



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Estudios de Postgrado
Maestría en Estadística Aplicada

**DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y
SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA *Mycoplasma
hyopneumoniae* Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (*Sus scrofa domesticus*)
DE UNA GRANJA**

M.V. Claudio Marcello Melini Álvarez

Asesorado por la M.A. Glenda Roxana Álvarez García

Guatemala, enero de 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y
SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA *Mycoplasma
hyopneumoniae* Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (*Sus scrofa domesticus*)
DE UNA GRANJA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

M.V. CLAUDIO MARCELLO MELINI ÁLVAREZ

ASESORADO POR LA M.A. INGA. GLENDA ROXANA ÁLVAREZ GARCÍA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

MAESTRO EN ESTADÍSTICA APLICADA

GUATEMALA, ENERO DE 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Mario Renato Escobedo Martinez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Kevin Vladimir Cruz Lorente
VOCAL V	Br. Fernando José Paz González
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Inga. Aurelia Anabela Córdoba Estrada
DIRECTOR	Mtro. Ing. Edgar Darío Álvarez Cotí
COORDINADOR	Mtro. Ing. Edwin Adalberto Bracamonte Orozco
EXAMINADOR	Mtro. Ing. William Eduardo Fagiani Cruz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA *Mycoplasma hyopneumoniae* Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (*Sus scrofa domestica*) DE UNA GRANJA

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Estudios de Postgrado, con fecha 3 de agosto 2021.



M.V. Claudio Marcello Melini Álvarez

Decanato
Facultad de Ingeniería
24189101- 24189102
secretariadecanato@ingenieria.usac.edu.gt

LNG.DECANATO.OI.075.2022

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Estudios de Posgrado, al Trabajo de Graduación titulado: **DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA Mycoplasma hyopneumoniae Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (Sus scrofa domesticus) DE UNA GRANJA**, presentado por: **Claudio Marcello Melini Álvarez**, que pertenece al programa de Maestría en artes en Estadística aplicada después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:



Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada ★

Decana

Guatemala, enero de 2022

AACE/gaoc



Guatemala, enero de 2022

LNG.EEP.OI.075.2022

En mi calidad de Director de la Escuela de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del asesor, verificar la aprobación del Coordinador de Maestría y la aprobación del Área de Lingüística al trabajo de graduación titulado:

“DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA Mycoplasma hyopneumoniae Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (Sus scrofa domesticus) DE UNA GRANJA”

presentado por **Claudio Marcello Melini Álvarez** correspondiente al programa de **Maestría en artes en Estadística aplicada** ; apruebo y autorizo el mismo.

Atentamente,

“Id y Enseñad a Todos”


Mtro. Ing. Edgar Darío Alvarez Cotí
Director
Escuela de Estudios de Postgrado
Facultad de Ingeniería





Guatemala 30 de octubre 2021.

M.A. Edgar Darío Álvarez Cotí
Director
Escuela de Estudios de Postgrado
Presente

M.A. Ingeniero Álvarez Cotí:

Por este medio informo que he revisado y aprobado el Informe Final del trabajo de graduación titulado **“DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA *Mycoplasma hyopneumoniae* Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (*Sus scrofa domesticus*) DE UNA GRANJA”** del estudiante **Claudio Marcello Melini Álvarez** quien se identifica con número de carné **200414017** del programa de Maestría en Estadística Aplicada.

Con base en la evaluación realizada hago constar que he evaluado la calidad, validez, pertinencia y coherencia de los resultados obtenidos en el trabajo presentado y según lo establecido en el *Normativo de Tesis y Trabajos de Graduación aprobado por Junta Directiva de la Facultad de Ingeniería Punto Sexto inciso 6.10 del Acta 04-2014 de sesión celebrada el 04 de febrero de 2014*. Por lo cual el trabajo evaluado cuenta con mi aprobación.

Agradeciendo su atención y deseándole éxitos en sus actividades profesionales me suscribo.

Atentamente,

MSc. Ing. Edwin Adalberto Bracamonte Orozco
Coordinador
Maestría en Estadística Aplicada
Escuela de Estudios de Postgrado

Guatemala, 27 de julio de 2021

M.A. Ing. Edgar Darío Álvarez Cotí

Director

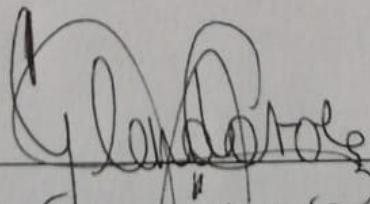
Escuela de Estudios de Postgrado

Presente

Estimado M.A. Ing. Álvarez Cotí

Por este medio informo a usted, que he revisado y aprobado el Trabajo de Graduación y el Artículo Científico: **DISEÑO EXPERIMENTAL APLICADO A LA COMPARACIÓN DEL EFECTO PRODUCTIVO Y SANITARIO DE DOS PRODUCTOS BIOLÓGICOS COMERCIALES CONTRA *Mycoplasma hyopneumoniae* Y CIRCOVIRUS (PCV2) EN CERDOS (*Sus scrofa domesticus*) DE UNA GRANJA** de la estudiante **Claudio Marcello Melini Alvarez** del programa de Maestría en **Estadística Aplicada**, identificada con número de carné: **200414017**.

Agradeciendo su atención y deseándole éxitos en sus actividades profesionales me suscribo.



MSc. Ing. Glenda Roxana Alvarez García

Colegiado No. 4057

Asesor de Tesis

Glenda Roxana Alvarez Garcia
Ingeniero Industrial
Colegiada 4057

ACTO QUE DEDICO A:

- Mis padres** Glenda Álvarez y Omar Maldonado. Por apoyarme en lo personal, profesional y académico.
- Mis hermanas** Silvana Melini y Yara Maldonado, por ser soporte en cada momento.
- Familia y amigos** Leslie De León, Erick de la Cruz, Ileana Álvarez, Juan Pablo, Marcela, y Pilar Caballeros.

AGRADECIMIENTOS A:

Universidad de San Carlos de Guatemala	Por proporcionarme el conocimiento para la mejora profesional.
Facultad de Ingeniería	Por el aporte académico.
Mis amigos de la maestría	Carlos Ríos, Nery Ruíz, André Chocó.
Personal de granja La Flor	Por la ayuda proporcionada durante la realización del estudio.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	V
LISTA DE SÍMBOLOS.....	VII
GLOSARIO.....	IX
RESUMEN.....	XI
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	XIII
OBJETIVOS	XVII
RESUMEN DEL MARCO METODOLÓGICO	XIX
INTRODUCCIÓN.....	XXIX
1. MARCO REFERENCIAL.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Diseño de experimentos	7
2.1.1. Experimento.....	8
2.1.2. Unidad experimental	8
2.1.3. Variable de respuesta	8
2.1.4. Factor controlable	8
2.1.5. Ruido	9
2.1.6. Factor estudiado	9
2.1.7. Nivel.....	9
2.1.8. Tratamiento.....	9
2.1.9. Error aleatorio	10
2.1.10. Error experimental	10
2.1.11. Repetición.....	10
2.1.12. Bloqueo.....	10

2.1.13.	Análisis de varianza de un factor	10
2.1.14.	Diseño de medidas parcialmente repetidas <i>split-plot</i>	13
2.2.	Estadística descriptiva	14
2.2.1.	Media aritmética	15
2.2.2.	Mediana	16
2.2.3.	Moda	17
2.2.4.	Percentiles.....	17
2.2.5.	Cuartiles	17
2.2.6.	Rango.....	17
2.2.7.	Varianza	18
2.2.8.	Desviación estándar	18
2.3.	Pruebas de normalidad	19
2.3.1.	Teorema del límite central	20
2.3.2.	Prueba de Kolmogorov-Smirnov.....	20
2.3.3.	Prueba de Shapiro-Wilk.....	21
2.4.	Generalidades zootécnicas y sanitarias del cerdo	21
2.4.1.	Parámetro productivo	21
2.4.1.1.	Ganancia diaria de peso	22
2.4.2.	Parámetros sanitarios.....	22
2.4.2.1.	Morbilidad	22
2.4.2.2.	Mortalidad.....	22
2.4.3.	Agentes infecciosos de los cerdos.....	23
2.4.3.1.	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	23
2.4.3.2.	<i>Circovirus</i> porcino tipo 2	24
3.	PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	25
3.1.	Morbilidad asociada a <i>M. hyopneumoniae</i> y <i>circovirus</i> (PCV2)	25

3.2.	Mortalidad asociada a <i>M. hyopneumoniae</i> y <i>circovirus</i> (PCV2).....	26
3.3.	Prueba de diferencia de proporciones	28
3.4.	Resultados de la prueba de <i>ELISA M. hyopneumoniae</i> entre animales de dos grupos experimentales.....	29
3.5.	Comprobación de supuestos para el ANOVA de medidas repetidas.....	31
3.6.	ANOVA factorial de medidas repetidas para el valor S/P de la prueba <i>ELISA</i> para <i>M. hyopneumoniae</i>	33
3.7.	Estadística descriptiva de la ganancia diaria de peso de los cerdos inmunizados con los productos biológicos comerciales.	34
3.8.	Comprobación de supuestos para el ANOVA	39
3.9.	ANOVA de la ganancia diaria de peso, entre dos grupos inmunizados con diferentes vacunas contra <i>M. hyopneumoniae</i>	40
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
4.1.	Análisis interno	43
4.1.1.	Mortalidad y morbilidad asociada a <i>M. hyopneumoniae</i> y <i>circovirus</i> (PCV2).	43
4.1.2.	Comparación de la respuesta inmunológica contra <i>M. hyopneumoniae</i> a través de la prueba de <i>ELISA</i>	45
4.1.3.	Comparación de la ganancia diaria de peso entre ambos grupos inmunizados contra <i>M. hyopneumoniae</i> y <i>circovirus</i> (PCV2).	46
4.1.4.	Evaluación de la eficacia de dos productos biológicos comerciales contra <i>Mycoplasma</i>	

	<i>hyopneumoniae</i> y <i>circovirus</i> (PCV2) en cerdos de engorde.	47
4.2.	Análisis externo.....	47
CONCLUSIONES		49
RECOMENDACIONES		51
REFERENCIAS.....		53

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1. Comportamiento de inmunidad ante <i>M. hyopneumoniae</i>	30
2. Histograma GDP por grupo	36
3. Gráfica de caja y violín GDP por grupo	36
4. Histograma GDP	37
5. Gráfica de caja y violín GDP	38
6. QQ plot GDP	38

TABLAS

I. Variables del estudio.....	XX
II. Morbilidad de cerdos del experimento a <i>M. hyopneumoniae</i> y <i>PCV2</i>	26
III. Lesiones encontradas en necropsia.....	27
IV. Mortalidad de cerdos asociadas a <i>M. hyopneumoniae</i> y/o <i>PCV2</i>	27
V. Comparación de proporciones de mortalidad asociada a <i>PCV2</i>	29
VI. Prueba de normalidad para valor S/P	32
VII. Prueba de esfericidad para valor S/P.....	32
VIII. Prueba de Levene.....	33
IX. ANOVA factorial de medidas repetidas para los valores S/P	34
X. Estadística descriptiva GDP por grupo.....	35
XI. Estadística descriptiva GDP.....	37
XII. Prueba de normalidad para GDP	39
XIII. Prueba de Levene para homogeneidad de la varianza	39

XIV. ANOVA GDP 40

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
w	Ancho de intervalo de clase.
ε	Corrección Greenhouse y Geisser.
β_k	Efecto del nivel intra sujeto.
$\eta_{i/j}$	Efecto del sujeto dentro de nivel inter sujetos.
α_j	Efecto del tratamiento experimental.
n	Elementos de la muestra.
ε_{ij}	Error de la observación bajo el tratamiento.
F	F de Fisher.
f	Frecuencia.
$y_{..}$	Media general o media de medias.
\bar{y}_i	Media muestral de un nivel.
μ	Media poblacional.
y_{ijk}	Puntuación Inter sujeto e intra sujeto.
y_{ij}	Puntuación del sujeto i en el tratamiento j.
Σ	Suma.
N	Total de observaciones.
y_i	Total muestral de un nivel.
σ^2	Varianza poblacional.

