoplasmática, sobre todo en los lipopolisacáridos, que estimulan la producción de anticuerpos cuando se vinculan con proteínas. Presentan antígenos proteicos, glucolípidos y polisacáridos. Algunos componentes de la superficie de los mycoplasmas contribuyen a la interacción con las células del hospedador (Gonzalez, 2016, p. 29).

La adherencia de *M. hyopneumoniae* al tracto respiratorio del cerdo esta mediada por una proteína de membrana que se identifica como p97. Esta proteína se encuentra en la superficie de la membrana externa. La región general de p97 que media la adherencia a los cilios se halla en la región R1, cerca del carboxilo terminal de la proteína. (Gonzalez, 2016, p. 29)

2.11 Inmunidad

La inmunidad puede ser activa (como resultado del sistema inmunitario del propio organismo) o pasiva (cuando el individuo recibe anticuerpos producidos fuera de él).

Una parte fundamental de la inmunidad frente al *Mycoplasma hyopneumoniae* es la que adquieren los cerdos a través de la inmunidad materna, el calostro (Gutierrez, 2010, pp. 266-267) Este tipo de inmunidad es conocida como inmunidad pasiva natural que se adquiere cuando los anticuerpos son transferidos de la madre al feto o a través de la placenta, y al recién nacido por el calostro y la leche materna durante los primeros meses de vida (Ingraham y Ingraham, 1998, p. 401).

El otro tipo importante de inmunidad es la que adquiere el cerdo tras una infección natural o por efecto de la vacunación (Gutierrez, 2010, pp. 266-267). También conocida como inmunidad activa natural que proviene de las infecciones que contraen en la vida diaria; esta es la que controla las infecciones y algunas veces evita la reinfección. Mientras que la inmunidad activa artificial se estimula mediante vacunas, preparaciones que contienen

antígenos y que se administra para prevenir la infección (Ingraham y Ingraham, 1998, p. 401).

2.12 Diagnóstico para Mycoplasma

El diagnóstico de rutina para la neumonía enzoótica y en particular del *Mycoplasma hyopneumoniae* se lleva a cabo por signología clínica, hallazgos de necropsia, histopatología, detección de anticuerpos en sueros sanguíneos y de calostro por la prueba de ELISA, y mediante el aislamiento de agentes bacterianos secundarios con determinación de sensibilidad a antibióticos. (Guzmán, Mogollón y Lora, 2008, p. 40)

2.13 Muestras de sangre para diagnóstico

La sangre representa cerca del 8% del peso corporal de un animal. Los análisis de sangre son un importante apoyo para el diagnóstico clínico. Puede extraerse con jeringa y aguja y transferirse a recipientes de diferentes capacidades, con o sin anticoagulante, o recolectarse en tubos de vacío que, al ser herméticos, garantizan la esterilidad de la muestra, lo que es deseable en toda punción venosa (Pituco, Del Fava, Ribeiro, Bersano y Miyashiro, 2010, p. 37).

Y refrigerada y se pueden realizar técnicas como ELISA de antígeno y hemogramas (Carraza y Ambrogi, 2008, p. 6).

2.14 Métodos para extracción de sangre

Jeringa: Se debe cuidar que no se haga un vacío muy violento, también es conveniente utilizar un calibre de ajuga adecuado a la especie y a la talla del animal, así como al vaso a puncionar. En cerdos se pueden utilizar un calibre de ajuga número 16 color blanco o 14 color azul. (Núñez y Bouda, 2007, p. 13).

Sistema de tubos con vacío (Vacutainer): Este método requiere de cierta práctica, si se utiliza algún tipo de anticoagulante, es importante que el tubo de vidrio se llene al volumen

indicado, también es conveniente evitar que la sangre golpee contra el fondo del tubo, ya que esto causa hemolisis, se debe dirigir el chorro de sangre hacia las paredes (Núñez y Bouda, 2007, p. 13).

Sistema de vacío con tubos de plástico: Su ventaja principal es que el vacío es regulable, ya que este se produce al enrollar el tubo, por lo que, si se pierde, es posible repetirlo varias veces; otras ventajas son que es de menor costo que el de vidrio y es irrompible. Su empleo está más enfocado hacia determinaciones serológicas como la detección de anticuerpos para diferentes patologías. Este tubo es más usado en bovinos y cerdos (Núñez y Bouda, 2007, p. 13).

“Los tubos colectores con tapa y vacío brindan seguridad y confiabilidad en el material obtenido y la técnica es rápida”. (Álvarez, 2001, p. 5)

2.15 Sitios de obtención de la muestra en cerdos

Extracción de sangre de la oreja: Ideal para cerdos de gran tamaño. Se debe inmovilizar al animal extremidades. La extracción de sangre se puede realizar en el animal de pie o en decúbito lateral de acuerdo a la especie y tamaño. (...) Luego de sujetar adecuadamente al animal debemos rasurar y desinfectar la oreja eligiendo el sitio de punción, posteriormente debemos comprimir la base de la oreja para que resalten las venas y con la aguja apropiada extraer la cantidad de sangre necesaria. En animales jóvenes o muy pequeños las venas no tienen suficiente calibre, por lo cual como alternativa que se puede usar aguja más pequeña o un catéter intravenoso. (AGROCALIDAD , 2017, p. 11)

Extracción de sangre de arteria femoral: Ideal para ovejas, porcinos y caninos. El animal inmovilizado debe estar en posición decubito dorsal (o lateral) con una pierna hacia el suelo y la otra extendida hacia arriba. Debemos desinfectar y rasurar (si es necesario) adecuadamente el área donde se realizara la punción. La arteria femoral se encuentra en la

cara medial interna del muslo, ala altura de la articulación femorotibial, unos centímetros proximal y cranealmente del eje medial de la pierna, aquí encontraremos el canal arterial. Mediante la palpación con los dedos índice y medio sentiremos el frémito de la arteria. Una vez ubicado el sitio de punción se procederá a extraer la muestra de sangre. (AGROCALIDAD, 2017, p. 11)

Extracción de sangre de la vena cava craneal: Técnica más usada en cerdos, le permite obtener una muestra de excelente calidad, tanto por la cantidad como por la higiene. Se deberán utilizar agujas de acuerdo al tamaño del animal, usaremos agujas de 25 mm de longitud para animales pequeños (hasta 50 kgs) y agujas de 38 – 40 mm para animales mayores (Carmona, 2008, p. 1).

2.16 Obtención de suero sanguíneo

Para la obtención de suero sanguíneo la muestra de sangre no debe mezclarse con anticoagulantes. Una vez extraída la sangre, se vierte en un tubo de ensayo, sin que se forme espuma en la parte superior, y se deja coagular a temperatura ambiente, o mejor a 37°C; a esta temperatura la coagulación se hace con la máxima rapidez, y la retracción del coágulo es mayor. A los 30 min e la toma de muestra cuando la coagulación es completa, con una varilla limpia y seca desprenderemos la parte superior del coagulo de las paredes, y volveremos a dejar reposar la sangre. Al cabo de una hora se procede a la centrifugación de la sangre a 2.500 r.p.m/20 min. Pasado este tiempo, separaremos un suero del coágulo sanguíneo con ayuda de una pipeta Pasteur (Ruiz, Coy, Pellicer y Ramírez , 1995, pp. 14-15). La obtención del suero sanguíneo es ideal para realizar la identificación de anticuerpos (Pituco, Del Fava, Ribeiro, Bersano y Miyashiro, 2010, p. 39).

2.17 Técnica de ELISA

La técnica ELISA es excelentemente sensible para detectar antígenos y anticuerpos, es el método inmunológico más utilizado puesto que permite realizar gran número de pruebas en un tiempo relativamente corto. El análisis de inmunoabsorción unida a enzimas utiliza transportadores, en algunos casos placas de poliestireno a las que se fijan los antígenos o los anticuerpos (Siachoque, 2006, p. 20).

El ensayo inmunoenzimático ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que el conjugado resultante tenga actividad, tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígenos o anticuerpo) marcado con una enzima, la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y por lo tanto podrá fácilmente ser revelada mediante la adición de un sustrato específico que, al actuar la enzima, producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro (Alastrue, 1985, p. 2).

ELISA es la prueba más utilizada dentro del grupo de pruebas conocidas como enzimoimmunoensayos. Hay dos métodos básicos, el ELISA directo detecta antígenos y el ELISA indirecto detecta anticuerpos. En ambos procedimientos se utiliza una placa de microtitulación con numerosos pocillos poco profundos (Tortora, Funke y Case, 2007, p. 543)

2.18 Tipos de ELISA

2.18.1 ELISA Directo

Es una prueba que se usa con frecuencia para detectar la presencia de drogas en la orina. Estas pruebas se absorben anticuerpos específicos contra la droga a los pocillos de microtitulación. Cuando se agrega la muestra de orina del paciente al pocillo cualquier droga que contenga se unirá al anticuerpo y será capturada, el pocillo se lava para eliminar el resto

de droga no fijada. Esta prueba positiva se detecta por el agregado de un sustrato para la enzima ligada; se produce un color visible cuando la enzima reacciona al sustrato (Tortora et al., 2007, p. 544).

2.18.2 ELISA Competitivo Directo

Generalmente esta técnica es utilizada para la detección de antígenos. La fase sólida es sensibilizada con un anticuerpo específico y la muestra se adiciona en conjunto con un antígeno de igual característica que el desconocido conjugado con una enzima. En la muestra problema el antígeno desplaza la cantidad correspondiente de antígeno marcado, reduciendo la cantidad de color, esta reducción es directamente proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra (Gutiérrez, 2006, p. 160).

2.18.3 ELISA Indirecto

Esta técnica detecta anticuerpos en una muestra del paciente en lugar de detectar un antígeno como la droga, así usado en la detección de anticuerpos sanguíneos. Para este propósito el pocillo de microtitulación contiene un antígeno, como el virus inactivado que causa la enfermedad para cuyo diagnóstico está diseñada esta prueba (Tortora et al., 2007, p. 544). En este ensayo los antígenos capturan a los anticuerpos y la reacción se evidencia por el conjugado antiinmunoglobulina-enzima, o proteína A-enzima. La cantidad de enzima enlazada indica la cantidad de anticuerpos en el suero y puede ser medida por la degradación de su sustrato (Ochoa, 2012, p. 7).

2.18.4 ELISA no Competitiva tipo Sándwich

Es útil para la detección de antígenos y anticuerpos utilizando el reactivo correspondiente en la fase sólida. Si se requiere buscar antígenos, en fase sólida se colocan anticuerpos específicos que fijan los antígenos en la muestra problema y la reacción se evidencia por la adición de otro anticuerpo conjugado con una enzima. En caso de que se cuantifiquen

anticuerpos, la fase sólida se sensibiliza con el antígeno y el revelado se hace adicionando un anti-anticuerpo conjugado con la enzima (Gutiérrez, 2006, p. 160).

Esta técnica es muy usada para la evaluación de la respuesta inmune inducida por vacunas; al igual que en los indirectos, los antígenos capturan los anticuerpos, pero en esta ocasión en lugar de un conjugado anti-inmunoglobulina-enzima, usamos antígeno-enzima, de esta forma se alcanza la máxima sensibilidad y detectabilidad al no ser necesario diluir las muestras (Ochoa, 2012, p. 8).

