

APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS DIGITALIZADO DE IMÁGENES, INMUNOFLUORESCENCIA Y AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Mycoplasma hyopneumoniae* EN EL DIAGNOSTICO DE NEUMONÍA ENZOÓTICA.

*Flores A.L, *Luna T G, Álvarez RMC, Cruz STA, Garrido FG, Mendoza SMA

Este trabajo forma parte del Proyecto PAPIIT IN 209-701 y Cátedra IN2-34 Medicina Veterinaria y Zootecnia, F.E.S. Cuautitlán, UNAM. Estado de México.
Correspondencia con el autor: chelo_alrod@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

Actualmente en México en la clínica porcina, se hace uso de diferentes métodos para el diagnostico confirmativo de esta enfermedad, desde el aislamiento y cultivo del agente; la planimetría, el “Análisis digitalizado de Imágenes”, la Inmunofluorescencia y la Epifluorescencia

MATERIALES Y MÉTODOS

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 25 órganos que presentaban lesiones sospechosas por *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mh). En los restantes 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. Se llevó acabo 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 digitalizado de imágenes, Inicialmente se procedió a capturar la imagen de cada pulmón por ambos lados (dorsal como ventral), estas imágenes se emplearon para llevar a cabo la evaluación por medio del programa de análisis digitalizado de imágenes mediante el programa Image Pro Express versión 4, paralelamente se tomaron muestras de las zonas lesionadas, estas se conservaron en paraformaldeído para ser procesadas mediante la técnica de inclusión en parafina y llevar acabo la Inmunofluorescencia, se procedió a la realización del aislamiento del tejido lesionado el cual se sembró en medio de Friis líquido inicialmente, y sólido posteriormente. Una vez que se desarrollo el crecimiento del cultivo, se llevó acabo la observación al microscopio estereoscópico de las colonias sospechosas por *Mycoplasma hyopneumoniae*; finalmente la realización de la Epifluorescencia en la cual se corto un cubo de aproximadamente 1cm³ y se le agregó el conjugado para la observación en el microscopio de Inmunofluorescencia, donde se aprecia dicha

fluorescencia en las colonias de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

RESULTADOS

TÉCNICA	%
Planimetría	42
Análisis digital de Imágenes	32.4
Inmunofluorescencia	56
Cultivo y Aislamiento	36
Epifluorescencia	36

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir que:

Se ha utilizado en investigaciones anteriores la técnica de planimetría, propuesta por el Dr. Abel Ciprian, dicha técnica tiene ventajas como son las siguientes; Se puede realizar en condiciones de campo, es económica, rápida ya que se emplea un diagrama plantilla), de un pulmón normal sin embargo esta técnica presenta errores de precisión La técnica de análisis es la más adecuada para evaluar el porcentaje de lesiones pulmonares a nivel microscópico y que ambas técnicas nos sirven como herramientas de apoyo para el diagnostico de enfermedades respiratorias y en este caso de neumonía, Aunque nos indican el porcentaje de lesión de los pulmones dañados.

En la prueba de Inmunofluorescencia se encontró un 56% de positividad a *Mycoplasma hyopneumoniae*.

En el cultivo y el Aislamiento se obtuvo un 36% a lo cual indica que es mas confiable pero muy tardada y laboriosa.

La prueba de Epifluorescencia con un 36% de positividad muestra que es rápida y además se realiza del primo aislamiento.

Todas estas pruebas en conjunto nos dan un resultado más acertado y una idea de que agentes están involucrados en la salud de los animales.

BIBLIOGRAFIA

1. Friis NF. Micoplasmas cultivated from the respiratory tract of danish pigs. Vet Scand 1971 a:12; 116-119
2. Cruz S. T, “Manual de laboratorio para el diagnostico de neumonía enzootica” 1er ed. Editorial UNAM, México 2004