GLOSARIO

ANOVA	Análisis de la varianza.
Biológico	Sinónimo de vacuna.
ELISA	Prueba de enzimoimmunoanálisis de adsorción para detección de anticuerpos en sangre.
GDP	Ganancia diaria de peso.
Mb	Morbilidad.
MHYO	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> .
Mt	Mortalidad.
OD	Densidad óptica.
PCV2	<i>Circovirus</i> porcino tipo 2.
PRRS	Síndrome reproductivo y respiratorio porcino.
S/P	Razón muestra a positivo.
Vacuna	Sustancia que estimula al sistema inmune a generar resistencia a un patógeno específico.

RESUMEN

El propósito del presente trabajo es determinar si hay diferencia en parámetros productivos y sanitarios en el desempeño de dos vacunas para cerdos de una granja, utilizando pruebas estadísticas específicas para cada variable productiva y sanitaria.

Utilizando el diseño de experimentos se realizó la comparación de dos productos biológicos comerciales, contra dos patógenos comunes en granja (*Mycoplasma hyopneumoniae* y PCV2).

El estudio experimental se realizó con un enfoque cuantitativo con alcance correlacional, ya que los datos fueron recolectados en campo para inferir si un biológico es mejor que otro sobre las variables (GDP, valor S/P, mortalidad y morbilidad). El análisis se realizó utilizando la prueba de ANOVA para la ganancia diaria de peso, comparación de proporciones para la mortalidad y morbilidad, y el ANOVA factorial de medidas repetidas para los resultados de laboratorio.

Se estimó que no existe diferencia entre los niveles de inmunidad conferidos por ambos biológicos para *M. hyopneumoniae*, y que la ganancia diaria de peso es similar entre los grupos. En cuanto a morbilidad tampoco existe diferencia ya que no hubo signos asociados, en el caso de la morbilidad se encontró diferencia entre las proporciones de lesiones asociadas a PCV2.

El tipo de línea de investigación fue de utilidad para la comparación entre los grupos y determinar que ambos se comportan de forma similar a nivel

estadístico en cuanto a las variables analizadas. El estudio podría repetirse utilizando más variables para tener una mejor comparación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- Contexto general

Una de las granjas de engorde de cerdo de una empresa porcícola, es positiva a la bacteria *Mycoplasma hyopneumoniae*, por algunos factores adicionales como presencia de influenza porcina, estrés, cambios en la medicación en el alimento, entre otras, esta bacteria puede manifestarse clínicamente y producir signos respiratorios que según su severidad pueden impactar en la ganancia de peso, conversión alimenticia y tiempo de salida al mercado del cerdo.

Los mismos animales se consideran como positivos controlados a *circovirus*, el cual no muestra manifestación evidente, que es principalmente la mala condición corporal.

Para controlar las manifestaciones clínicas los cerdos se inmunizan a los 14 días (*Mycoplasma hyopneumoniae*) y 21 días (*circovirus*) de edad con un producto biológico mono dosis.

En el mercado guatemalteco existen varias opciones de productos biológicos para controlar esos agentes, y no se sabe si dos productos confieren protección similar o si hay alguno mejor, y cuál es más eficiente en la operación.

- Descripción del problema

Al momento de realizar necropsias se encuentran lesiones pulmonares que son asociadas a mycoplasmosis, las mismas pueden ser causadas por influenza, pero se puede asumir que la primera es la causante. Por lo cual se busca comparar los niveles de protección ante esta bacteria.

Se desconoce si hay alguna correlación entre el apareamiento de signos clínicos y/o lesiones en órganos con el tipo de producto biológico utilizado. No se sabe si es rentable o no el uso de los productos biológicos con efectos como: mayor ganancia diaria de peso, y menor mortalidad por grupo, asociado a un mejor control de los agentes y al apareamiento de signos.

- Formulación del problema

- Pregunta central

¿Cuál es la diferencia, estadísticamente detectable, que se produce al utilizar un nuevo producto biológico respecto a la mortalidad, morbilidad, y ganancia de peso en los cerdos?

- Preguntas auxiliares

¿Cuál es la proporción de casos de mortalidad y morbilidad con prevalencia de lesiones asociadas a *Mycoplasma hyopneumoniae* y circovirus (PCV2), en los cerdos del estudio de esta granja?

¿Cuál es la diferencia, estadísticamente detectable, entre los niveles de protección de los dos productos biológicos evaluados?

¿A cuánto equivale la mejora de la ganancia diaria de peso de los cerdos del estudio aplicando un nuevo producto biológico?

- Delimitación del problema

La granja fue seleccionada por su condición sanitaria e incorporación de la vacuna al plan profiláctico. Esta se encuentra ubicada en el municipio de Escuintla, departamento de Escuintla, cercana al volcán de Fuego. El tipo de granja es tradicional, lo que significa que hay un tipo de ambiente e instalaciones para cerdos de 4 a 10 semanas de edad, y otro tipo para cerdos de 11 semanas a edad de salida.

Se sabe que la granja es positiva a *M. hyopneumoniae*, *circovirus* (PCV2), Influenza, *Glässerella parasuis*, y negativa a síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS). Solo existe una línea genética en esta granja por lo cual no es un factor que afecte el comportamiento del biológico en los animales. La limitante que se tiene es que se cuenta solamente con 300 dosis del biológico de prueba, ya que el proveedor las dio sin costo, la empresa no busca comprar más de esta a menos que tenga mejores resultados.

OBJETIVOS

General

Evaluar la eficacia de dos productos biológicos comerciales contra *Mycoplasma hyopneumoniae* y *circovirus (PCV2)* en cerdos de engorde de una granja porcícola utilizando un diseño experimental con las pruebas estadísticas correspondientes.

Específicos

1. Estimar la mortalidad y morbilidad asociada a *M. hyopneumoniae* y *circovirus (PCV2)*, entre dos grupos tratados con los productos biológicos a evaluar, a través de una prueba de diferencia de proporciones para comparar su efecto.
2. Comparar la respuesta inmunológica contra *M. hyopneumoniae* a través de la prueba de *ELISA* entre animales de dos grupos, para saber si la protección de un producto biológico es significativamente mayor que la del otro, a través de la prueba ANOVA factorial de medidas repetidas.
3. Estimar la diferencia entre la ganancia diaria de peso de los cerdos inmunizados con los productos biológicos comerciales contra *M. hyopneumoniae* y *circovirus (PCV2)*.

RESUMEN DEL MARCO METODOLÓGICO

Seguidamente, se indican aspectos de las características del estudio, unidades de análisis, y fases de este.

- Características del estudio

El enfoque del estudio realizado es cuantitativo, ya que los datos son de tipo numérico discreto o continuo. Las variables corresponden al comportamiento de los productos biológicos en parámetros productivos y sanitarios de los cerdos.

El alcance del estudio es descriptivo y correlacional, siendo de tipo descriptivo, dado que se infiere la relación entre el uso de productos biológicos y la menor cantidad de signos y lesiones asociadas a dos patógenos, inmunidad conferida, así como el desempeño zootécnico de los animales tratados.

El diseño es de tipo experimental, debido a que la información de la comparación del efecto productivo y sanitario de dos productos biológicos comerciales contra *M. hyopneumoniae* y *circovirus (PCV2)* en cerdos de una granja fue a través de la manipulación de grupos de animales al inicio de la prueba y luego se capturaron los datos de forma longitudinal para los resultados finales del comportamiento de los productos.

- Unidades de análisis

La población estudiada fueron cerdos nacidos de hembras primerizas de la misma área de la granja de reproducción, la cual se encuentra dividida en

subpoblaciones dadas por lotes continuos y sexo, de la cual se extrajeron muestras a partir de la cantidad de dosis del biológico de prueba proporcionado por el proveedor y el presupuesto de pruebas diagnósticas de la empresa propietaria de los animales, dependiendo de la variable. En general, el tamaño de la muestra fue por conveniencia.

- Variables

Tabla I. **Variabes del estudio**

Variable	Definición teórica	Definición operativa
Ganancia diaria de peso (<i>GDP</i>)	Es el resultado de la diferencia entre el peso final y el peso inicial del animal, por cada día de estancia del lote. Considerando inicial al momento del destete, y final el último pesaje. Es una variable cuantitativa continua.	Cantidad de gramos (o libras) que aumento cada día, según la diferencia de dos pesos en un período. Se mide en escala de razón. Se representa como gramos/día (g/d) o libras/día (lb/d).
Resultado ELISA (<i>S/P</i>)	Detección de anticuerpos en cerdos expuestos a un patógeno. Obteniendo un valor de densidad óptica (<i>O.D.</i>) que a través de una fórmula del aparato comercial otorga una razón muestra a positivo (<i>S/P</i>). Es una variable cuantitativa continua.	El valor <i>S/P</i> no es equivalente a la titulación, se obtiene dividiendo el valor <i>O.D.</i> del pocillo de la muestra entre el <i>O.D.</i> del control positivo. Con un punto de corte determinado por especificaciones del kit de laboratorio y el patógeno, en este caso <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> . Se mide en escala de razón.

Continua tabla I.

<p>Morbili - dad (<i>Mb</i>)</p>	<p>Cantidad de individuos que muestran signos clínicos en un área y tiempo establecido, dentro del total de la población. Es una variable cuantitativa discreta.</p>	<p>De los individuos en la población de estudio, la cantidad de estos que presentan signos compatibles a los observados en cuadros de <i>PCV2</i> y/o <i>M. hypneumoniae</i>. Se mide en escala de razón</p>
<p>Mortali - dad (<i>Mt</i>)</p>	<p>Cantidad de individuos que mueren en un área y tiempo establecido, dentro del total de la población. Es una variable cuantitativa discreta.</p>	<p>Individuos que al momento de realizar necropsia tengan lesiones compatibles con <i>PCV2</i> y/o <i>M. hypneumoniae</i>, las cuales son consideradas como causas de muerte del individuo. Se mide en escala de razón.</p>

Fuente: elaboración propia.

- Fases del estudio

A continuación, se describen los componentes del estudio de forma cronológica.

- Fase 1: Revisión de literatura

Se solicitó la información pertinente del producto biológico a la empresa interesada en la prueba para conocer el comportamiento del mismo en otros sistemas productivos porcinos del país y/o la región.

Se compilaron otros estudios los cuales mencionan los efectos generales de la inmunización contra estos dos agentes y los resultados de la ausencia de esta actividad sobre la producción y sanidad en los animales. De estos últimos trabajos también se recopilaron las pruebas estadísticas utilizadas y el manejo de datos realizados, y fueron comparados con las pruebas estadísticas que el equipo de sanidad consideró pertinentes.