2.19 Método de valoración Cuantitativa

Dentro de las técnicas en las que se emplean anticuerpos conjugados, se han desarrollado métodos de valoración cuantitativa, sumamente sensibles uniendo covalentemente una enzima a un anticuerpo. Estas moléculas híbridas pueden utilizarse para medir la concentración de antígenos, haptenos o anticuerpos, en técnicas denominadas ELISA. Las enzimas más comúnmente utilizadas en tales técnicas son la peroxidasa, la fosfatasa alcalina y la β - galactosidasa; estas son sumamente estables y pueden ser valoradas con gran sensibilidad (Stanier, Ingraham, Wheelis y Painter, 1992, pg. 653). El método cuantitativo se basa en que la infección reciente se traduce en índices positivos expresados en cifras que reflejan la positividad de la IgM y un aumento de la IgG (Ángel y Ángel, 2006, p. 225).

2.20 Técnica Elisa para *Mycoplasma Hyopneumoniae*

Las pruebas de ELISA son hoy en día las más habituales para diagnóstico serológico, técnicamente las pruebas de ELISA se basan en la detección de anticuerpos específicos mediante un “conjugado enzimático” que quiere decir que una enzima reacciona con un sustrato añadido para producir una reacción de color visible (Segalés et al., 2013, p. 42).

Los análisis serológicos para *M. hyopneumoniae* se pueden utilizar para diagnosticar el organismo dentro de una explotación, para el diagnóstico serológico se utiliza

principalmente la prueba de ELISA indirecta y competitiva. Los anticuerpos pueden tardar en aparecer entre cuatro a seis semanas, aunque se ha reportado que la prueba de ELISA detecta anticuerpos tres semanas después de la exposición a *M. hyopneumoniae* y persisten por un periodo de 52 semanas. (Abeledo, Pérez, Vega, Lobo y Rueda, 2005, p. 22)

El ELISA indirecto, en esta prueba se fija un antígeno a una placa microtituladora de plástico. Se añade suero a los pocillos, y si los anticuerpos específicos frente al antígenos están presentes en el suero, reaccionarán con el antígeno y permanecerán fijados a la placa de plástico. Posteriormente se añade un anticuerpo conjugado con una enzima y con especificidad antigénica frente a la IgG o IgM de cerdo y finalmente se incorpora un sustrato para la enzima. Si el suero contiene anticuerpos específicos se observa una reacción de color, si no, los pocillos permanecerán sin color. Se leen los resultados mediante un espectrofotómetro. El ELISA indirecto permite una semi cuantificación de los anticuerpos si se incluye una muestra de control positiva con una cantidad conocida de anticuerpos (Segalés et al., 2013, pp. 42,43).

El segundo tipo de ELISA usado en el diagnóstico porcino es el ELISA competitivo, su principal ventaja es que no requiere conjugados específicos de la especie, el inconveniente es que los resultados la lectura solo se hacen en términos de positivo/negativo (Segalés et al., 2013, p. 43).

2.21 Kit para la detección de anticuerpos frente a *Mycoplasma hyopneumoniae* INGEZIM M. HYO Compac, es un ensayo enzimático basado en la técnica ELISA de bloqueo que utiliza un anticuerpo monoclonal (AcM) específico de *M. hyopneumoniae*.

Se utiliza el kit para la detección de anticuerpos específicos de *M. hyopneumoniae* en muestras de suero porcino.

Se ha utilizado INGEZIM M.HYO Compac, donde se analizaron muestras experimentales de lechones en diferentes fases, desde el momento de la vacunación con diferentes formulaciones, tanto experimentales como comerciales, hasta su sacrificio tras la infección experimental (INGENASA, 2020, p. 1).

1.6.1. Componentes del kit

- Dos placas antigenadas (ocho x 12 pocillos)
- Un conjugado de peroxidasa (listo para usar)
- Un suero control positivo (listo para usar)
- Un suero control negativo (listo para usar)
- Una solución de lavado (25 x concentrada)
- Un diluyente (DEO1-01)
- Un sustrato (TMB)
- Una solución de frenado, a la dilución de uso
- Instrucciones
- Dos cobertores adhesivos de placas

Certificado de CC (INGENASA, 2020, p. 1

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1. Físicos

Tabla 1. *Materiales Físicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Hojas de papel bond	Unidad	50
Esferos	Unidad	1
Mandil	Unidad	1
Laptop	Unidad	1
Marcadores	Unidad	1
Gorra desechable	Unidad	2
Guantes	Unidad	100
Puntas azules	Unidad	187
Puntas amarillas	Unidad	400
Multicanal de 8 puntas de 300 ul	Unidad	1
Pipeta de 1000ul	Unidad	1
Pipeta de 10 ul	Unidad	1
Tubos tapa roja de 10cc	Unidad	187
Equipo de ELISA	Unidad	1

3.1.2. Biológicos

Tabla 2. *Materiales Biológicos*

Descripción	Cantidad
Animales	187
Sangre	8ml
Suero	1.5ml
Estudiantes	1

3.1.3. Químicos

Tabla 3. *Materiales Químicos*

Descripción	Unidad	Cantidad
Agua destilada	ml	380,32
Solución de parado	ml	19,2
Solución de revelación	ml	19,2
Diluyente 11	ml	36,48
Diluyente 5	ml	17,28
Conjugado concentrado (10X)	ml	1,92
Solución de lavado concentrada (20X)	ml	17,28
Control positivo	ul	10
Control negativo	ul	10
Microplaca sensibilizada con la P46 de <i>M. hyopneumoniae</i> (1*8)	tira	24

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Diseño estadístico

Este trabajo de investigación corresponde a un estudio epidemiológico de tipo descriptivo, prospectivo de corte transversal y causal, ya que en primera instancia se determina la presencia de los anticuerpos para el agente etiológico y luego se calcula la prevalencia del mismo en la población de estudio.

3.2.2. Selección y tamaño de la muestra

Para este trabajo de investigación, se consideró a 187 animales entre hembras y machos, entre 6 a 16 semanas de edad, de la granja “San Marcos”.

3.2.3. Obtención de muestras sanguíneas

Para la recolección de la muestra, se utilizó catéteres descartables numeración 18, con ayuda de un colaborador, se sujetó a cada cerdo clínicamente enfermo, en la que la muestra se tomó de la vena mamaria y de la oreja en la que se tomó de cada animal 10 cc. colocadas en un tubo de tapa roja sin anticoagulante, para posteriormente centrifugarlas por 5 minutos a 3500 revoluciones por minuto y pipetear el suero sanguíneo y ser conservadas en refrigeración, hasta recolectar el total de animales para la investigación.

3.2.4. Procedimiento para realizar la técnica de ELISA indirecto

3.2.4.1. Preparación de la solución de lavado

Es necesario dejar la solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) y agitar bien para asegurar la disolución de los cristales.

Preparó la solución de lavado (1X) diluyendo al 1:20 la solución de lavado (20x) en agua destilada.

3.2.4.2. Procedimiento

Colocó todos los reactivos a temperatura ambiente ($21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) antes de ser utilizados y homogenizados por vortex o por inversión.

- Primero se distribuyó:
 - 190 μl de Diluyente 11 en cada pocillo.
 - 10 μl de Control negativo en los pocillos A1 y B1.
 - 10 μl de Control positivo en los pocillos C1 y D1.
 - 10 μl de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
- Incubó 45 min \pm 4 min a 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).
- Vaciar los pocillos. Lavó 3 veces cada pocillo con 300 μl de Solución de lavado.
- Preparó el Conjugado 1X diluyendo el Conjugado concentrado 10X al 1:10 con Diluyente 5.
- Agregó 100 μl de Conjugado 1X a cada pocillo.
- Incubó 30 min \pm 3 min a 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$).
- Vaciar los pocillos. Lavó 3 veces cada pocillo con 300 μl de Solución de lavado.
- Incubó 15 min \pm 2 min a 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) en la oscuridad.
- Colocó 100 μl de Solución de parada a cada pocillo para detener la reacción.
- Llevó al equipo de ELISA, para su lectura a una densidad óptica de 450nm y guardar los resultados.

3.2.4.3. Validación

El test es válido si:

- La media del valor de DO del control negativo es superior a 0,7.
- El ratio de los valores medios de los controles positivos y negativos es menor a 0,3.

3.2.4.4. Interpretación

Para cada muestra, calcular el S/N:

$$S/N\% = (DM_{\text{muestra}} / DO_{\text{cn}}) * 100$$

Las muestras que presentan un S/N%:

- Menor o igual a 50% son consideradas positivas
- Mayor que 50% son consideradas negativas

3.2.5. Variables de estudio

3.2.5.1. Variables dependientes

Tabla 4. *Variables dependientes: plasma sanguíneo*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Plasma sanguíneo	Suero sanguíneo	Volumen de suero	MI
	Anticuerpos	Medición de anticuerpos.	Densidad óptica

3.2.5.2. Variables independientes

Tabla 5. *Variables independientes: Cerdos de recría y engorde*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Cerdos de recría y engorde sospechosos de micoplasma.	Cerdos	Síntomas; tos seca, bajos de peso, secreciones nasales	2 a 3 días en que los animales presentan los síntomas para considerar que están enfermos

3.3. Consideraciones éticas

Para definir el termino bienestar animal, existen varios conceptos para ello, tales como lo define Hughes: el bienestar animal es el estado de salud física y mental completo donde el animal está en armonía con el ambiente. Pero de acuerdo con Webster, propuso 5 puntos, que son considerados en la Asociación Mundial de Médicos Veterinarios en la actualidad, que son llamadas las 5 libertades, que son: libres de hambre, sed y de mal nutrición; libres de incomodidades; libres de estrés y miedo; libres para expresar su comportamiento natural; y finalmente libres de dolor, lesiones y enfermedades (Aluja, 2011).

Considerando los puntos anteriormente mencionados, se tuvo en consideración reducir el nivel de estrés de los animales, aplicando los métodos de sujeción a los animales y de tal manera evitar las lesiones que pueden provocar al momento de tomar la muestra de los animales.

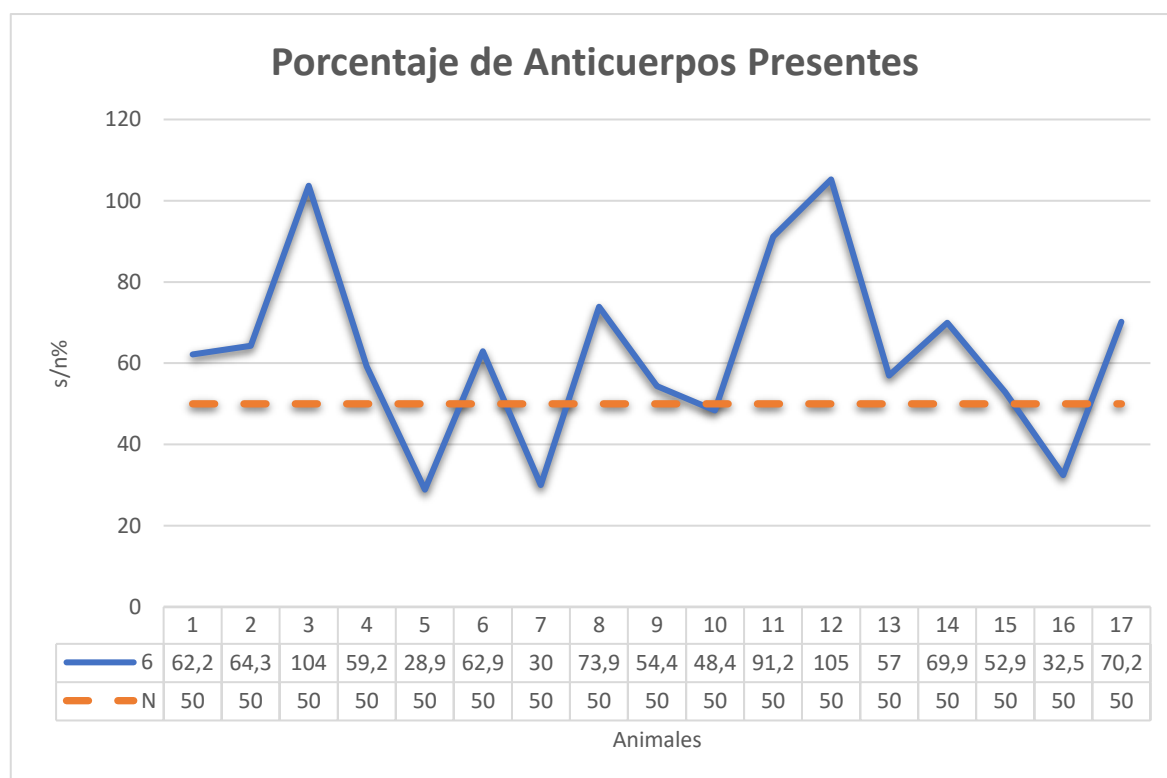
4. RESULTADO Y DISCUSIÓN

Tabla 6: Resultados obtenidos, para evaluar los niveles de Ac presentes, en micoplasma (s/n%).

SEMANAS	ANIMALES																
6	62,15	64,3	103,67	59,22	28,88	62,94	30,01	73,89	54,37	48,39	91,17	105,25	56,97	69,94	52,9	32,46	70,16
7	74,56	67,01	75,47	82,12	57,76	68,02	63,62	84,94	94,08	103,1	65,31	45,01	60,12	80,43	78,06	45,69	89,79
8	49,29	99,04	59	47,26	96,45	41,62	64,3	80,2	113,14	90,24	82,12	44,78	62,27	57,08	84,49	51,55	102,76
9	97,91	106,03	80,09	95,66	87,08	91,26	62,72	65,2	106,37	96,9	70,05	87,2	85,39	87,54	68,25	72,98	74,45
10	94,98	64,75	93,74	98,82	77,95	116,3	80,65	51,1	67,91	65,43	97,01	63,85	80,88	59,33	102,31	78,74	93,4
11	75,58	73,66	107,28	93,74	72,76	85,39	93,85	62,49	110,55	77,72	56,4	101,64	80,32	84,15	84,72	105,13	67,68
12	100,17	45,69	77,61	81,22	79,98	107,16	47,72	80,65	99,15	85,05	48,96	109,87	83,36	76,93	88,55	67,57	37,9
13	77,61	97,24	76,25	92,72	94,64	68,25	55,72	38,24	61,93	84,94	62,61	71,4	71,4	60,24	107,05	64,52	42,3
14	109,08	51,1	96,11	111,34	93,74	54,03	95,54	99,94	48,51	85,39	114,16	101,75	93,29	104	94,75	62,04	52,9
15	101,07	33,84	66,44	33,95	87,65	78,51	73,89	48,51	31,7	108,52	51,1	87,08	51,66	102,2	94,75	99,83	45,46
16	54,71	68,47	72,53	106,26	105,58	46,81	38,01	70,95	91,6	48,96	69,49	94,64	75,24	39,82	67,79	34,52	75,24

En el presente trabajo de investigación se trabajó con 187 animales, donde se encuentran agrupados por semanas (6-16), cada semana consta de 17 animales, se tiene en consideración que los animales se encontraron vacunados, considerando desde la semana 6 los animales ya estaban inmunizados con la vacuna 12 días antes de la toma de muestras, en lo que 27 individuos de la población total, presentaban anticuerpos, por ende, un 14,43% presentan micoplasmosis.

Figura 2: Carga de anticuerpos presentes en la semana 6 en s/n %

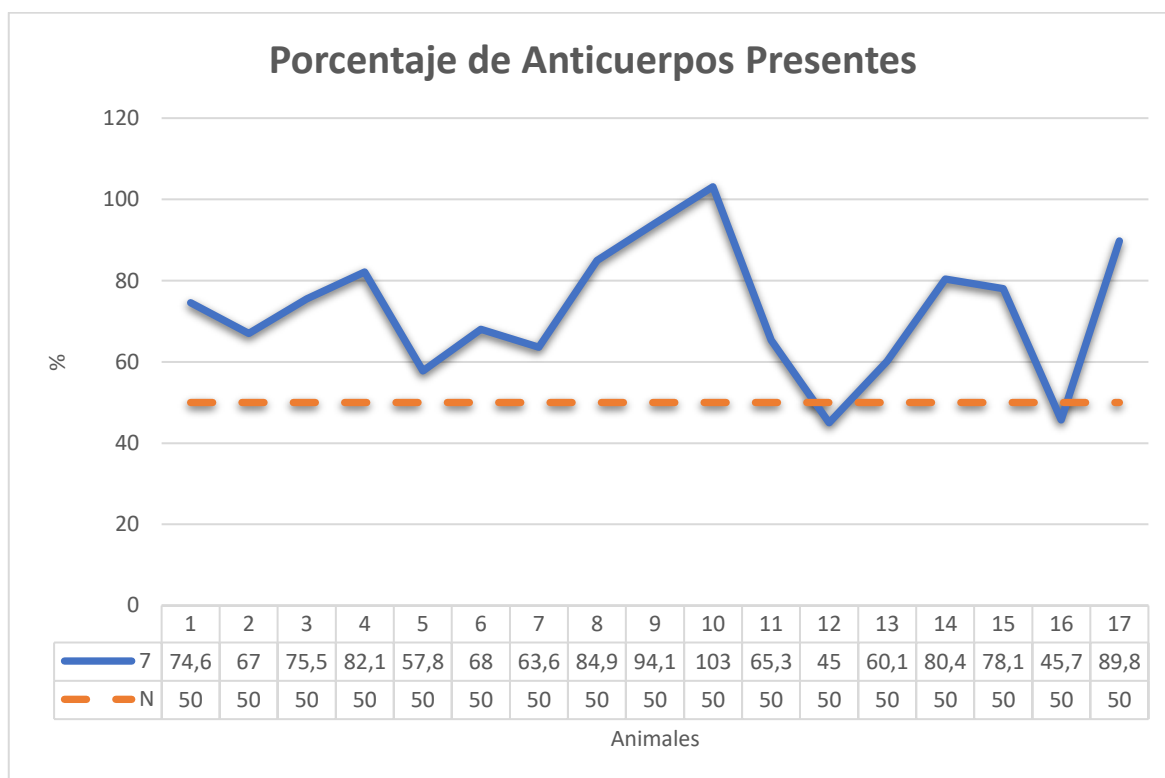


Para la interpretación de los resultados se tiene que considerar lo siguiente:

5. Menor o igual a 50% son consideradas positivas
6. Mayor que 50% son consideradas negativas

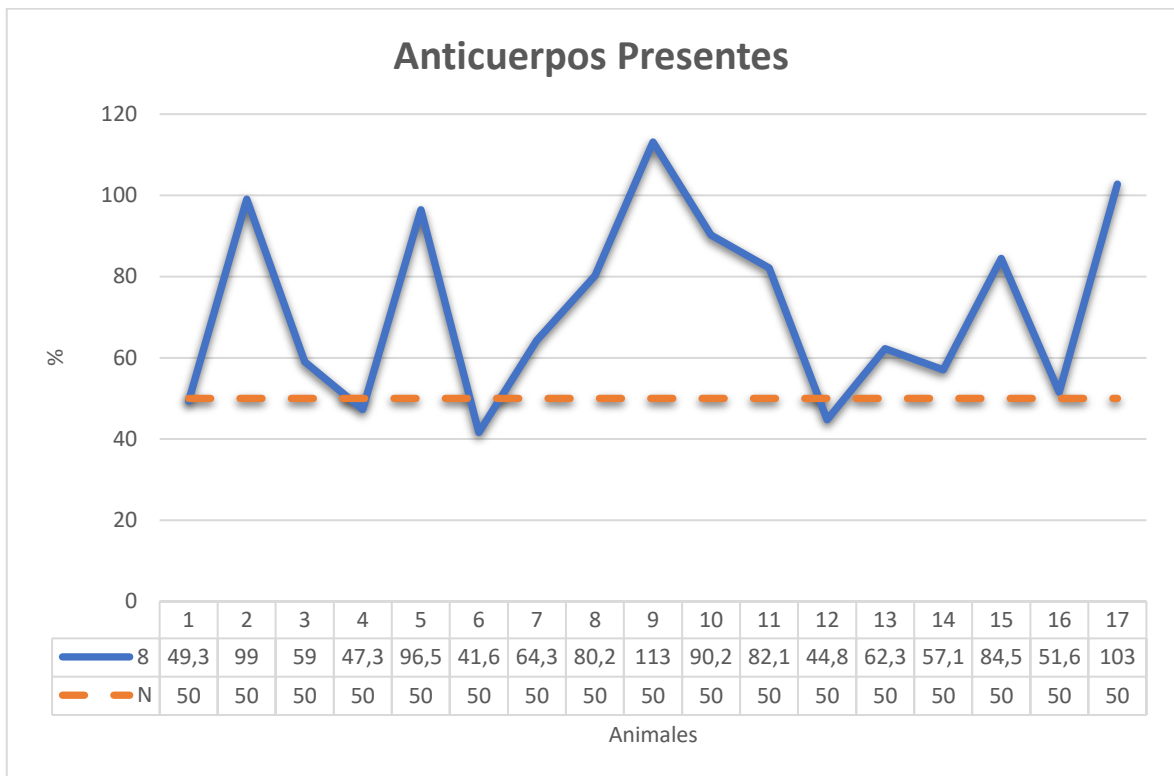
En esta figura 2 se puede observar que 4 animales de 17, de 6 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 5° tiene 28,9, 7° (30), 10° (48,4) y el 16° (32,5); de los cuales representan a una carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 23,53% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 3: Carga de anticuerpos presentes en la semana 7 en s/n %



En la figura 3 se puede observar que 2 animales de 17, de 7 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 12° tiene 45 y el 16° (45,7); de los cuales representan a una carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 11,76% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 4: Carga de anticuerpos presentes en la semana 8 en s/n %



En la figura 4 se puede observar que 4 animales de 17, de 8 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 1° tiene 49,3, 4° (47,3), 6° (41,6) y el 12° (44,8); de los cuales representan a una carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 23,53% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 5: Carga de anticuerpos presentes en la semana 9 en s/n %