- Fase 2: Discusión con representantes de casa comercial

Se realizó un intercambio de ideas respecto al protocolo de aplicación del producto biológico de prueba entre el equipo de salud de la empresa propietaria de los cerdos y el equipo técnico comercial que distribuye el producto biológico, para conocer sus recomendaciones de uso y observaciones de campo. Estas se compararon con las utilizadas normalmente en el sistema de producción y se llegó a un mutuo acuerdo de la aplicación para el cumplimiento de los objetivos de ambas partes.

- Fase 3: Planificación de protocolos

Se llevó a cabo una reunión entre el personal de salud animal y personal de producción de las granjas (reproducción y engorde) donde se estableció la planificación, definición de grupos de cerdos incluidos y sus cantidades (según número de producto biológico que otorgado por la casa distribuidora), así como definición de información a recabar y logística para su obtención.

Se realizó los formatos de recopilación de información que incluye información de la identificación de cada animal según su lote y biológico administrado a las dos semanas de vida, y peso a las edades establecidas. Se realizó otro formato para recopilación de morbilidad y mortalidad de los grupos, y un tercero que llevó registro de los resultados de laboratorio por animal elegido según la edad de muestreo serológico.

- Fase 4: Ejecución de experimento y captura de información

A través de la observación, medición y recopilación de datos durante momentos específicos establecidos en el protocolo para su posterior unificación en una base de datos, se realizaron las siguientes actividades a nivel de campo:

- Selección de lechones:

Se seleccionó en la granja de reproducción, 200 lechones (100 machos, 100 hembras) semanales durante tres semanas (tres repeticiones por tratamiento), todos ellos nacidos de hembras primerizas y que correspondían al mismo día de destete (viernes).

- Muestreo serológico:

El primer muestreo serológico se llevó a cabo dos días antes de la inmunización, colectando sangre de una muestra de lechones que fueron identificados mediante un tatuaje en la oreja con numeración correlativa. La sangre fue colocada en un tubo sin anticoagulante para su transporte al laboratorio de diagnóstico para la prueba ELISA de captura de anticuerpos de *M. hyopneumoniae*. Se anotó en el formato de control serológico la edad y número tatuado correspondiente a cada muestra. El resultado de esta prueba fue seleccionado como covariable.

- Pesaje inicial:

Según orden de coordinación de salud animal de la empresa propietaria de los lechones, se realizó un pesaje inicial para igualar grupos y que se tuviera un arranque similar.

- Inmunización:

Se administró a cada grupo su vacuna correspondiente vía intramuscular al día 14 de vida, identificando cada grupo para controlar su transporte a la siguiente granja. También se les realizó identificación con una muesca en la oreja según el grupo de prueba o control.

- Segundo pesaje:

A las tres semanas de edad (ingresó a granja de engorde) se realizó otro pesaje, y a cada lechón se le colocó un arete de identificación para el

seguimiento individual de datos. Llevando esta información en la hoja de registro del lote.

- Segundo muestreo serológico:

El muestreo se realizó a las cuatro semanas de vida, colectando sangre de cada animal previamente muestreado a las dos semanas de vida, colocando en la hoja de registro la nueva identificación del arete.

- Tercer pesaje:

A las 10 semanas de edad se realizó el pesaje individual de cada cerdo, anotando en la hoja de registro el peso de acuerdo al grupo y a la identificación del arete en la oreja.

- Tercer muestreo serológico:

La actividad fue realizada a las 11 semanas de vida, una semana después de ser trasladados del área de destete a la de engorde.

- Cuarto muestreo serológico:

La actividad fue realizada a las 15 semanas de vida, anotando en la hoja de registro la identificación de cada muestra sanguínea con la correspondiente al número de arete de cada cerdo.

- Cuarto pesaje y quinto muestreo serológico:

Se realizaron ambas actividades tomando en cuenta una salida temprana a rastro, de esta manera los lotes continuaron íntegros. El peso fue tomado de forma individual, colocando el grupo y número de arete correspondiente en la hoja de registro. En la hoja de registro se anotó la identificación de cada muestra con su correspondiente número de arete.

- Registro de mortalidad y morbilidad:

La mortalidad y morbilidad fueron documentadas con los registros correspondientes durante el tiempo de la prueba. Se ingresaron los casos donde varios signos fueron sugerentes clínicamente a uno o ambos agentes, o en caso de muerte donde las lesiones encontradas durante la necropsia fuesen compatibles con lo reportado en la literatura para estas afecciones.

- Fase 5: Ordenamiento y análisis de la información.

Toda la información colocada en las hojas de registro fue ingresada a una base de datos electrónica para ordenarla en forma coherente, y luego ser trasladada a varios softwares estadísticos para poder analizar los resultados obtenidos.

Se obtuvo estadística descriptiva y pruebas de normalidad para el conjunto de datos de cada variable.

Debido a que las pruebas estadísticas indican que las poblaciones son normales, se utilizó el análisis de la varianza para la ganancia diaria de peso, y el análisis de la varianza factorial de medidas repetidas para los resultados de

la prueba de ELISA de *M. hyopneumoniae*. Para la mortalidad se utilizó la comparación de proporciones, y para la morbilidad no se utilizaron pruebas estadísticas debido a que no se encontraron signos clínicamente confirmativos a los patógenos.

- Fase 6: Interpretación y discusión de resultados

Al tener los resultados de las pruebas estadísticas para cada variable, se procedió a realizar el análisis de estos y de esta manera se cotejó cuales contribuyeron a la empresa productora de cerdos y a los distribuidores de los productos, así se validó de forma interna que se cubrieron las expectativas del experimento, para poder plasmarlos en el trabajo y en el reporte del área de salud animal en la empresa.

- Fase 7: Comunicación de resultados

Se dio a conocer la información obtenida y la interpretación de la misma a las partes interesadas en el experimento para programar futuras reuniones comerciales estratégicas para determinar si se incorporará el biológico prueba al sistema productivo y sanitario, o si se repetirá el experimento tomando en cuenta otras variables.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo fue una sistematización de un experimento en el cual se compararon los efectos sanitarios y productivos de dos vacunas para porcinos.

En granjas porcinas puede haber presencia de *Mycoplasma hyopneumoniae* y PCV2, cuya presentación puede ser clínica o subclínica. Cuando existen factores que afectan la inmunidad de los cerdos estos agentes se pueden manifestar clínicamente, y alterar los parámetros productivos y sanitarios de la granja que conllevan repercusiones económicas por manejo de tratamientos. Es necesario incorporar la inmunización para controlar la presión de infección, disminuir la presencia de lesiones y mantener parámetros productivos que garantizan la rentabilidad de la operación. Para esto se debe utilizar producto biológico de alta calidad.

A través del diseño de experimentos se realizó la comparación de dos vacunas comerciales sobre la inmunidad de cerdos y saber si existe diferencia en el nivel de protección conferido, el cual se refleja en las variables ganancia diaria de peso, morbilidad, mortalidad, y pruebas de laboratorio a través de la prueba de *ELISA* para *Mycoplasma hyopneumoniae*.

La finalidad del trabajo es describir la comparación del comportamiento de los productos biológicos en parámetros productivos y sanitarios de los cerdos, mediante pruebas estadísticas como el ANOVA, ANOVA factorial de medidas repetidas y comparación de proporciones.

Para poder llegar a la interpretación de la información obtenida se realizaron diferentes fases como lo fue revisión de literatura para poder comprender mejor el comportamiento de los biológicos y las variables, seguido por discusión del protocolo con un equipo interno y externo a la empresa para poder comunicar lo acordado a la parte operativa en granjas y así mantener un seguimiento adecuado a nivel de campo.

El experimento se inició con la elección de cerdas primerizas de tres lotes, para incluir a sus lechones en el estudio; se continuó con los pesajes, muestreos serológicos y monitoreo de la morbilidad y mortalidad asociadas a los agentes. De esta manera la información luego de ser recopilada fue ordenada, e introducida a un programa estadístico para su posterior interpretación.

Con la interpretación de los resultados se determinó que no hubo morbilidad asociada a ninguno de los patógenos, infiriendo que la protección de ambos biológicos fue buena y similar, mientras que si se encontró mortalidad asociada a *PCV2* en el grupo del biológico a prueba por lo que existe la posibilidad que contra este patógeno el producto no otorgue mejor protección al de control.

La comparación de la respuesta inmunológica contra *M. hyopneumoniae* a través de la prueba de *ELISA* en laboratorio utilizando el ANOVA factorial de medidas repetidas mostró que durante los cuatro muestreos serológicos realizados no hay diferencia en la protección otorgadas por ambos biológicos, se observó algo similar al evaluar la ganancia diaria de peso de los animales y realizar una comparación a través de la prueba de ANOVA, donde se encontró que no existe diferencia significativa entre los resultados de la variable entre cada grupo.

De acuerdo a lo anterior, es posible modificar el esquema de vacunación para sustituir el biológico control por el de prueba, sin embargo, este cambio depende de las negociaciones comerciales entre la casa distribuidora y la empresa propietaria de la granja porcina.

En el presente trabajo se expone en diferentes capítulos, el primero se desarrolló el marco referencial en donde de forma breve se mencionan investigadores y sus reportes sobre la influencia de los biológicos contra *M. hyopneumoniae* y *circovirus* porcino tipo 2 en cerdos, así como la razón de su uso en las granjas porcinas. Algunos de estos trabajos incluyen las pruebas estadísticas utilizadas para alcanzar las soluciones de los problemas.

En este primer capítulo también se tiene marco teórico donde se profundiza en las pruebas estadísticas utilizadas para el análisis de datos e información de las enfermedades a prevenir por el uso de las vacunas comparadas.

En el segundo capítulo se mencionan los resultados obtenidos en las pruebas pertinentes a cada variable, para posteriormente poderlos analizar y proporcionar una razón de porqué se obtuvieron los mismos en contraste con la literatura y experiencia de campo, y en el tercer capítulo la discusión de resultados donde se realiza el análisis interno y externo de la investigación.

1. MARCO REFERENCIAL

El comportamiento de *Mycoplasma hyopneumoniae* en granjas porcinas ha sido estudiado ampliamente por varios investigadores, con el fin de determinar el mejor momento para aplicar una vacuna, y analizar las consecuencias de no aplicarla, como las lesiones pulmonares asociadas, así como la mejor forma de tomar muestras para su detección. Algo similar ha sucedido con la vacuna para *circovirus* (PCV2). Por lo general las casas comerciales ofrecen productos biológicos con ambos agentes, ya sea para ser aplicados al mismo tiempo o con días de diferencia, pero en el mismo protocolo.

Maes, et al. (2017) mencionan que:

Mycoplasma hyopneumoniae es un patógeno específico a la especie suida. Por lo tanto, no es de preocupación zoonótica y no tiene impacto en la salud pública. Sin embargo, las infecciones por *M. hyopneumoniae* causan pérdidas económicas a la industria porcina, principalmente por la reducción del desempeño, crecimiento desigual, aumento en el número de días para llegar a peso de mercado, costos de tratamiento y control, y aumento de mortalidad en caso de complicaciones por infecciones (p.115-116).

Complementado por Matthijs, et al. (2019) quienes afirman que:

La vacunación reduce síntomas clínicos, lesiones pulmonares y pérdidas por desempeño. Sin embargo, las actuales vacunas comerciales no previenen la colonización del patógeno, ni el desarrollo de signos clínicos

y lesiones pulmonares. También, su efecto en la transmisión de la enfermedad es limitado (p.1).

Lo anterior presenta una razón por la cual se debe incorporar en las producciones porcinas los mejores productos biológicos que garanticen protección de larga duración para evitar el apareamiento de la enfermedad en forma clínica.

En cuanto a la coinfección de *Mycoplasma hyopneumoniae* y *circovirus* (*PCV2*), Opriessnig, et al. (2011), aluden que en cerdos de engorde la severidad de lesiones pulmonares y linfoides asociadas a *PCV2* es potenciada por la presencia de *M. hyopneumoniae*, así como el incremento y presencia de antígeno de *PCV2*, e incidencia de enfermedad respiratoria en cerdos.

Por lo cual, si un producto biológico no confiere los niveles de protección inmunológica contra estos dos agentes, se puede observar en las granjas aumento de signos y lesiones respiratorios, teniendo las consecuencias mencionadas por Maes, et al. (2017). También, O'Neill, et al. (2011) mencionan lesiones en pulmones asociadas a *PCV2*, como neumonía intersticial caracterizada por el engrosamiento de los septos alveolares por macrófagos y linfocitos.

Esto indica que hay otras lesiones a tomar en cuenta para estimar la presencia de enfermedad clínica por *circovirus*.

En 2008, Gallegos, et al. realizaron una prueba para evaluar el efecto de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae*, en cerdos infectados con *circovirus* porcino tipo 2 y síndrome reproductivo y respiratorio porcino, comparando la signología, serología y lesiones neumónicas características de

neumonía enzoótica en tres grupos. Uno inmunizado contra *M. hyopneumoniae* y desafiado con la bacteria, el segundo no fue inmunizado contra la bacteria, pero si desafiado, y el tercer grupo no fue inmunizado ni desafiado.

Gallegos, et al. (2008) menciona que “El grupo A-2 vacunados/desafiado mostró menor signología, se redujeron las lesiones neumónicas características de neumonía enzoótica, sin embargo, predominaron las LAT (lesiones atípicas) propias de *PCV-2* y *PRRS*” (p.1). Conocer si se siguen presentando lesiones asociadas a *M. hyopneumoniae* en cerdos inmunizados contra esta bacteria requiere mayor atención a covariables en granjas positivas y no solo en un ambiente controlado a la infección, así como soporte estadístico para saber la validez de los hallazgos, lo cual no se puede observar en el estudio por solo tener datos de proporciones.

En cuanto al *circovirus* (*PCV2*), Rapp-Gabrielson, et al. (2008) obtuvieron resultados interesantes en el grupo al que se le administró un producto biológico placebo (solución salina) y fueron desafiados a los agentes. Observaron enfermedad respiratoria severa medida por signos clínicos, con neumonía asociada a ambos agentes, y lesiones microscópicas severas asociadas a *PCV2*. Debido a que el diagnóstico por muestras de sangre es costoso en el caso de *PCV2*, una opción económica es la histopatología que permita detectar lesiones por este virus al observar en nódulos linfáticos depleción linfoidea y reemplazos histiocíticos.

Mientras que el trabajo de Witvliet, et al. (2015) sobre la eficacia y seguridad de una vacuna combinada de *Mycoplasma hyopneumoniae* y *circovirus* en cerdos de engorde, tomaron en cuenta varias variables y la prueba estadística utilizada para cada una de ellas. Por ejemplo, para los resultados serológicos utilizaron el análisis de varianza, para la morbilidad y mortalidad fue

el método de Cochran Mantel Haenszel, introduciendo el peso inicial de los cerdos como una covariable.

También Gutiérrez (2016) menciona pruebas estadísticas utilizadas en su trabajo sobre el efecto productivo de dos formas de aplicar vacunas contra *M. hyopneumoniae* y PCV2, “los parámetros productivos y los datos serológicos fueron sometidos a análisis estadístico descriptivo para comprobar el cumplimiento de supuestos para ANOVA de muestra repetidas y prueba secundaria de Tukey” (p.52). Esta mención puede ser guía en el tipo de pruebas post hoc que se pueden utilizar durante el análisis de los datos obtenidos en campo.

Maes et al. (2008) se refieren a los beneficios económicos de la vacunación como:

En piaras libres de *M. hyopneumoniae* o en piaras con niveles muy bajos de infección, la vacunación no suele recomendarse bajo estas condiciones, los beneficios de la vacunación no pueden ser lo suficientes para compensar los costos de la vacunación. En piaras con niveles altos de infección en ausencia de signos clínicos obvios, o en piaras con la enfermedad clínica, la vacunación está justificada económicamente (p. 302).

Los autores no profundizan en las razones por las cuales es rentable el uso de las vacunas, pero podría asumirse que es por la disminución de lesiones que permiten el desarrollo óptimo de los animales.

Arsenakis (2017) realizó muestreos de hisopados traqueobronquiales a cerdos de 10, 14 y 16 semanas de edad (10 por grupo) para PCR de *M.*

hyopneumoniae, así como muestras sanguíneas a las 24 semanas de edad para *ELISA* indirecta (valores *S/P* arriba de 0.4 para positivos).

También evaluaron los pulmones de 100 cerdos en el matadero para buscar lesiones en esos órganos. Para determinar la ganancia diaria de peso se realizaron pesajes individuales a las 2, 10 y 27 semanas de edad.

Para el análisis de datos utilizaron análisis de la varianza (ANOVA) para el peso y la ganancia diaria de peso, con factores fijos como el sexo. Los datos que no cumplieron los criterios de normalidad y homogeneidad de varianzas (serología), fueron analizados utilizando la prueba de Kruskal-Wallis. La tasa de mortalidad fue analizada con regresión logística, considerando los resultados como significativos con valor *p* menor o igual a 0.05.

Los autores mencionan diferentes motivos por los cuáles no debe detenerse la inmunización de las piaras ante estos agentes, principalmente por factores económicos que impactan fuertemente a los productores. Estos mencionan pruebas estadísticas utilizadas en sus investigaciones, las cuales pudieron explicar el comportamiento de algunas variables que se toman en cuenta al momento de comparar productos biológicos, como peso inicial, peso final, ganancia diaria, conversión alimenticia, lesiones pulmonares de mortalidad y en rastro, valores serológicos en *ELISA* y resultados en *PCR*.

2. MARCO TEÓRICO

En la industria porcina, según la región, existe una amplia gama de productos biológicos para el control y prevención de patógenos. Varias de las empresas dedicadas a la producción de este animal no llevan a cabo investigaciones o pruebas de las opciones disponibles, lo que da a lugar que las casas comerciales impulsen su catálogo a través de la promoción de resultados de pruebas en otros países y/o sistemas.

Las pruebas de biológicos presentadas ante las empresas productoras de cerdos pueden llegar a tener un sesgo, por lo cual los resultados no siempre son confiables, por falta de un correcto uso de las herramientas estadísticas disponibles.

La decisión del mejor producto biológico no se basa solamente en aspectos de beneficio sanitario, sino también productivos y económicos.

2.1. Diseño de experimentos

Gutiérrez y De La Vara (2012) mencionan que el diseño de experimentos puede ayudar a encontrar soluciones a interrogantes encontradas durante la comparación de productos, maquinaria, materiales, procesos, características, entre otros. Así como: “al analizar los resultados del experimento se obtienen las pautas a seguir, que muchas veces se concretan en mejoras sustanciales del proceso” (p. 2).

Por lo que el diseño de experimentos busca que se tenga información ordenada para poder ser analizada a través de la estadística, de esta manera evitar la subjetividad para responder a las preguntas iniciales ante situaciones específicas.

2.1.1. Experimento

Gutiérrez y De La Vara (2012) definen experimento como “es un cambio en las condiciones de operación de un sistema o proceso, que se hace con el objetivo de medir el efecto del cambio sobre una o varias propiedades del producto o resultado” (p. 4). El experimento ayuda al investigador a conocer desde nuevos puntos al sistema bajo prueba.

2.1.2. Unidad experimental

Es todo aquel dato o muestra que se obtiene al finalizar el experimento, el cual representa el resultado de la prueba. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.3. Variable de respuesta

Es la variable que indica el resultado final de cada prueba experimental realizada. Puede haber más de una variable de respuesta, dependiendo del experimento. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.4. Factor controlable

Cada material experimental tiene características que pueden ser controladas y manipuladas durante la operación, a estos se les conoce como

factor controlable, variable de entrada o simplemente factores. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.5. Ruido

Opuestos a los factores controlables se encuentran los no controlables (o ruido), y que son aquellos que durante la operación no pueden ser manipulados. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.6. Factor estudiado

Son variables que durante la prueba se observan para estimar su efecto sobre la variable de respuesta, con la condición de que hayan sido probados como mínimo en dos niveles. Estos factores pueden ser controlables o ruido. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.7. Nivel

Gutiérrez y De La Vara (2012) definen nivel como: “diferentes valores que se le asignan a cada factor estudiado en un diseño experimental” (p. 6).

2.1.8. Tratamiento

También conocido como punto de diseño, es cuando se combinan los niveles de los factores estudiados. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.9. Error aleatorio

El error aleatorio es definido por Gutiérrez y De La Vara (2012) como: “la variabilidad observada que no se puede explicar por los factores estudiados” (p. 6).

2.1.10. Error experimental

Este tipo de error hace referencia al ocasionado por el investigador durante el planteamiento y/o el desarrollo del experimento. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.11. Repetición

Es cuando se realiza un tratamiento varias veces, que no es lo mismo que realizar varias veces la medición de un resultado del experimento. (Gutiérrez y De La Vara, 2012).

2.1.12. Bloqueo

Gutiérrez y De La Vara (2012), lo definen como “nulificar o tomar en cuenta en forma adecuada todos los factores que pueden afectar la respuesta observada” (p. 10).

2.1.13. Análisis de varianza de un factor

Cuando el experimento posee a tratamientos diferentes, pero de un solo factor, la variable aleatoria está compuesta por cada uno de estos tratamientos. De acuerdo a Montgomery (2005), al momento que los tratamientos son

elegidos por el experimentador, se probará la hipótesis sobre las medias de los tratamientos, con las posteriores conclusiones aplicables sobre los niveles de los factores considerados, y a esto se le llama modelo con efectos fijos. Balluerka y Vergara (2002, p. 27) mencionan que el objetivo del análisis de la varianza es “comprobar si uno o más tratamientos experimentales producen un efecto determinado sobre la variable dependiente”

Este modelo se expresa de la siguiente manera de acuerdo a Montgomery (2005):

$$y_i = \sum_{j=1}^n y_{ij}, \bar{y}_i = y_i/n \quad i = 1, 2, \dots, a$$

(Ec. 01)

$$y_{..} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n y_{ij}, \bar{y}_{..} = y_{..}/N$$

(Ec. 02)

Donde y_i es el total de observaciones bajo el tratamiento i-ésimo, \bar{y}_i es el promedio de las observaciones bajo el tratamiento i-ésimo, $y_{..}$ es el total de todas las observaciones, $\bar{y}_{..}$ es el promedio de todas las observaciones, $N = an$ es el número total de observaciones. La finalidad es comprobar la igualdad que puedan tener las a medias de los tratamientos. Para ello, las hipótesis son las siguientes

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_a$$

$$H_1: \mu_i \neq \mu_j \text{ para al menos un par } (i,j)$$

Mientras que Balluerka y Vergara (2002) mencionan la ecuación:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_j + \varepsilon_{ij}$$

(Ec. 03)

Donde y_{ij} es la puntuación obtenida en la variable dependiente por el sujeto i en el tratamiento j ; μ es la puntuación media de la población de la que se ha extraído la observación; α_j es el efecto del j -ésimo tratamiento experimental; ε_{ij} es el error correspondiente a la i -ésima observación bajo el j -ésimo tratamiento.