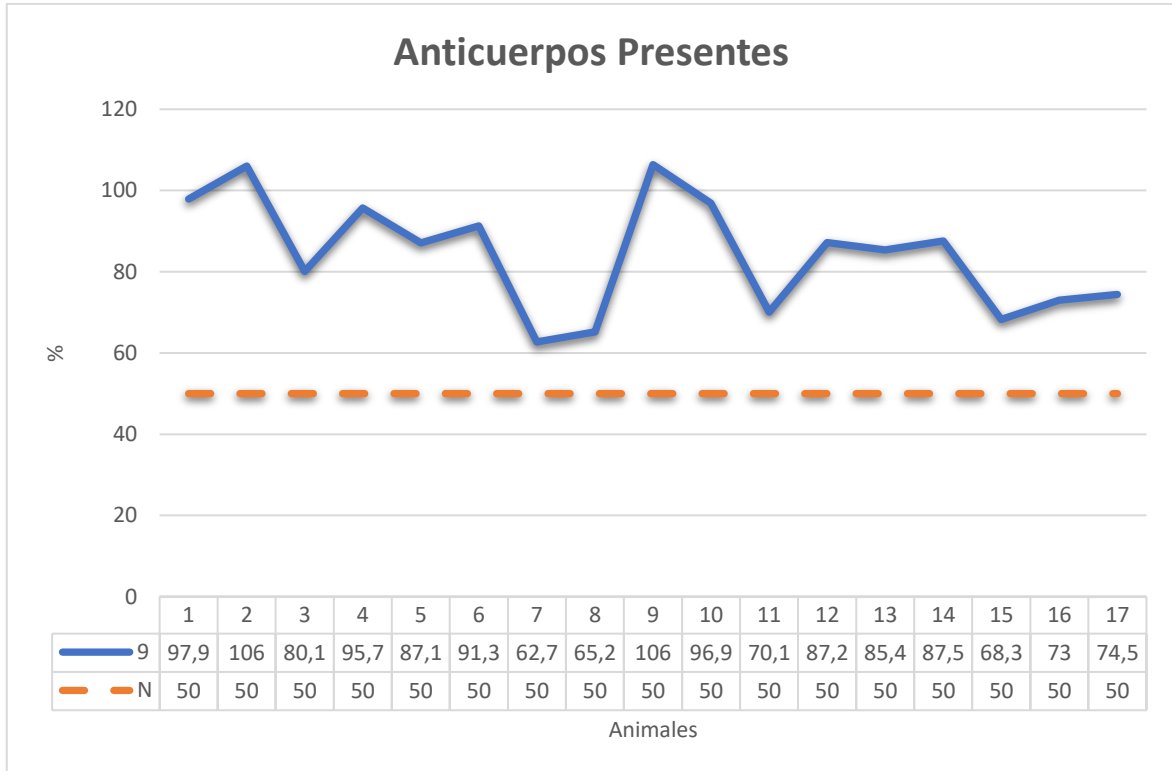


Figura 6: Carga de anticuerpos presentes en la semana 10 en s/n %

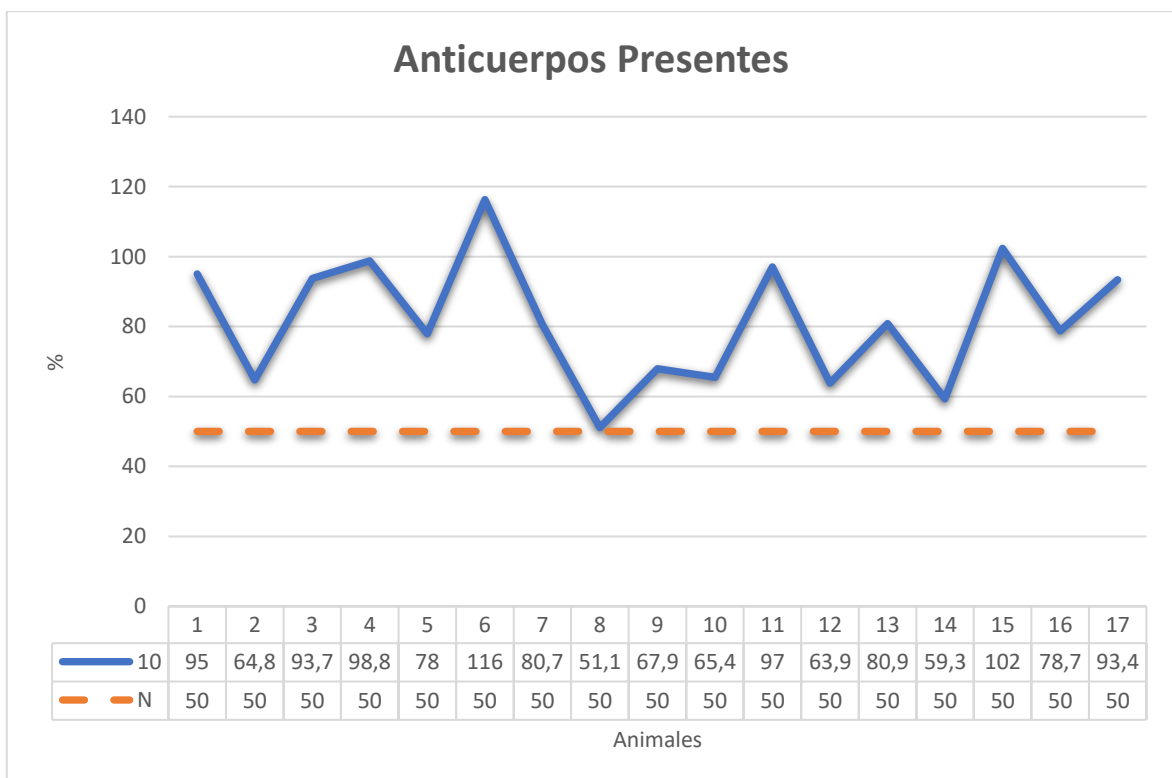
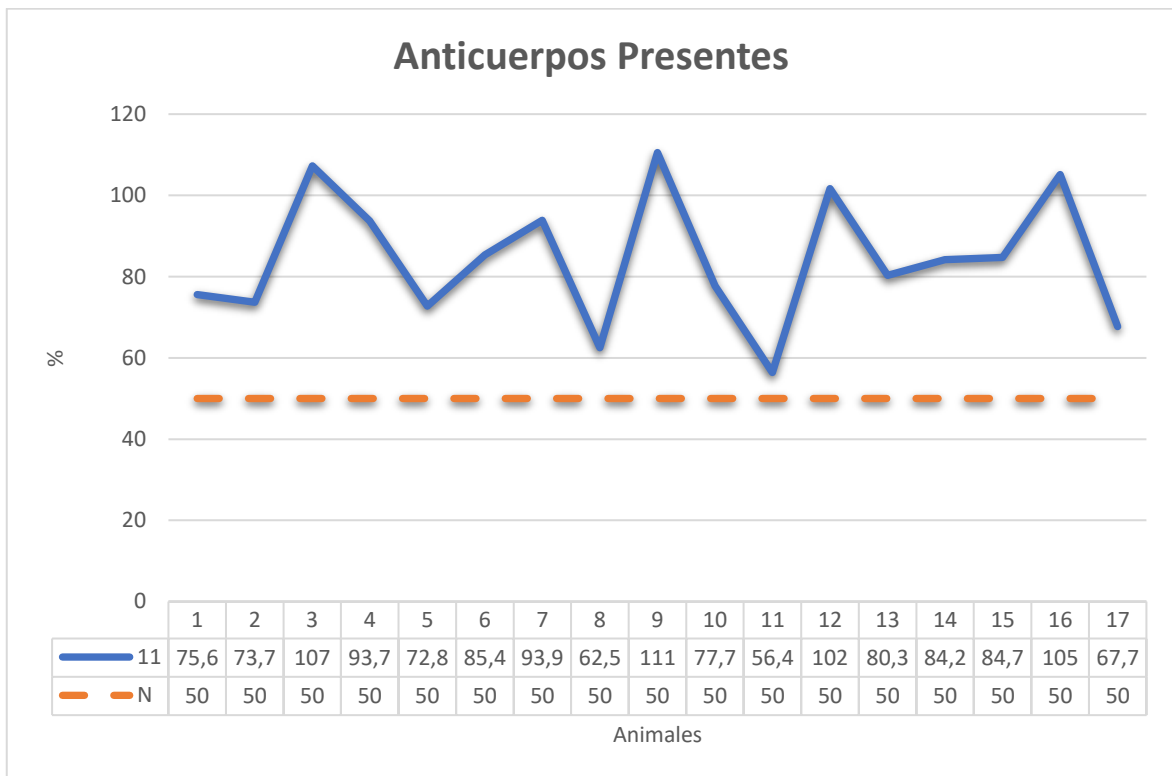
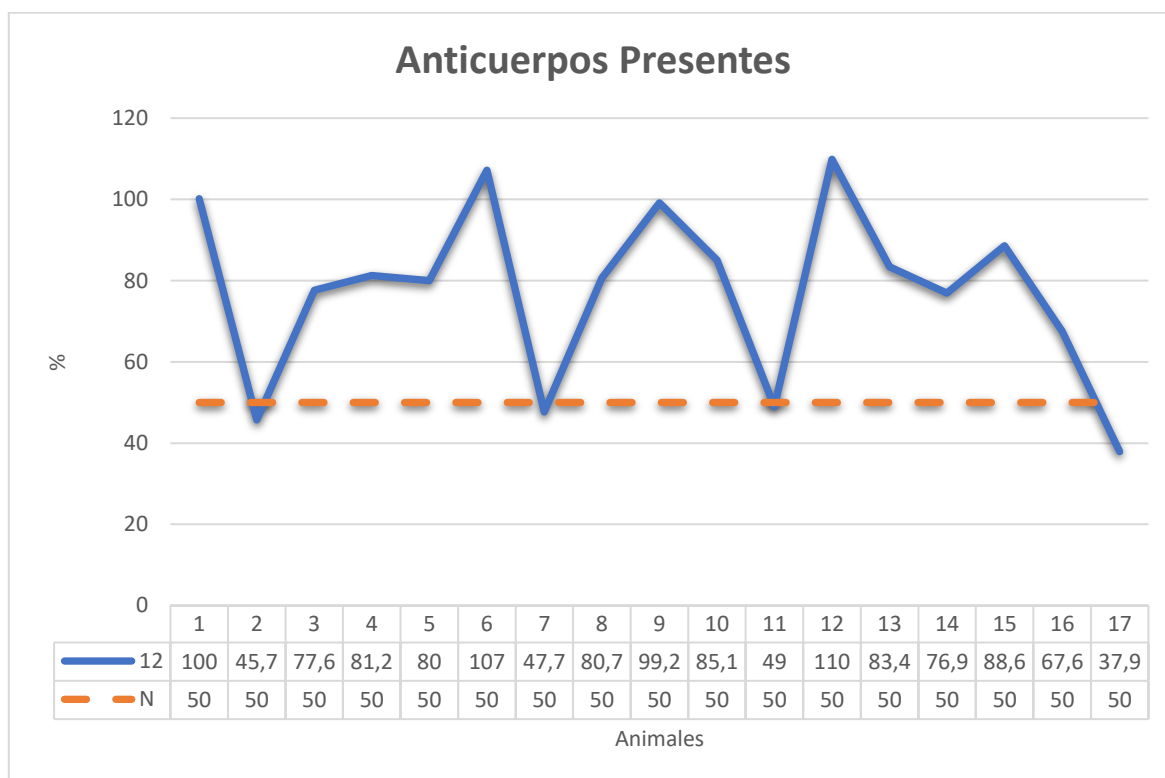


Figura 7: Carga de anticuerpos presentes en la semana 11 en s/n %



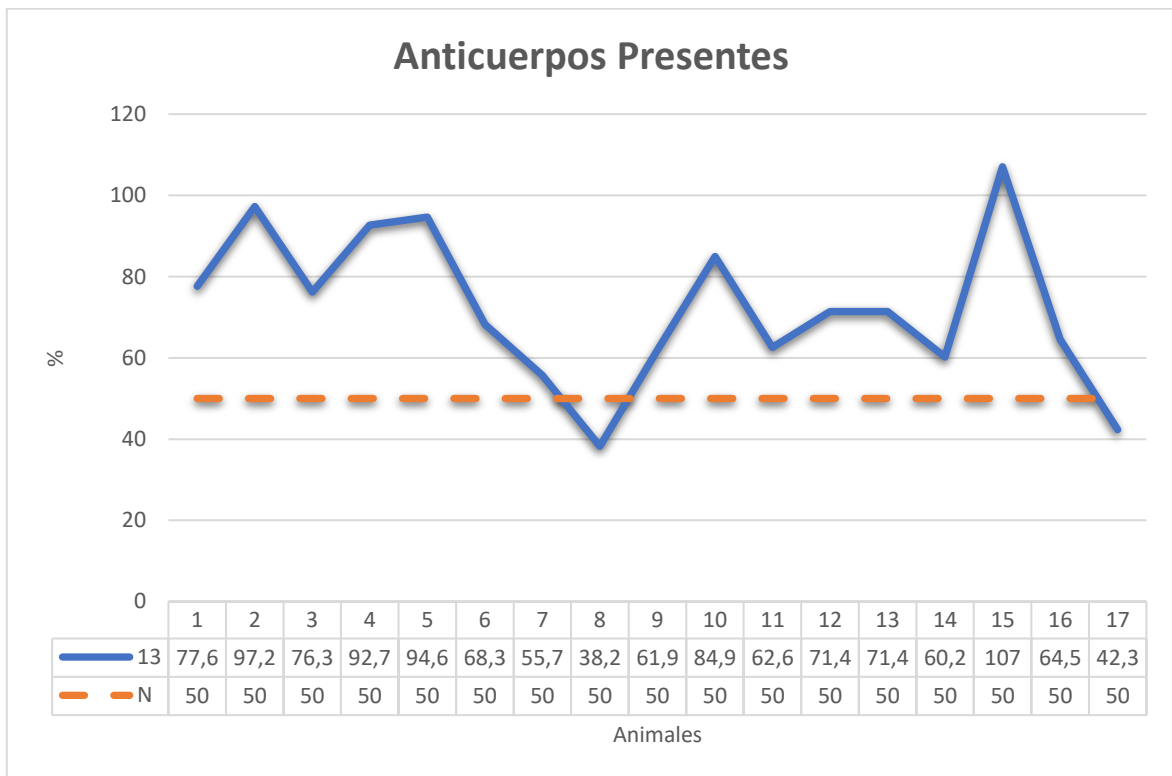
En las figuras 5, 6 y 7; (semana 9 , 10 y 11 de edad) se puede observar que ningún animal de estas tres semanas presentan una carga positiva de anticuerpos post vacunales de micoplasmosis .

Figura 8: Carga de anticuerpos presentes en la semana 12 en s/n %



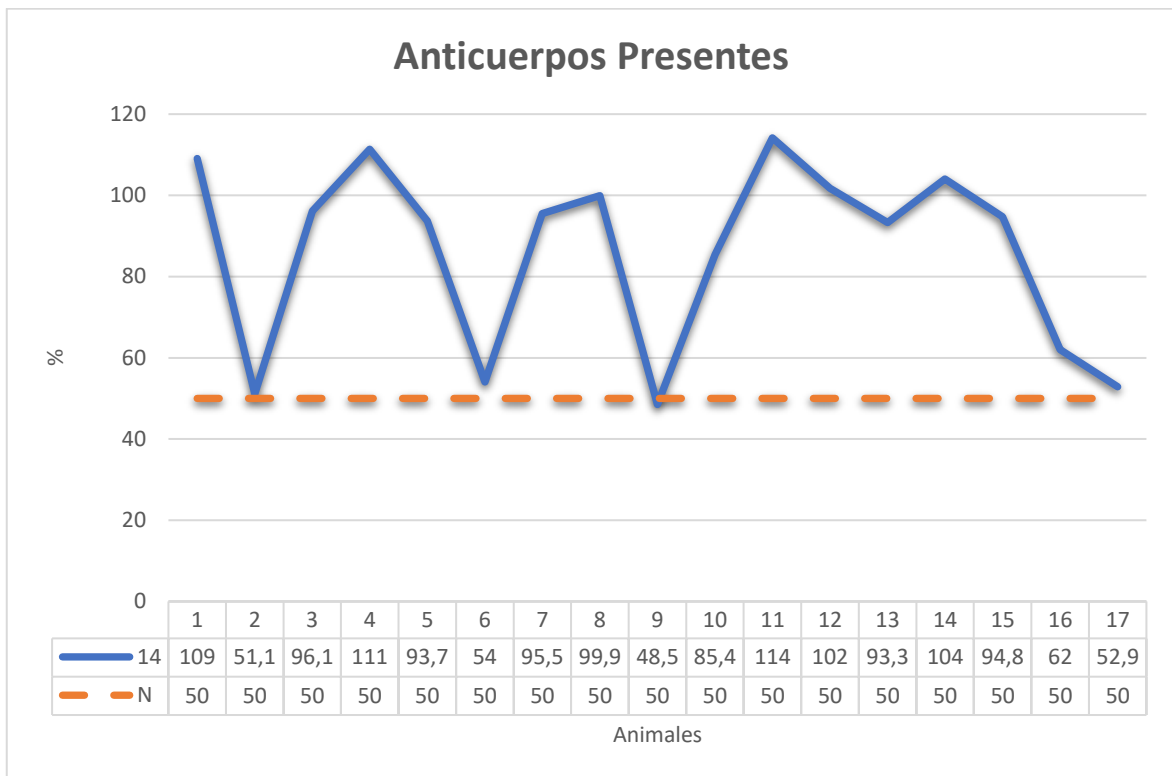
En la figura 8 se puede observar que 4 animales de 17, de 12 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 2° (45,7); 7° (47,7), 11° (49) y el 17° (37,9); de los cuales representan a un carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 23,53% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 9: Carga de anticuerpos presentes en la semana 13 en s/n %



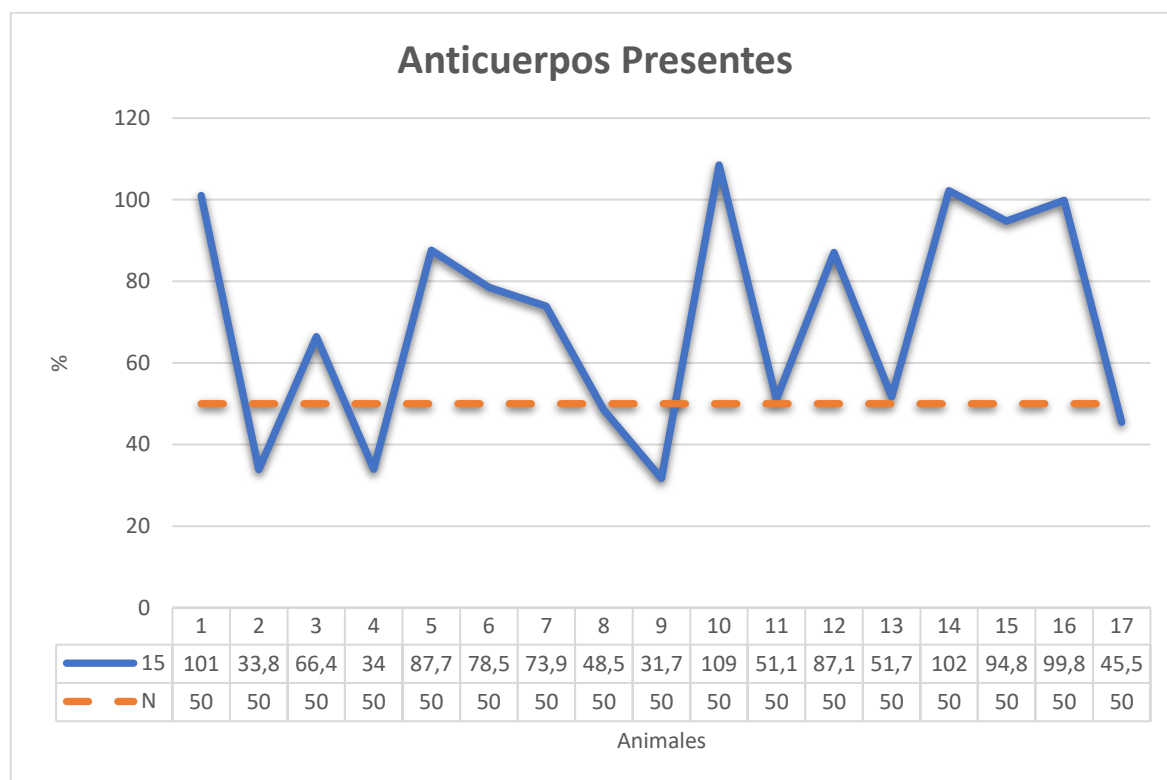
En la figura 9 se puede observar que 2 animales de 17, de 13 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 8° tiene 38,2 y el 17° (42,3); de los cuales representan a una carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 11,76% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 10: Carga de anticuerpos presentes en la semana 14 en s/n %



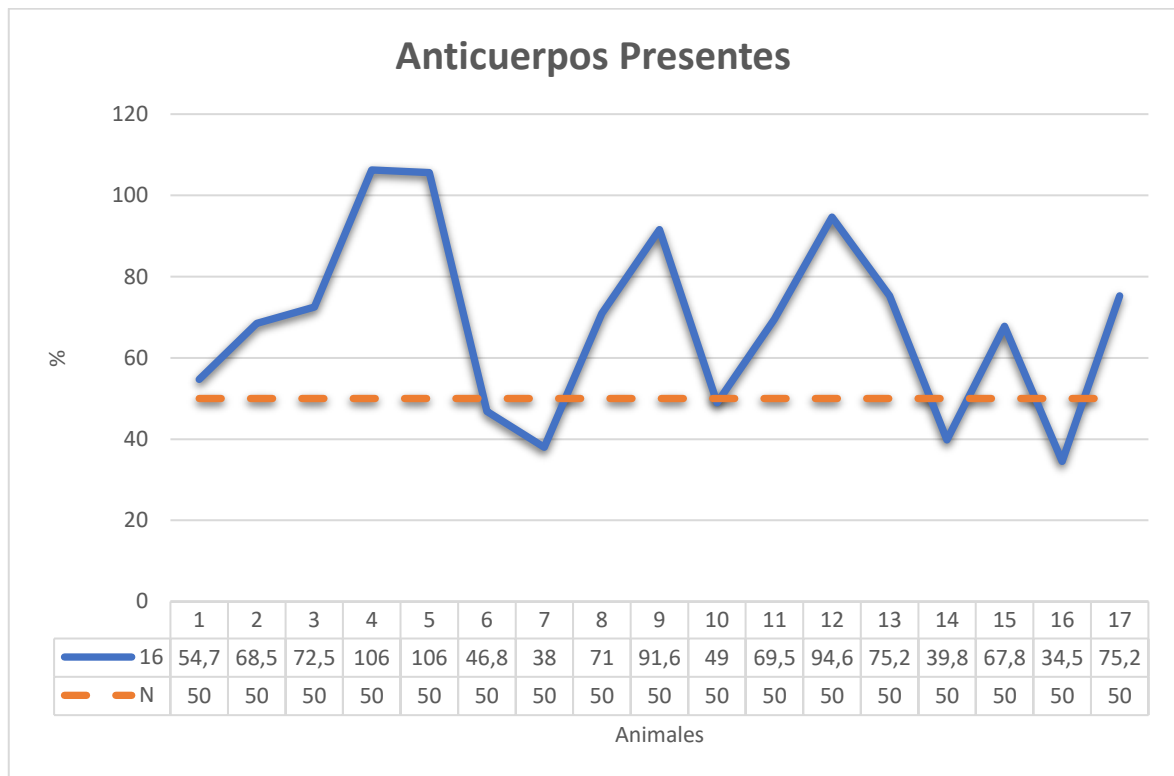
En la figura 10 se puede observar que 1 individuo de 17, de 14 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, del cual es el 9° tiene 48,5; de lo cual representan un 5,88% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 11: Carga de anticuerpos presentes en la semana 15 en s/n %



En la figura 11 se puede observar que 5 animales de 17, de 15 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 2° (33,8), 4° (34), 8° (48,5), 9° (31,7) y el 17° (45,5); de los cuales representan a una carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 23,53% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Figura 12: Carga de anticuerpos presentes en la semana 16 en s/n %



En la figura 12 se puede observar que 5 animales de 17, de 16 semana de edad; presenta menor carga de anticuerpos presentes, de los cuales el 6° (46,8), 7° (38), 10° (49), 14° (39,8) y el 16° (34,5); de los cuales representan a una carga positiva a micoplasmosis, por tal motivo se puede considerar que un 23,53% de la camada de animales vacunados se encuentran con una carga de anticuerpos (AC) adquiridos por la vacuna.