El uso de esta prueba requiere de cierta metodología para poder llegar a la interpretación correcta (Levin y Rubin, 1996). Se sugiere:

- Plantear el problema.
- Plantear las hipótesis, en dónde se busca inferir si las muestras obtenidas tienen origen en poblaciones con medias iguales. Si se rechaza la hipótesis nula se estima la varianza poblacional desde la varianza entre las medias de las muestras, y desde la varianza dentro de las muestras.
- Calcular la varianza entre las medias muestrales.
- Calcular la varianza dentro de las muestras
- Cálculo del estadístico de prueba F.

$$F = \frac{\sigma^2 \text{entre grupos}}{\sigma^2 \text{dentro de grupos}}$$

(Ec. 04)

El denominador y el numerador son similares cuando la hipótesis nula no se rechaza. Entre más cercano esté este valor a 1, hay más posibilidad de aceptar la hipótesis nula.

- Prueba de hipótesis.

2.1.14. Diseño de medidas parcialmente repetidas *split-plot*

También conocido como diseño de parcela dividida, es aquel donde las variables intersujetos son de tipo atributivas con la finalidad de clasificar a los sujetos de la investigación.

Existen dos clasificaciones según el interés del investigador, si se quiere bloquear variables atributivas perturbadoras es un diseño de control, mientras que si se examinan la influencia diferencial que da los tratamientos en función de dicha variable atributiva se le llama diseño de interacción.

El diseño de parcelas divididas, según Balluerka y Vergara (2002, p. 282), “desde una perspectiva longitudinal, es un diseño en el que los sujetos son agrupados en función de los valores que presentan en una variable de clasificación y son observados a lo largo de una serie de puntos en el tiempo”.

Para poder realizar el análisis de la varianza se debe cumplir con los siguientes supuestos:

- Normalidad
- Homogeneidad de las varianzas (homocedasticidad)
- Independencia entre las observaciones
- Esfericidad o circularidad

En caso de que el último supuesto no se cumpla se puede realizar la corrección mediante la $\hat{\epsilon}$ de Greenhouse y Geisser.

El modelo para el análisis de la varianza del diseño de parcelas divididas sería:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_j + \eta_{i/j} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + (\eta\beta)_{ik/j} + \varepsilon_{ijk} \quad (\text{Ec. 05})$$

Donde y_{ijk} es la puntuación obtenida en la variable dependiente por el i -ésimo sujeto bajo el j -ésimo nivel de la variable inter sujetos y el k -ésimo nivel de la variable intra sujeto; μ es la media común a todas las observaciones; α_j es el efecto debido a la administración del j -ésimo nivel de la variable inter sujetos; $\eta_{i/j}$ es el efecto específico asociado al i -ésimo sujeto dentro del j -ésimo nivel de la variable inter sujetos; β_k es el efecto debido a la administración del k -ésimo nivel de la variable intra sujeto; $(\alpha\beta)_{jk}$ es el efecto debido a la interacción entre el j -ésimo nivel de la variable inter sujetos y el k -ésimo nivel de la variable intra sujeto; $(\eta\beta)_{ik/j}$ es el efecto debido a la interacción entre el i -ésimo sujeto y el k -ésimo nivel de la variable intra sujeto dentro del j -ésimo nivel de la variable inter sujetos; ε_{ijk} es el componente del error específico asociado al i -ésimo sujeto, al j -ésimo nivel de la variable inter sujetos y al k -ésimo nivel de la variable intra sujeto.

2.2. Estadística descriptiva

De acuerdo con Fernández et al. (2002), para el correcto análisis de datos es necesario ordenarlos de una manera coherente, mediante el uso de tablas y gráficos entendibles para su posterior presentación.

2.2.1. Media aritmética

Según Triola (2018, p.82), “La media (o media aritmética) de un conjunto de datos es la medida de tendencia central que se encuentra al sumar todos los valores de los datos y dividir el total por el número de datos”. Este valor también puede ser afectado por algunos factores que pueden alterar la percepción inicial de los datos. Levin y Rubin (1996, p. 87), mencionan a los valores extremos y a una gran cantidad de datos como parte de estos factores, por lo cual recomiendan agrupar datos. Aunque es probable que al realizar esto exista una ineficiencia en poder obtener un resultado confiable debido a clases de extremo abierto.

La media se puede obtener de la siguiente manera:

$$\mu = \frac{\sum x}{N}$$

(Ec. 06)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

(Ec. 07)

$$\bar{x} = \frac{\sum(f * x)}{n}$$

(Ec. 08)

La ecuación 06 se aplica para la media poblacional, donde $\sum x$ es la suma de los valores de todas las observaciones y N es el número de elementos de la población; la ecuación 07 se aplica a la media muestral, donde $\sum x$ es la suma de los valores de todas las observaciones y n es el número de elementos de la muestra; y la ecuación 08 se aplica para datos agrupados, donde $\sum(f * x)$ es la suma de la multiplicación de la frecuencia de cada clase por el punto medio de

cada clase de la muestra, y n es el número de observaciones de la muestra. (Levin y Rubin, 1996, p.82).

2.2.2. Mediana

La definición de mediana dada por Triola (2018, p.84) es “Medida de tendencia central que indica el valor intermedio, cuando los datos originales se presentan en orden de magnitud creciente (o decreciente)”. Esto no es más que el resultado del cálculo de donde se encuentra el punto medio exacto entre un listado de valores, los cuales pueden o no ser agrupados. En caso no se utilice algún software estadístico, Levin y Rubin (1996, p. 102) recomiendan ordenar los datos previo al cálculo de la mediana, lo cual puede llegar a ser tedioso u ocupar tiempo en caso tener alta cantidad de datos.

La mediana se puede obtener de la siguiente manera:

$$\text{Mediana} = \left(\frac{n+1}{2}\right) \text{ésimo término del arreglo de datos} \quad (\text{Ec. 09})$$

$$\tilde{m} = \left(\frac{\frac{n+1}{2} - (F+1)}{f_m}\right)w + L_m \quad (\text{Ec. 10})$$

La ecuación 09 se aplica para la mediana de datos no agrupados, donde n es el número de elementos del arreglo; la ecuación 10 se aplica a la mediana a partir de datos agrupados, donde n es el número total de elementos de la distribución, F es la suma de todas las frecuencias de clase hasta pero sin incluir la clase mediana, f_m es la frecuencia de la clase mediana, w es el ancho

de intervalo de clase, y L_m es el límite inferior del intervalo de clase mediano. (Levin y Rubin, 1996, p. 82).

2.2.3. Moda

Triola (2018, p. 85) define esta medida de tendencia central como “el (los) valor(es) que ocurre(n) con mayor frecuencia”. En algunos casos podemos encontrar que nuestros datos tienen más de una moda, conociéndose como distribuciones multimodales, Levin y Rubin (1996, p. 107) indican que la interpretación de dos o más modas puede no resultar sencillo. Esta medida (al igual que la mediana) no es afectada por la presencia de valores extremos.

2.2.4. Percentiles

Es una forma de agrupar los datos en 100 grupos iguales, donde cada grupo tiene un valor de 1 %. (Triola, 2018, p.115).

2.2.5. Cuartiles

Es la agrupación de los datos en cuatro grupos, cada uno representado por un aproximado al 25 %. (Triola, 2018, p.117).

2.2.6. Rango

Es la representación de la diferencia que existe entre el valor máximo y el valor mínimo en un conjunto de datos. (Triola, 2018, p.98).

2.2.7. Varianza

Es la medida obtenida de la distancia cuadrada promedio que existe entre cada uno de los datos obtenidos y la media de estos. (Levin y Rubin, 1996, p. 140). Triola (2018, p. 102) también la define como “La varianza de un conjunto de valores es una medida de variación igual al cuadrado de la desviación estándar”.

La varianza se puede obtener de la siguiente manera:

$$\sigma^2 = \frac{\sum(x - \mu)^2}{N} = \frac{\sum x^2}{N} - \mu^2$$

(Ec. 11)

En la ecuación 11 se observa que la varianza puede ser obtenida de dos formas, en ambas μ corresponde a la media de la población, x al elemento u observación, y N al número total de elementos de la población. (Levin y Rubin, 1996).

2.2.8. Desviación estándar

Es la medida que indica que tanto un grupo de datos se alejan de la media. (Triola, 2018, p.98). Levin y Rubin (1996, p. 139) la definen como “raíz cuadrada positiva de la varianza, medida de dispersión con las mismas unidades que los datos originales, más bien que en las unidades al cuadrado en que está la varianza”.

La desviación estándar se puede obtener de la siguiente manera:

$$\sigma = \sqrt{\sigma^2} = \sqrt{\frac{\sum(x - \mu)^2}{N}} = \sqrt{\frac{\sum x^2}{N} - \mu^2}$$

(Ec. 12)

Donde σ^2 corresponde a la varianza de la población, μ corresponde a la media de la población, x al elemento u observación, y N al número total de elementos de la población. (Levin y Rubin, 1996).

2.3. Pruebas de normalidad

Hines y Montgomery (1996, p. 225), mencionan brevemente el estudio de la distribución normal a través de la historia. La primera mención es en el siglo XVIII con descripciones acerca de la forma de campana que tenían las distribuciones de los errores realizados en mediciones. Luego fue presentado como parte de la distribución binomial por DeMoivre. Antes de 1775 también fue mencionado por Laplace. En 1809 Gauss publicó información respecto a este tipo de distribución. Entre los siglos XVIII y XIX se empezó a utilizar el concepto “normal”.

La aplicación de las pruebas estadísticas apropiadas para el análisis de datos puede estar determinada por el tipo de comportamiento que tiene una población o muestra. Con el conocimiento del comportamiento de los datos se puede llegar a determinar si se utilizarán pruebas paramétricas o no paramétricas para su análisis.

2.3.1. Teorema del límite central

Este teorema estipula que cuando una muestra es mayor a los 30 datos (considerada como muestra grande), la distribución seguirá un comportamiento normal sin importar cómo se encuentra distribuida su media. (Guillén y Crespo, 2006, p.119).

2.3.2. Prueba de Kolmogorov-Smirnov

La prueba de Kolmogorov-Smirnov se resume (Salgado, 2015, p.1) como una prueba de hipótesis, que establece si se rechaza la hipótesis nula la cual afirma que los datos están ajustados a la distribución $F(x)$, mientras que la hipótesis alterna indica que no hay tal ajuste. El estadístico de prueba utilizado es D_c :

$$D_c = \text{Max}\{|H_{i-1} - F_i|, |H_i - F_i|\}$$

(Ec. 13)

Contrastándolo con la tabla de la prueba tomando en cuenta el nivel de confianza y el tamaño de la muestra. Cuando el estadístico de prueba es mayor al encontrado en la tabla se rechaza la hipótesis nula.