Tabla 7: prevalencia de mycoplasma entre la semana 6 a la semana 10

Especie	N° de animales	N° de animales con ac presentes	Prevalencia
Porcinos	85	10	11,76%

Figura 13: Animales con o sin Ac de mycoplasma de la semana 6 a la semana 10

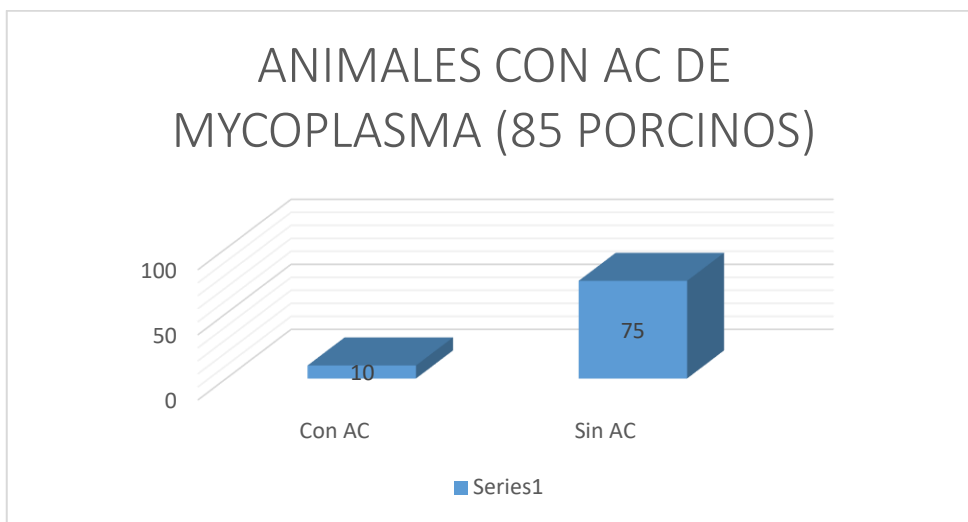


Figura 14: porcentaje de anticuerpos presentes de la semana 6 a la 10

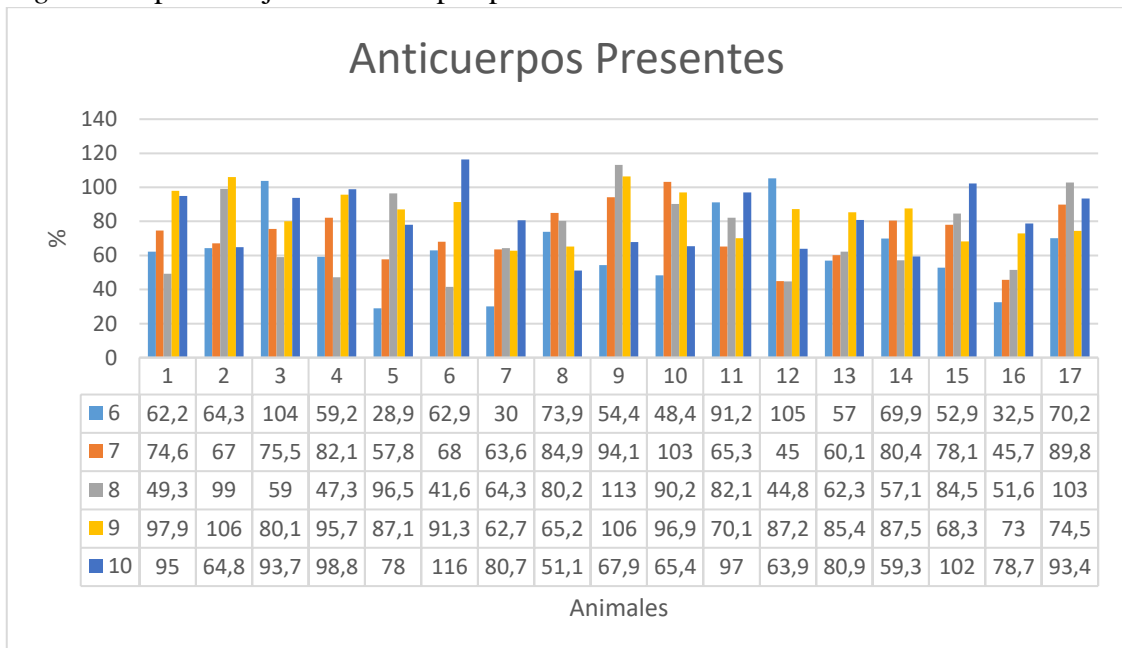


Tabla n° 8: *prevalencia de mycoplasma entre la semana 11 a la semana 16*

Especie	N° de animales	N° de animales con ac presentes	Prevalencia
Porcinos	102	17	16,67%

Figura 15: *Animales con o sin Ac de mycoplasma de la semana 11 a la semana 16.*

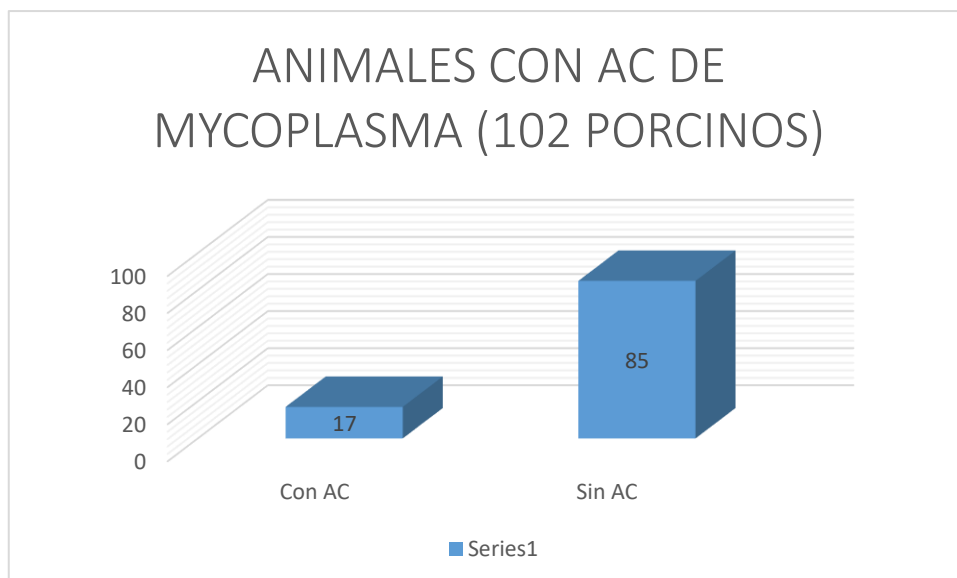
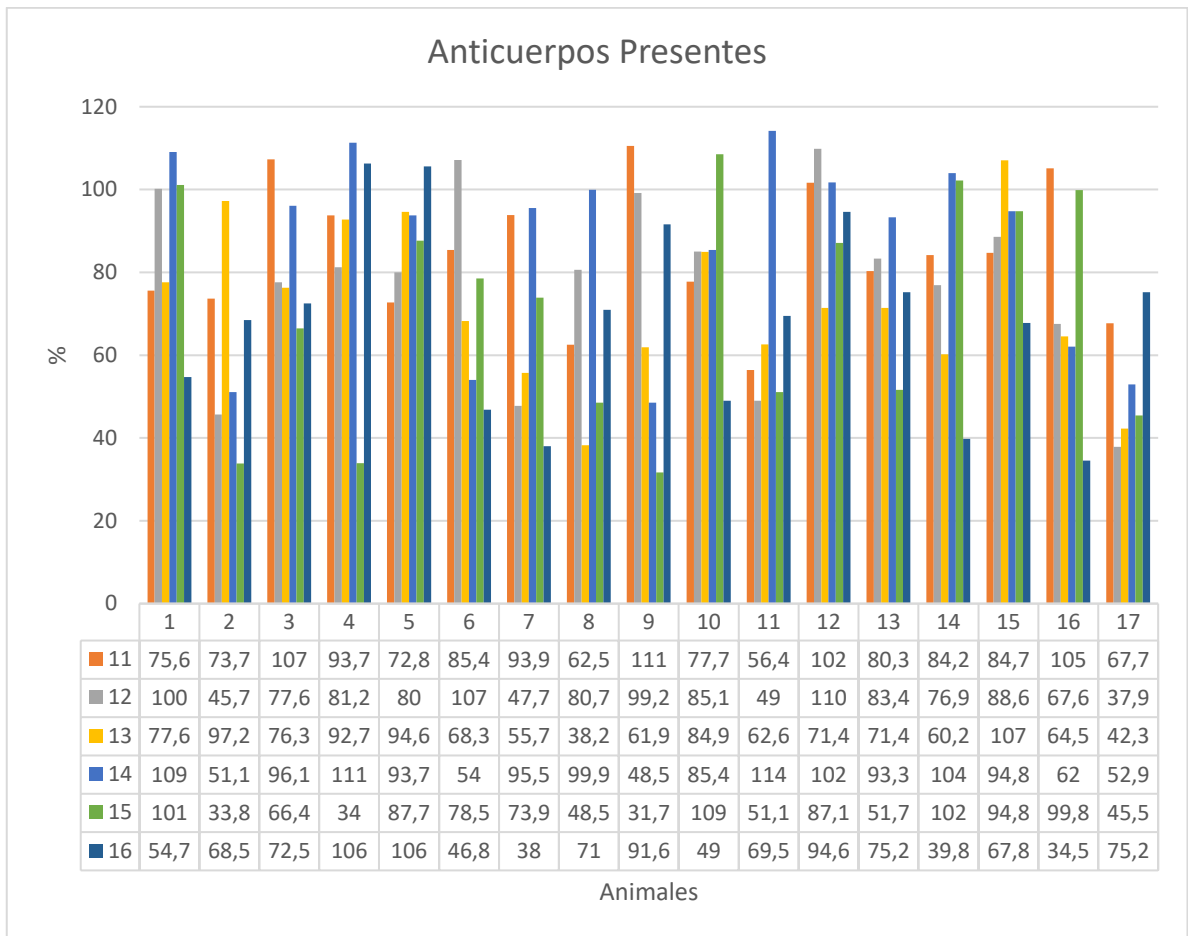


Figura 16: porcentaje de anticuerpos presentes de la semana 11 a la 16



(Huallanca, Hung, Noé, & Suárez, 2001) en su investigación realizada en Lima-Perú, han considerado 370 animales de 17-20 semanas de edad, aparentemente sanos, sin vacuna contra *M. Hyopneumoniae*, procedente de 7 granjas, da a conocer que una 12% de sujetos a estudio dieron positivo a lo AC contra la enfermedad en rango que varían entre 3,3% a 28,8%; en comparación con este trabajo de donde se considera a animales de 11 a 16 semanas de edad, con una población de 102 animales, nos indica que únicamente 17 de ellos presentan AC contra la Neumonía enzoótica porcina, los que nos indica que un 16.67% de población estudiada presenta AC, con rango que varían entre 31,7% a 48,96% sp.