Sheskin (2003) también menciona que es una prueba para datos ordinales, debido a que se realiza una distribución de frecuencia acumulativa

2.3.3. Prueba de Shapiro-Wilk

El resumen de esta prueba, mencionado por Hain (2010, p. 8), es que esta consiste en la combinación de datos contenidos en la probabilidad normal con información del estimador de la desviación estándar de la muestra. El estadístico de prueba es W:

$$W = \frac{(\sum_{i=1}^n a_i y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

(Ec. 14)

También se hace mención que el sesgo es menos pronunciado en muestras pequeñas, y mientras más grande sea la muestra se observa un sesgo hacia la izquierda.

2.4. Generalidades zootécnicas y sanitarias del cerdo

Los parámetros productivos y sanitarios en la producción porcina varían según la finalidad del programa, estudio o control. A continuación, se listan algunos de ellos.

2.4.1. Parámetro productivo

Se conoce como parámetro productivo a aquel dato o variable que ayuda a explicar el comportamiento y desempeño de un animal o de un grupo de animales dentro de un sistema zootécnico.

2.4.1.1. Ganancia diaria de peso

Abreviado como GDP, se refiere a la cantidad de libras o gramos de peso que aumenta un animal o un grupo de animales en determinado tiempo, por lo general diariamente. (Caravaca et al., 2003, p. 238). Se obtiene de la siguiente manera:

$$GDP = \frac{\textit{peso final} - \textit{peso inicial}}{\textit{tiempo entre pesos}}$$

(Ec. 15)

2.4.2. Parámetros sanitarios

El parámetro sanitario es una manera de conocer el comportamiento de un animal o un grupo de animales desde el punto de vista de su salud.

2.4.2.1. Morbilidad

Corresponde a la cantidad de individuos que en cierto tiempo y en cierto lugar se llegan a enfermar dentro de una población.

2.4.2.2. Mortalidad

Cantidad de individuos muertos que se dan por una enfermedad determinada, o asociada a esta, en una población en un momento determinado.

2.4.3. Agentes infecciosos de los cerdos

Se conoce como agente infeccioso a todo organismo capaz de causar una enfermedad infecciosa. A continuación, se mencionan dos microorganismos que afectan a los cerdos.

2.4.3.1. *Mycoplasma hyopneumoniae*

Es una bacteria, la cual es eliminada por el cerdo a través de secreciones nasales. Se caracteriza por producir una colonización del epitelio respiratorio ciliado de largo plazo, causando que la inmunidad pulmonar sea suprimida. Parte de sus características es que tiene alta morbilidad, baja mortalidad, causa pobre desarrollo en los cerdos, y es un cuadro crónico con consecuencias económicas por disminución en la ganancia diaria de peso, aumento en la conversión alimenticia, y aumento en el número de días para llegar al peso de mercado.

La respuesta inmune previene hasta cierto punto la diseminación de la bacteria, pero no logra eliminar de forma rápida la infección pulmonar.

Algunos de los signos que se pueden observar son disnea, tos, fiebre, postración, anorexia, y muerte. Las lesiones macroscópicas más comunes se encuentran en los lóbulos pulmonares apicales, cardíacos e intermedio, y se describen como tejido pulmonar firme de color oscuro, con los nódulos linfáticos agrandados.

Para el control y prevención de este patógeno se utiliza la vacunación. Y puede llegar a mejorar la ganancia diaria de peso entre un 2 a 8 %, la conversión alimenticia en un 2 a 5 %, así como la cantidad de lesiones

pulmonares observadas y disminución en los costos de tratamiento. A pesar de esto, se debe considerar que el biológico no previene la colonización del tracto respiratorio por la bacteria. (Pieters y Maes, *Diseases of Swine*. 2019, p. 870).

2.4.3.2. *Circovirus* porcino tipo 2

Es un virus ADN del género *Circovirus* de la familia *Circoviridae*, también conocido como *PCV* por sus siglas en inglés, y no es zoonótico. Se han descrito tres tipos de circovirus porcino: *PCV1*, *PCV2* y *PCV3*. Dentro del *PCV2* existen cinco genotipos (*PCV2a*, *PCV2b*, *PCV2c*, *PCV2d*, y *PCV2e*).

Existen diferentes formas en que se presenta el *PCV2*, como lo es la enfermedad sistémica donde se ve comprometido el sistema inmune, observándose desmedro, palidez en la piel, disnea, diarrea y en algunos casos ictericia.

También se menciona el síndrome porcino de dermatitis y nefropatía, donde se llega a observar hasta el 100 % de mortalidad en cerdos mayores a tres meses de edad. Los signos clínicos más comunes son anorexia, depresión, pirexia, postración, máculas y pápulas rojizas-moradas en la piel (principalmente en miembros posteriores y área perineal).

La forma sistémica se puede controlar con el uso de vacunas dentro del esquema de prevención. Actualmente la mayoría de vacunas comerciales contienen el genotipo *PCV2a*. (Segalés, Allan y Domingo, *Diseases of Swine*, 2019, p. 483).

3. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

A continuación, se presentan los siguientes resultados de acuerdo con los objetivos planteados.

- Objetivo 1. Estimar la mortalidad y morbilidad asociada a *M. hyopneumoniae* y circovirus (PCV2) entre dos grupos tratados con los productos biológicos a evaluar, a través de una prueba de diferencia de proporciones para comparar su efecto.

3.1. Morbilidad asociada a *M. hyopneumoniae* y circovirus (PCV2)

Para la evaluación de la morbilidad se tomaron en cuenta los signos clínicos reportados por el personal de granja a cargo de los animales y el personal de salud de la empresa. Durante la realización del experimento se encontró un signo sugerente a *M. hyopneumoniae* el cual fue la tos seca, y no se observaron otros que pudiesen relacionarse a esta bacteria y ayudar a su diagnóstico. En el caso de PCV2 no se observaron signos clínicos sugerentes a la presencia del virus en los animales del experimento.

La presencia de tos es dificultosa de cuantificar debido a que la cantidad de animales que la presentan es subjetiva a la persona realizando la toma de datos y a que es esporádica en los animales, la misma es parte de la signología de otras enfermedades porcinas.

Por lo que no hay resultados comparables en cuanto a morbilidad entre los grupos, como se observa en la siguiente tabla:

Tabla II. **Morbilidad de cerdos del experimento a *M. hyopneumoniae* y PCV2.**

Morbilidad					
Grupo	Lote	Total	Asociada a MHYO	Asociada a PCV2	Población
Control	10	0	0	0	100
Control	11	0	0	0	100
Control	13	0	0	0	100
Prueba	10	0	0	0	100
Prueba	11	0	0	0	100
Prueba	13	0	0	0	100

Fuente: elaboración propia.

3.2. Mortalidad asociada a *M. hyopneumoniae* y *circovirus* (PCV2)

En el caso de la mortalidad atribuible a estos patógenos, se encontraron lesiones sugerentes a la presencia de PCV2 como lo es el edema pulmonar (clasificado como neumonía intersticial) durante la necropsia. En el caso de *M. hyopneumoniae* no se encontraron lesiones sugerentes que puedan ser atribuibles a ser una causa de mortalidad.

A continuación, se presentan los resultados de las causas de mortalidad atribuidas según las principales lesiones encontradas durante la necropsia, en ambos grupos.

Tabla III. **Lesiones encontradas en necropsia.**

Grupo	Lote	ID	Sexo	Edad (semanas)	Lesión
Control	10	609	M	7	Poliserositis
Control	10	679	M	7	Poliserositis
Prueba	10	711	M	10	Neumonía intersticial
Prueba	10	717	H	5	Poliserositis
Prueba	10	729	H	13	SHI
Prueba	11	827	H	7	Neumonía intersticial
Prueba	11	842	H	7	Neumonía intersticial
Prueba	13	378	M	6	Neumonía intersticial
Prueba	13	411	H	4	Neumonía intersticial

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Mortalidad de cerdos asociadas a *M. hyopneumoniae* y/o PCV2.**

Mortalidad					
Grupo	Lote	Total	Asociada a MHYO	Asociada a PCV2	Población
Control	10	2	0	0	100
Control	11	0	0	0	100
Control	13	0	0	0	100
Prueba	10	3	0	1	100
Prueba	11	2	0	2	100
Prueba	13	2	0	2	100

Fuente: elaboración propia.

En la tabla II puede observarse que en el grupo control solo hubo dos cerdos muertos, ambos a las 7 semanas con la misma lesión (poliserositis), esta no está asociada a *Mycoplasma hyopneumoniae* ni a *circovirus* porcino tipo 2.

Mientras que el grupo del biológico de prueba tuvo un total de siete cerdos muertos desde las 4 hasta las 13 semanas de vida, clasificándose según las causas establecidas en granja como poliserositis, síndrome hemorrágico intestinal y neumonía intersticial. Colocando esta lesión como referencia a la presencia clínica de *PCV2* (ninguna de estas lesiones se ha reportado como presentes por *Mycoplasma hyopneumoniae*) y por lo tanto causa directa de la muerte de los animales.

En la tabla III se presenta la cantidad de cerdos muertos del experimento con causa asociada tanto a *M. hyopneumoniae* y *circovirus* porcino tipo 2.

3.3. Prueba de diferencia de proporciones

Colocando como hipótesis nula que ambas proporciones son iguales (o la diferencia entre las proporciones es igual a 0), se realizó una prueba para las dos proporciones, cada una asociada a la cantidad de bajas obtenidas del total de individuos en su grupo del experimento.

La proporción del grupo control es de 0 (0/300), y la proporción del grupo prueba es de 0.017 (5/300). Únicamente sobre mortalidad asociada a *PCV2*.

Obteniendo un valor p de 0.024, el cual indica que si existe diferencia estadísticamente significativa contrastándolo con un alfa al 5%, y se rechaza la hipótesis nula (Tabla IV) entre las proporciones de mortalidad atribuible a uno de los dos agentes, infiriendo que quién tuvo menor mortalidad asociada fue el grupo con la vacuna control, probablemente por mayor protección inmunitaria.

Tabla V. **Comparación de proporciones de mortalidad asociada a PCV2.**

Hipótesis nula	$H_0: p_1 - p_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: p_1 - p_2 \neq 0$	
Método	Valor Z	Valor p
Aproximación normal	-2.25	0.024
Exacta de Fisher		0.061

Fuente: elaboración propia.

- Objetivo 2. Comparar la respuesta inmunológica contra *M. hyopneumoniae* a través de la prueba de *ELISA* entre animales de dos grupos, para saber si la protección de un producto biológico es significativamente mayor que la del otro, a través de la prueba ANOVA factorial de medidas repetidas.

3.4. Resultados de la prueba de *ELISA M. hyopneumoniae* entre animales de dos grupos experimentales

La prueba de *ELISA* es una ayuda para conocer el nivel de protección que otorga un biológico a un individuo o para la evaluación de la respuesta inmune ante un desafío del agente correspondiente.

Existen diferentes *kits* de diagnóstico de *ELISA*, para el experimento realizado se utilizó el establecido en un laboratorio de la empresa hermana de la propietaria de los cerdos, el cual ya tiene procesos estandarizados y controles periódicos, así como unos valores en los resultados para su interpretación, el cual toma como positivo al valor *S/P* igual o mayor a 0.4.