En una investigación realizada en México Yucatán, han trabajado con 2000 animales de engorde que le han tomado muestras de sangre desde el destete hasta la semana 23, donde como una técnica de diagnóstico la prueba indirecta de ELISA, en la que tenía en consideración que las madres de los lechones fueron vacunadas 21 días antes del parto; al realizar el análisis de los resultados resultó que todos los animales eran positivos a *M. Hyopneumoniae*, y al considerar la frecuencia de los animales positivos decayó de la semana 3 (98%) a la semana 15 de edad (7,5%), y después incremento hasta la semana 23 (14,8%), en la que llegaron a una conclusión de que la enfermedad se encuentra circulando en la granja (Rodríguez, Álvarez, & Segura, 2010).

Al comparar los resultados que se obtuvieron en esta investigación, teniendo en cuenta que las madres de los animales estudiados, no fueron vacunadas cuando estas se encontraban en gestación, pero si fueron vacunadas cuando estas fueron lechonas; y de los animales de donde se tomaron las muestras estos fueron vacunados de los 7 a 10 días, y su segunda dosis a los 28 a 30 días; visto que con la información ya obtenida, se procede a analizar los resultados obtenidos, donde desde la semana 6 a la semana 10 de los animales que se recolectó, únicamente un 10,59% resultó positivo a la enfermedad, en comparación con la investigación realizada por Rodríguez, Álvarez y Segura (2010) estos animales deberían ser

positivos la mayor parte de la población, por el simple hecho de que estos se encontraban ya vacunados con dos dosis, pero cabe recalcar que en la investigación realizada en México-Yucatán, indica que los anticuerpos maternos empiezan a disminuir a partir de la semana 6, y que se pierden los AC maternos hasta la semana 10. Para finalizar entre la semana 11 a la 16 la prevalencia de la enfermedad incrementa a un 16,67% en la granja porcina “San Marcos” ubicada en el cantón Piñas, provincia del El Oro.

Una investigación realizada en Guatemala, en la que consideraron la técnica de ELISA, para determinar los niveles de anticuerpos presentes en los cerdos, este trabajo fue realizado en dos granjas, en la que consideraron una población total de 84 animales (42 para cada granja), que se encontraban en una edad entre 1 a 10 semanas y de 12, 14, 16 y 18 semanas; en la primera granja al realizar el análisis de resultados obtuvieron que un 53% de la población eran positivos a la *Mycoplasma hyopneumoniae*, un 46% negativo y el 1% sospechoso, pero a los animales de las primeras 4 semanas asociaron que los niveles de AC presentes se encontraban elevados, ya que fueron transferidos mediante el calostro; en relación a la segunda granja un 88% de los individuos de la investigación resultaron positivos y el otro 12% negativos, en la que en esta granja llegaron a concluir que todas las edades presentaban casos positivos a la enfermedad (Hegel, 2010).

En la granja porcina “San Marcos” de Piñas, nos indica que la prevalencia de la enfermedad está baja entre la 6 a la semana 11, e incrementa entre la semana 15 y 16, donde tenemos con una prevalencia general de 14,43%.

(Aricapa H. , Jaramillo, Mesa, Martínez, & Suikan, 2010) en Colombia, realizó una investigación considerando lo siguiente: T1 (lechones vacunados hijos de madres vacunadas), T2 (lechones vacunados hijos de madres no vacunadas); T3 (lechones no vacunados hijos de madres vacunadas) y T4 (lechones no vacunados hijos de madres no vacunadas) y los

animales vacunados utilizaron la vacuna RESPISURE[®], en la que se consideró a 83 hembras gestantes y a sus respectivas crías, en la que T1 y T2 en la semana dos los niveles de AC presentes era considerable pero en este caso resaltaba la más en el T1, y para la semana 4 donde ya estos fueron destetados y vacunados en el que para T1 Y T2 esperaban un incremento de Ac, cosa que no fue así, pero en el T2 en la semana 12 se incrementó los niveles de Ac por lo que concluyeron que los animales se encontraban en contacto con animales portadores de la enfermedad; y para T3 y T4 en la semana 2 los niveles de Ac eran muy bajos en comparación con T1 y T2; para T3 en la semana 4 los niveles incrementaron, considerando que estos no fueron vacunados, pero se sospecha de que estaba en contacto con animales portadores y vacunado, para la semana 6 decayó los niveles de Ac, en la semana 9 a la 12 incrementó indicando que ya existe la presencia de la enfermedad. Para finalizar en el T4 en la semana 4 existió un incremento por lo que indica que ya existe una posible infección de la enfermedad, y en la semana 6 bajaron los niveles presentes, y por ende en las semana 9 a las 12 incrementó la presencia de la enfermedad.

Para finalizar, se tiene en consideración los resultados obtenidos en T2 del trabajo de investigación de Aricapa H., Jaramillo, Mesa, Martínez, y Suikan (2010) ya que estos fueron vacunados en la semana 4, en la que esperaban un incremento de Ac pero no sucedió, lo que al comparar los resultados obtenidos en este trabajo vemos que en la semana 6 a 10 los niveles de Ac son bajos, y en las últimas dos semanas (15 y 16) incrementa los niveles de Ac presentes en los animales.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En el 100% de población estudiada un 14,43% de los individuos presentan Ac presentes, lo que significa que la carga de Ac post vacunales es baja, considerando que estos fueron vacunados entre los 7 a 10 días la primera dosis, y la segunda entre 28 a 30 días.

La prevalencia de micoplasmosis entre la semana 6 a las 10 se encuentran entre 11,76%, lo que nos indica que los niveles de Ac no son lo que se esperaba, lo que se esperaba es un incremento de ac en estas semanas.

La prevalencia de Neumonía enzoótica porcina entre la semana 11 a las 16 se encuentran entre 16,67%, en estas semanas los niveles de Ac presente incrementaron, lo que se puede llegar a concluir que los animales se encontraban en contacto con animales portadores o vacunado contra la enfermedad.

Las semanas que se puede ver un incremento de Ac presentes están entre las 15 y 16 lo que significa que en la granja se encuentra circulando la enfermedad.

5.2 Recomendaciones

Recomienda realizar más estudios de la enfermedad en la granja, en este caso donde las madres sean vacunadas entre los días 85 a 95 de gestación, para de tal manera elevar los niveles de Ac presentes en los animales.

De las mismas crías realizar un análisis de Ac presentes al momento del nacimiento para de esta manera planificar un plan de vacunación, y reducir riesgos de infecciones.

Realizar más estudios de investigación de la enfermedad en esta zona, ya que no solo puede estar afecta a esta granja sino a las granjas vecinas.

7. BIBLIOGRAFIA

- Abeledo, M., Pérez, M., Vega, E., Lobo, E., & Rueda, D. (2005). Detección de anticuerpo frente a *Mycoplasma hyopneumoniae* en crías porcinas mediante un ELISA competitivo (citest suis mycoplasma hoypneumoniae). *Rev Salud Anim*, 21(1), 21-25.
- Abeledo, M. A., Ruano, M. P., Vega, E., & Lobo, E. (2005). CRIANZAS PORCINAS MEDIANTE UN ELISA COMPETITIVO (CIVTEST SUIS MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE), (January), 20-25.
- AGROCALIDAD . (19 de enero de 2017). *Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro*. Obtenido de <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2015/09/instructivo-toma-y-envio-de-muestras-en-animales-domesticos-19-01-2017.pdf>
- Alastrue, R. (1985). *Algunas consideraciones sobre las técnicas inmunoenzimáticas aplicación para detectar peste porcina* . Asunción, Paraguay : Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura .
- Álvarez, J. (2001). *Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico* . Antioquia, Colombia: Universidad de Antioquia .
- Aluja, A. S. (2011). Bienestar animal en la enseñanza de Medicina Veterinaria y Zootecnia : ¿Por qué y para qué? *Veterinaria Mexico*, 42(2), 137-47.
- Ángel, G., & Ángel, M. (2006). *Interpretación Clínica del Laboratorio*. Bogotá, Colombia: Panamericana .

- Aricapa, H. J., Jaramillo, A., Mesa, H., Martínez, J. M., & Suikan, F. (19 de octubre de 2010). Monitoreo serológico para *Mycoplasma Hyopneumoniae* en cerdos, desde el nacimiento hasta la semana 14 de vida. *vet.zootec*, 4(2), 37-47.
- Bautista, S.; Tiranti, K.; Ferrero, S.; Ambrogi, A.; Tamiozzo, P. J. (2016). Dinámica de infección de *Mycoplasma hyopneumoniae* en granjas con diferentes esquemas de vacunación Dynamics of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in herds with different, 18, 9-17
- Benítez, A., Gómez, A., Hernández, J., Navarrete, R., & Moreno, L. (2015). Evaluación de parámetros productivos y económicos en la alimentación de porcinos en engorda. *ABANICO VETERINARIO*, 5(3), 36-41.
- Carmona , J. (5 de noviembre de 2008). *3tres3.com*. Obtenido de https://www.3tres3.com/articulos/protocolos-de-extraccion-sanguinea-en-el-cerdo_43179/
- Carraza, A., & Ambrogi, A. (2008). Toma y remision de muestras para el diagnóstico de las principales enfermedades del cerdo . *Memorias del IX Congreso Nacional de Producción Porcina* . San Luis, Argentina.
- Chinchilla, M., Chi, H., & Carrillo, W. (1998). *Producción Semi-intensiva de cerdos y uso de desechos para generar energía*. Venezuela: Líneas Básicas S.A.
- C, M. I., M, N. N., Alvarado, A., & Rosa, S. (2000). EVIDENCIA DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE *Mycoplasma hyopneumoniae* EN CERDOS PROVENIENTES DE GRANJAS DE CRIANZA ARTESANAL DEL SUR DE LIMA Marco Ibarra C.1, Norma Noé M. 2 , Arnaldo Alvarado S. 2 (Vol. 11, pp. 62-66).
- Coll, T., & Morillo, A. (2008). *Técnicas Clínicas*. Zaragoza, España: Asis Veterinaria, S.I.

- Espigares, D. (10 de Junio de 2016). *El sitio Porcino*. Obtenido de <http://www.elsitioporcino.com/articles/2726/mycoplasma-hyopneumoniae/>
- FAO. (26 de Abril de 2016). *Producción y Sanidad Animal* . Obtenido de <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/pigs/home.html>
- Figuroa, M., Vargas, L., Mendoza, L., Acevedo, O., Chavarria, M., Fonseca, E., & Moya, F. (1984). *Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica*. San José, Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.
- Gonzalez, L. (2016). *Mycoplasma hyopneumoniae, Actinobacillus pleuropneumoniae e Influenza porcina microorganismos asociados al complejo respiratorio porcino en una granja porcícola de sitio III en Cartago – Valle del Cauca. Tesis de grado*. Corporación Universitaria Lasallista, Caldas-Antioquia.
- Gutierrez , J. A. (2010). *Inmunología veterinaria*. Recuperado el 5 de diciembre de 2018, de <https://bibliotecas.ups.edu.ec>
- Gutiérrez, S. (2006). *Fundamentos de ciencias básicas aplicadas a la odontología* . Bogotá, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana .
- Guzmán, H., Mogollón, J., & Lora, A. (2008). Correlación entre lesiones macroscópicas e histopatológicas de la neumonía enzootica y la detección del *Mycoplasma yopneumoniae* por PCR anidada en lavados bronco alveolares en cerdos al sacrificio. *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 55(1), 39-48.
- Hegel, O. (Marzo de 2010). *Aplicacion para la serologia para el control de Micoplasma hyopneumoniae en cerdos*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Recuperado de

<http://www.repositorio.usac.edu.gt/3021/1/Tesis%20Med%20Vet%20Andrea%20Hegel.pdf>

Heraéz, P., Rodríguez, F., Espinoza, A., Fernández, A., & Andrada, M. (2003). Estrategias de intervención y coste de la neumonía enzoótica porcina. *Porci*(74), 89-103.