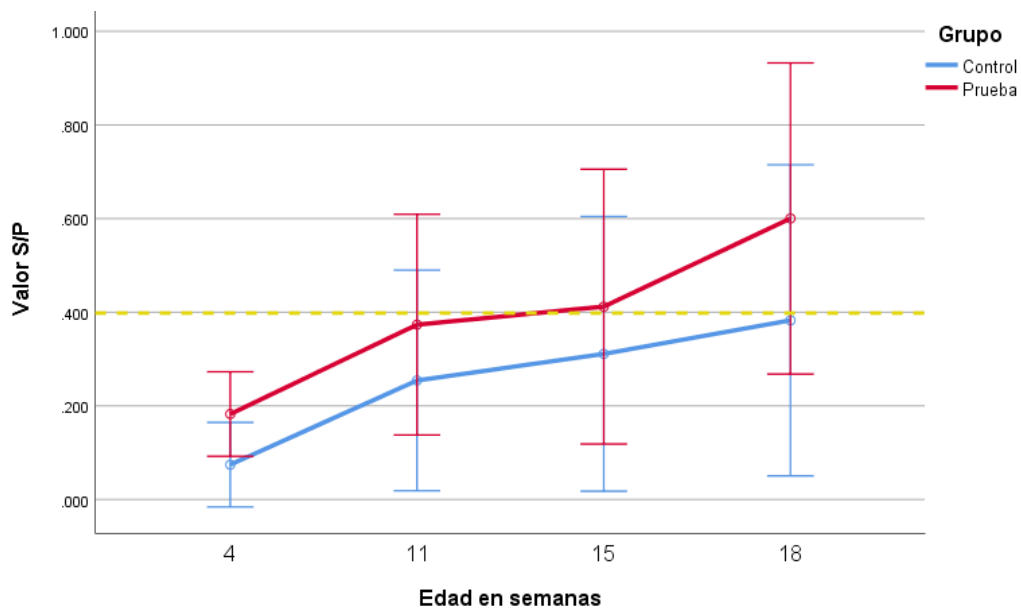
Cabe mencionar que la especificidad y sensibilidad de la prueba depende mucho de la casa comercial del *kit* y del agente que se está buscando. Se

puede considerarse como normal que a las cuatro semanas de edad los animales sean positivos a ciertos agentes debido a la presencia de anticuerpos maternos otorgados en el calostro, siempre dependiendo del programa de vacunación de las madres.

Estos valores van disminuyendo con el tiempo y en su lugar se observan los proporcionados por la inmunización, aunque estos se esperan que no aparezcan en las pruebas como positivos.

En la siguiente figura se observa el comportamiento de los valores encontrados en suero, en la prueba de *ELISA* para *Mycoplasma hyopneumoniae* a los mismos cerdos durante diferentes momentos de su vida.

Figura 1. **Comportamiento de inmunidad ante *M. hyopneumoniae*.**



Fuente: elaboración propia, realizado con software SPSS.

Se observa que ambos grupos a las cuatro semanas presentan un valor *S/P* bajo, en lo que se puede interpretar que probablemente el nivel de anticuerpos maternos no fue el apropiado o los biológicos no lograron elevarlos en cantidades esperadas, lo primero puede explicarse porque todos los animales del experimento son nacidos de hembras primerizas, y está documentado que muchas veces la hembra primeriza no otorga una apropiada inmunidad en el calostro.

Posteriormente se observa que en ambos biológicos el comportamiento del valor *S/P* tiene tendencia al alza, llegando el biológico de prueba a tener cerdos positivos a partir de la semana 15 y 18 de edad, mientras que el biológico de control se mantiene por debajo de los niveles de positividad, en comparación de sus medias pero al incluir en la comparación los intervalos de confianza se aprecia que es probable que a partir de la semana 11 ambos grupos presenten resultado positivos en la prueba de laboratorio.

A simple vista se podría llegar a considerar al biológico de control como el más apropiado para la protección contra la bacteria, pero se necesita de una prueba estadística para la comparación apropiada.

3.5. Comprobación de supuestos para el ANOVA de medidas repetidas

Realizando la prueba de Shapiro-Wilk, se obtuvo que los datos en cada una de las semanas de medición tienen un comportamiento normal según los valores *p* obtenidos, con un alfa del 5 %. Detallados en la siguiente tabla.

Tabla VI. **Prueba de normalidad para valor S/P**

Valor S/P por edad	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
SP_4s	0.849	10	0.057
SP_11s	0.898	10	0.208
SP_15s	0.89	10	0.168
SP_18s	0.928	10	0.432

Fuente: elaboración propia.

Se observa que, durante cada uno de los muestreos correspondientes a la edad de los lechones en la primera columna, el valor p (en la última columna) está arriba del valor de alfa, por lo que no se rechaza la hipótesis nula que establece que el comportamiento de los datos es normal.

En cuanto a la esfericidad (de Mauchly) se encontró que las variaciones de las diferencias entre todos los pares intrasujeto son diferentes, siendo el valor p de la prueba 0, por lo que se realizó la transformación de Greenhouse-Geisser y se obtuvo que estas variaciones sí son iguales, con un valor p de 0.666 con un alfa al 5 % sobre la ϵ de la transformación, como se observa en la tabla VI.

Tabla VII. **Prueba de esfericidad para valor S/P**

Efecto intra-sujetos	W de Mauchly	Aprox. Chi-cuadrado	gl	Sig.	Épsilon	
					Greenhouse-Geisser	Límite inferior
SP	0.192	25.915	5	0	0.666	0.333

Fuente: elaboración propia.

Realizando una comprobación de la homocedasticidad a través de la prueba de Levene a las diferentes edades de la toma de muestras entre los grupos, con un alfa al 5 %, se obtuvo valores p arriba de este indicando que existe homocedasticidad en los resultados de esos períodos, como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla VIII. **Prueba de Levene**

Valor S/P por edad	F	df1	df2	p
SP_4s	1.413	1	18	0.25
SP_11s	3.005	1	18	0.1
SP_15s	1.025	1	18	0.325
SP_18s	0.78	1	18	0.389

Fuente: elaboración propia.

Con los resultados anteriores se cumplen los supuestos del ANOVA factorial de medidas repetidas para comparar el resultado general entre ambos grupos.

3.6. ANOVA factorial de medidas repetidas para el valor S/P de la prueba *ELISA* para *M. hyopneumoniae*

El ANOVA factorial de medidas repetidas se realizó de dos formas, en la primera no se tomó en cuenta el nivel de inmunidad de cada animal a las dos semanas de vida, previo a la inmunización con ambos biológicos; y la segunda utilizando este dato como covariable. En ambas pruebas se obtiene un valor mayor al alfa al 5 %, como se observa en la última columna de la tabla VIII. Por lo que se sigue considerando que la respuesta inmune para los cerdos sigue siendo la misma entre los biológicos comparados.

Tabla IX. **ANOVA factorial de medidas repetidas para los valores S/P**

	Suma de los cuadrados	gl	Media cuadrada	F	p
GRUPO	0.368	1	0.368	0.966	0.339
SP_2s	0.285	1	0.285	0.746	0.4
Residual	6.483	17	0.381		

Fuente: elaboración propia.

- Objetivo 3. Estimar la diferencia entre la ganancia diaria de peso de los cerdos inmunizados con los productos biológicos comerciales contra *M. hyopneumoniae* y *circovirus* (PCV2).

Se realizó una comparación entre la ganancia diaria de peso de los animales en el grupo control y los del grupo prueba, tomando en cuenta pesajes a las 3 semanas y 18 semanas de vida, con un total de 104 días de estancia en granja. Los resultados fueron utilizados con la dimensional peso vivo en libras.

3.7. Estadística descriptiva de la ganancia diaria de peso de los cerdos inmunizados con los productos biológicos comerciales.

Realizando inicialmente una exploración de los datos con estadística descriptiva para cada grupo se observa lo siguiente (Tabla IX): entre grupos, la media y la mediana son cercanos, aunque la moda si es diferente siendo la del grupo prueba levemente mayor. La desviación estándar, y por lo tanto la varianza es similar entre ambos grupos. El valor mínimo del grupo prueba llama la atención, ya que indica un pobre desempeño de ese grupo de animales, mientras que el valor máximo es cercano entre grupos. Esto se puede observar en la figura 3.

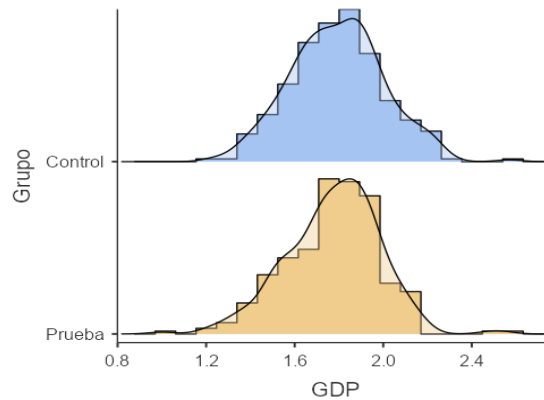
En cuanto a la asimetría de los datos, observamos que el grupo control tiene una asimetría hacia la derecha (positiva), mientras que el grupo prueba tiene una asimetría hacia la izquierda (negativa). Respecto a la curtosis, ambos grupos presentan una distribución leptocúrtica. Ambos datos se observan en la figura 2.

Tabla X. **Estadística descriptiva GDP por grupo**

	Grupo	GDP
Media	Control	1.79
	Prueba	1.77
Mediana	Control	1.79
	Prueba	1.8
Moda	Control	1.72
	Prueba	1.87
Desviación estándar	Control	0.211
	Prueba	0.212
Varianza	Control	0.0446
	Prueba	0.0448
Mínimo	Control	1.23
	Prueba	1
Máximo	Control	2.57
	Prueba	2.54
Asimetría	Control	0.122
	Prueba	-0.229
Curtosis	Control	0.115
	Prueba	0.844

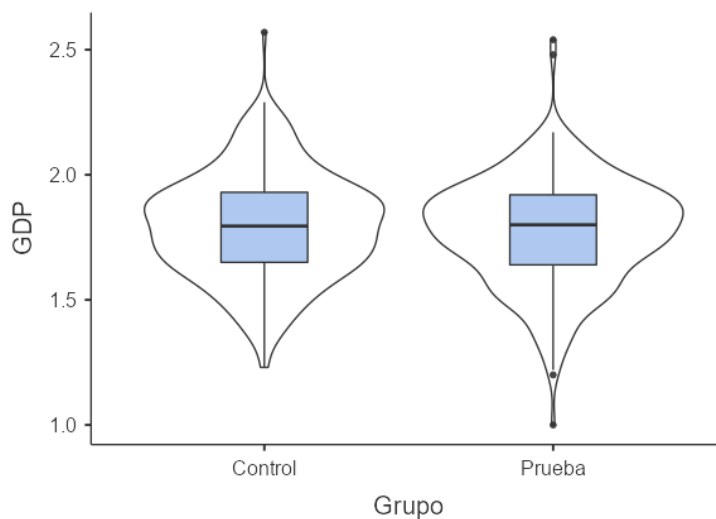
Fuente: elaboración propia.

Figura 2. **Histograma GDP por grupo**



Fuente: elaboración propia, realizada con software Jamovi.

Figura 3. **Gráfica de caja y violín GDP por grupo**



Fuente: elaboración propia, realizada con software Jamovi.