Huallanca, O. C., Hung, C. A., Noé, M. N., & Suárez, A. (2001). Mycoplasma Hyopneumoniae en cerdos beneficiados en un matadero de Lima Metropolitana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(1), 122-124.

Ibarra C., M., Noé M., N., Alvarado S., A., & Perales C., R. (2000). EVIDENCIA DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE Mycoplasma hyopneumoniae EN CERDOS PROVENIENTES DE GRANJAS DE CRIANZA ARTESANAL DEL SUR DE LIMA. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 11(2), 62–66.
<https://doi.org/10.15381/rivep.v11i2.7062>

ID.Vet. (29 de Diciembre de 2020). *Innovative Doagnostics*. Obtenido de <https://www.id-vet.com/produit/id-screen-mycoplasma-hyopneumoniae-competition-2/>

Ingraham, J. L., & Ingraham, C. A. (1998). *Introducción a la Microbiología*. Barcelona: Reverté S.A.

Kavanagh, N. (9 de Abril de 2001). *3tres3.com*. Obtenido de Detección de anticuerpos frente a M.hyo:Comparación de dos kits ELISA de diagnóstico:
https://www.3tres3.com/articulos/deteccion-de-anticuerpos-frente-a-m-hyo-comparacion-de-dos-kits-elisa_24/

Monge, J. (2005). *Producción Porcina*. San José, Costa Rica : EUNED.

Morales, H., & Alcocer, R. (1989). *Patología diagnostica en Medicina Veterinaria*. D.F, México: IICA/ México.

- Moreno, B. (2003). *Higiene e Inspección de carnes*. Madrid, España: Díaz de Santos, S.A.
- Muirhead, M., & Thomas, J. A. (2001). *Manejo sanitario y tratamiento de las enfermedades del cerdo*. Buenos Aires, Argentina: InterMedica S.A.I.C.I.
- Nuñez, L., & Bouda, J. (2007). *Patología Clínica Veterinaria*. Ciudad Universitaria, México: FMVZ-UNAM.
- Ochoa, R. (2012). *Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos*. Habana, Cuba: Finlay.
- Pituco, E., Del Fava, C., Ribeiro, C., Bersano, J., & Miyashiro, S. (2010). *Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras*. Brasil: Horizonte.
- Plaza, M. A. (08 de Marzo de 2016). *ESPAE*. Obtenido de <https://www.espae.espol.edu.ec/wp-content/uploads/2016/12/industriaganaderia.pdf>
- Prieto, C., Martínez, F., & Segales, J. (6 de Mayo de 2017). *Biblioteca UPS*.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., & Maguire, D. (2005). *Elementos de microbiología veterinaria*. Zaragoza, España: Acriba, SA.
- Rodríguez, J., Álvarez, M., & Segura, J. (2010). Perfil serológico de anticuerpos contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos de crecimiento y engorda en una granja de sitios múltiples en Yucatán México. *Universidad y ciencia*, 26(2), 211-214.
- Ruiz, S., Coy, P., Pellicer, M., & Ramírez, A. (1995). *Manual de prácticas de fisiología animal veterinaria*. Murcia, España: Universidad de Murcia.
- Secundino J. V. (2015) Utilización de la Serología de ELISA contra *Mycoplasma hyopneumoniae* para evaluar su incidencia a diferentes edades de los Cerdos. *ENGORMIX*. Recuperado de

<https://www.engormix.com/porcicultura/articulos/utilizacion-serologia-elisa-contrat31981.htm>

Segalés, J., Martínez, J., Castellá, J., Darwich, L., Domingo, M., Mateu, E., . . . Sibila, M. (2013). *Manual de diagnóstico laboratorial porcino* . Zaragoza, España: Grupo Asís Biomedia S.L .

Siachoque, H. (2006). *Inmunología Diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio*. Bogotá, Colombia: Universidad del Rosario .

Stanier, R., Ingraham, J., Wheelis, M., & Painter, P. (1992). *Microbiología* . Barcelona, España: Reverté S.A.

Torres, M., Calle, S., Rivera, H., Camacho, C., Falcón, N., & Alzamora, C. (2006). Determinación serológica de la infección con *Mycoplasma Hyopneumoniae* en un granja porcina de Lima. *Inv Vet Perú*, 17(1), 58-63.

Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología* . Madrid, España : Panamericana .

Tizard, I. (2010). *Inmunología veterinaria* . España: Elsevier.

Valdivia, L., & Calle, S. (1999). Respuesta a la vacunación contra neumonía enzoótica porcina en términos de reproducción en explotación intensiva de cerdos. *Rev In Vet Perú*, 10(2), 71-73.

8. ANEXOS

Figura 17: Animales para el estudio*Figura 18: Insumos utilizados para el muestreo.*

Figura 19: desinfección del arrea donde se tomó la muestra sanguínea



Figura 20: Obtención de la muestra en la vena de la oreja.



Figura 21: Obtención de la muestra por la vena mamaria.



Figura 22: muestras para el transporte.



Figura 23: muestras con el suero sanguíneo separado.



Figura 24: Kit de ELISA competitiva para mycoplasma.

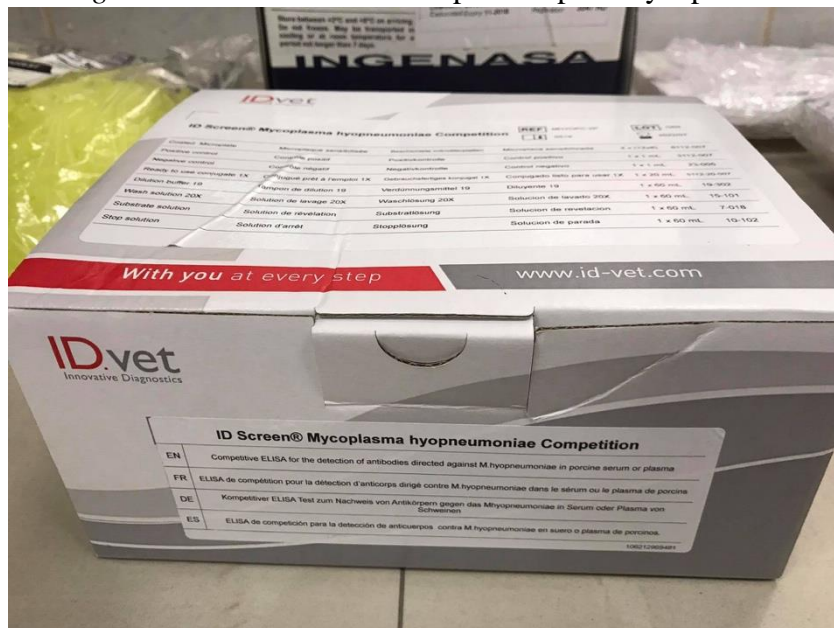


Figura 25: Sueros sanguíneos.

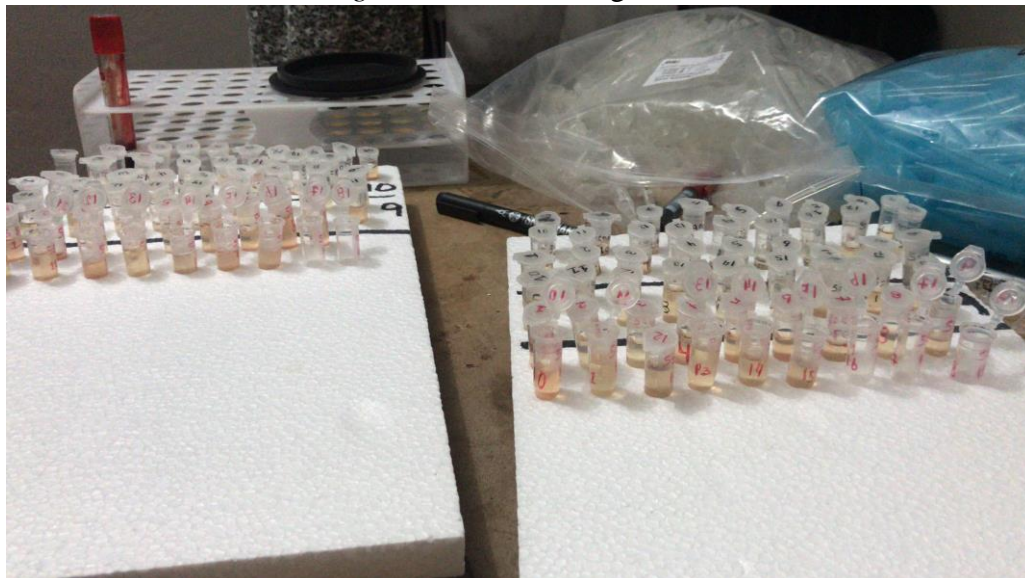


Figura 26: Placas del kit de ELISA listas para la lectura en el equipo.

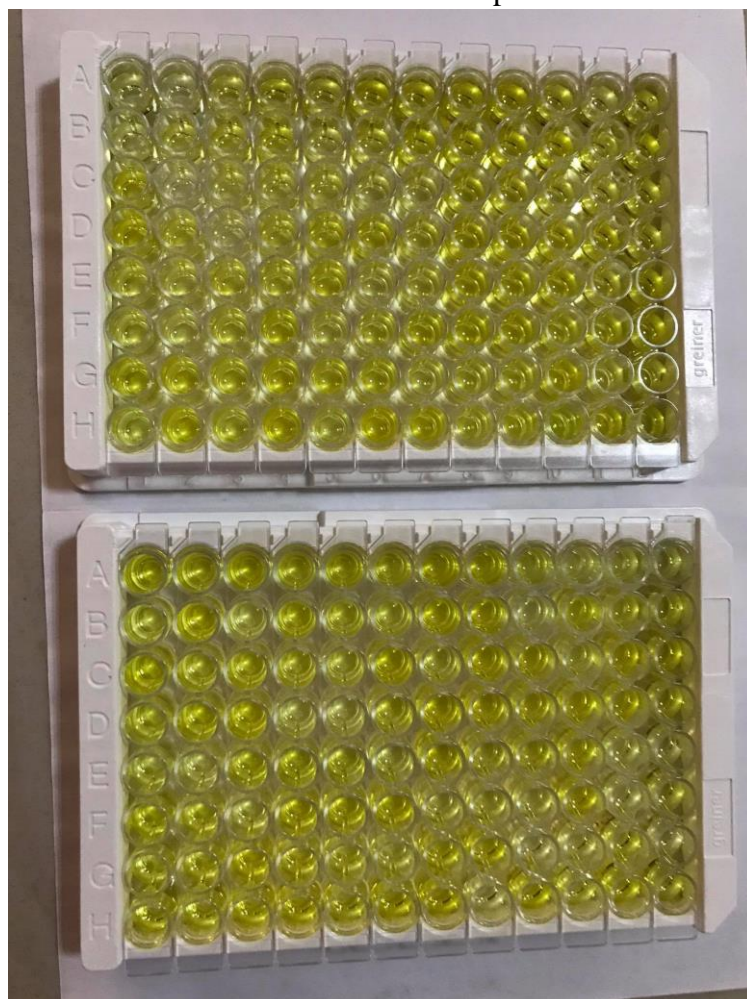


Figura 27: Equipo de ELISA para la lectura de la placa.