Al realizar el análisis exploratorio de los datos sin separación de grupo, para conocer su comportamiento general se obtuvo lo siguiente (Tabla X): La media y la mediana son similares, con una desviación estándar de 0.212 libras. La asimetría es negativa con un valor de -0.052, y la curtosis indica que los

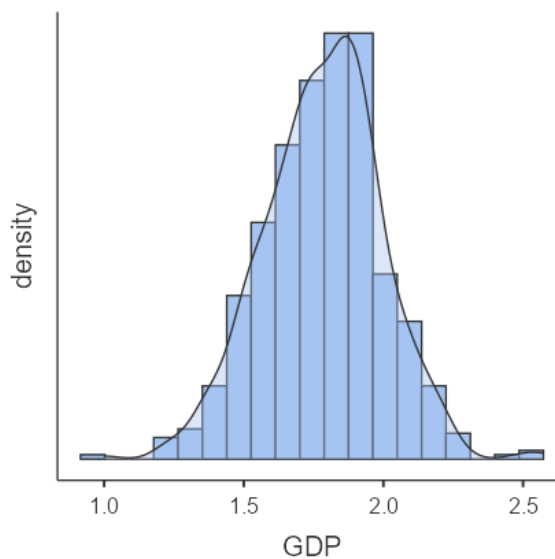
datos tienen una curva leptocúrtica con un valor de 0.495. Al observar el histograma, diagrama de cajas y el *qq plot* se puede llegar a establecer que los datos tienen una distribución normal.

Tabla XI. **Estadística descriptiva GDP**

	GDP
Media	1.78
Mediana	1.8
Moda	1.72
Desviación estándar	0.212
Varianza	0.0448
Mínimo	1
Máximo	2.57
Simetría	-0.0523
Curtosis	0.495

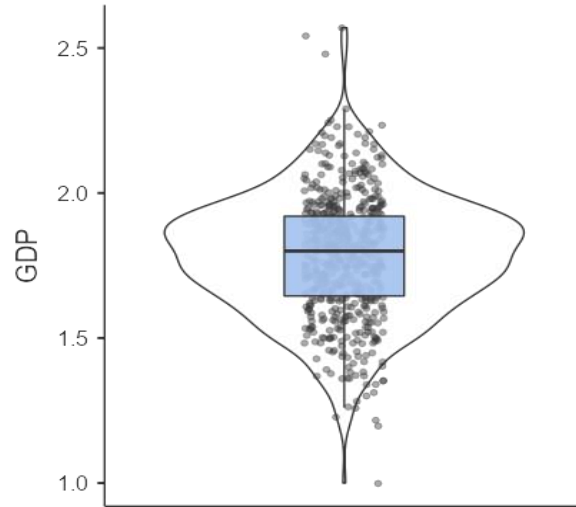
Fuente: elaboración propia.

Figura 4. **Histograma GDP**



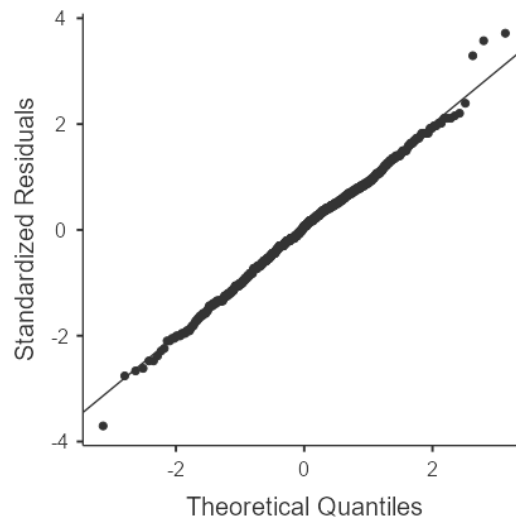
Fuente: elaboración propia, realizada con software Jamovi.

Figura 5. **Gráfica de caja y violín GDP**



Fuente: elaboración propia, realizada con software Jamovi.

Figura 6. **QQ plot GDP**



Fuente: elaboración propia, realizada con software Jamovi.

3.8. Comprobación de supuestos para el ANOVA

Gráficamente se podría inferir que el comportamiento de los datos es normal, pero se debe tener un respaldo estadístico que compruebe lo anterior, por lo que se realizó la prueba de Komogorv-Smirnov (Tabla XI), con un alfa al 5 % se obtuvo un valor p de 0.079, indicando que los datos de la GDP tienen un comportamiento normal. Por lo que se puede continuar realizando el uso de estadística paramétrica.

Tabla XII. **Prueba de normalidad para GDP**

Kolmogorov-Smirnov			
Variable	Estadístico	Grados de libertad	Significancia
GDP	0.035	584	0.079

Fuente: elaboración propia.

La homogeneidad de la varianza fue comparada a través de la prueba de Levene (Tabla XII), donde se observa que con un alfa al 5 % se obtiene que las varianzas presentan igualdad al presentar un valor p con 0.964.

Tabla XIII. **Prueba de Levene para homogeneidad de la varianza**

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
GDP	Basado en la media	0.020	1	581	0.964

Fuente: elaboración propia.

3.9. ANOVA de la ganancia diaria de peso, entre dos grupos inmunizados con diferentes vacunas contra *M. hyopneumoniae*

Al realizar una comparación entre ambos biológicos utilizando la prueba ANOVA con un alfa al 5 %, se obtiene un valor p de 0.240 que indica que no existe diferencia en la ganancia diaria de peso obtenida en una estancia de 104 días entre los grupos del experimento. Por lo que se infiere que ambos productos no son diferentes entre sí para que uno mejore o no la ganancia diaria de peso de los animales.

Tabla XIV. ANOVA GDP

	Suma de los cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrada	F	p
Grupo	0.062	1	0.062	1.39	0.24
Residuales	25.9858	581	0.0447		

Fuente: elaboración propia.

- Objetivo general. Evaluar la eficacia de dos productos biológicos comerciales contra *Mycoplasma hyopneumoniae* y *circovirus (PCV2)* en cerdos de engorde de una granja porcícola utilizando un diseño experimental con las pruebas estadísticas correspondientes.

Se encontró que la ganancia diaria de peso cumplió con las expectativas del personal encargado de la granja, en ambos grupos, y de acuerdo a las pruebas estadísticas utilizadas no hay diferencia entre ambos resultados por lo que se puede inferir que los productos son eficaces en proveer la suficiente inmunidad para no afectar el crecimiento y desempeño de los animales, esto

está unido a lo encontrado en los valores *S/P* que también indican que hubo una respuesta aceptable ante la presión de infección, y que aunque el grupo prueba tuvo animales positivos durante dos muestreos, estadísticamente no hay diferencia entre estos resultados. En cuanto a la morbilidad solo se observó de *PCV2* con una proporción muy baja, cuya diferencia es estadísticamente significativa a favor del grupo control ya que este no presentó casos.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente capítulo se presenta la discusión de resultados obtenidos mediante la aplicación del diseño de experimentos.

4.1. Análisis interno

A continuación, se desarrollan los resultados obtenidos en el capítulo anterior, con un enfoque interno del experimento.

4.1.1. Mortalidad y morbilidad asociada a *M. hyopneumoniae* y *circovirus* (PCV2).

Desde el inicio hasta el final del experimento se dio seguimiento diario a dos variables, de tres formas: 1) a nivel de lote de animales; 2) a nivel de corrales de la galera; 3) a nivel individual. Por lo general el diagnóstico clínico, en cerdos, se realiza en una combinación de las últimas dos formas para obtener un panorama de la población.

Al ingresar los animales al área de destete, algunos ya presentaban presencia de estornudos y/o tos, pero por tener tres semanas de vida se descartaron estos signos como parte del cuadro de *M. hyopneumoniae*.

En el transcurso de los siguientes 104 días se realizó el monitoreo de presencia de signos asociados, y aunque se detectaron casos de tos seca, no se observaron animales con dificultad respiratoria, fiebre, anoréxicos o postrados. Por ser una granja positiva a Influenza porcina, cuya signología es

similar a *M. hyopneumoniae*, por lo que solo con diagnóstico clínico no se pudo determinar la presencia de signos evidentes para el agente esperado.

A nivel de campo, los cerdos no presentaron tal signología por lo que los datos (al igual que *M. hyopneumoniae*) fueron colocados como “morbilidad=0” en la tabla I. Este resultado puede ser sugerente a que ambas vacunas lograron conferir la suficiente inmunidad para que con algún desafío de los agentes en campo no se manifestara la enfermedad de forma clínica.

En cuanto a la mortalidad, se encontraron cinco casos sospechosos del virus debido a la lesión de edema pulmonar clasificado como “neumonía intersticial”. Se les atribuyeron a *PCV2*, aunque no se pudo realizar una prueba de laboratorio confirmativa y que el síndrome causado por este virus por lo general se observa entre las 8 y 16 semanas de vida, de los cuales solo uno de los casos está dentro de ese rango etario.

Aun así, se incluyeron por ser sugerentes. Se esperaba que de encontrarse lesiones sugerentes a *Mycoplasma* se realizará una confirmación mediante la prueba de laboratorio *PCR*, pero como se muestra en la tabla II, no se reportan lesiones de consolidación pulmonar por lo que no hay mortalidad asociada a esta bacteria.

El resultado de la comparación de proporciones de la mortalidad asociada a estos agentes fue que si existe diferencia estadísticamente significativa para el caso de *PCV2* a favor del grupo control que tuvo cero casos asociados.

4.1.2. Comparación de la respuesta inmunológica contra *M. hyopneumoniae* a través de la prueba de *ELISA*.

A través de la prueba estadística ANOVA de medias repetidas se realizó el análisis del comportamiento de los valores *S/P* de la prueba de *ELISA* anticuerpo, sobre *M. hyopneumoniae* en suero porcino. Tomando los resultados del valor *S/P* a las dos semanas de edad (con días previos a la inmunización) como covariable, y con un alfa de 0.05, se obtuvo que, estadísticamente, entre los dos tipos de vacunas no existe diferencia significativa en el nivel de protección que otorgan ($p=0.4$). El resultado de este análisis podría estar en que la muestra para cada grupo fue muy baja.

De forma gráfica y sin tomar en cuenta el resultado del ANOVA factorial de medidas repetidas se infiere que el biológico del grupo control da más tiempo de protección frente al desafío sanitario en granja, en comparación al biológico de prueba que inicia a tener cerdos positivos a *M. hyopneumoniae* a las 15 semanas de edad, como se observa en la figura I, si no se tomarán en cuenta los intervalos de confianza. Al incluirlos en la comparación visual se puede inferir que desde las 11 semanas de edad puede haber casos positivos en ambos grupos.

Al realizar el ANOVA factorial de medidas repetidas se obtiene que con los resultados de los valores *S/P* a las dos semanas como covariable y sin ellos el valor p se mantiene arriba del alfa, indicando no hay diferencia estadísticamente significativa, lo que valida los resultados proporcionados por las casas comerciales respecto al comportamiento adecuado de su biológico.

4.1.3. Comparación de la ganancia diaria de peso entre ambos grupos inmunizados contra *M. hyopneumoniae* y *circovirus* (PCV2).

La ganancia diaria de peso se obtuvo mediante el resultado de la diferencia en el pesaje a las 18 semanas de edad y el pesaje a las 3 semanas de edad, como numerador, y como denominador la cantidad de días de estancia en la granja (104 días), usando la dimensional libra.

El pesaje fue realizado para los tres lotes de animales los mismos días de edad, con la observación de la identificación de cada cerdo, y obteniendo resultado de la báscula por lectura y anotación de las mismas personas, para evitar variabilidad en la toma de datos.

En la estadística descriptiva se pudo evidenciar con el gráfico de *qq plot* que la distribución de los datos es normal, con un valor $p=0.079$ en la prueba de Kolmogorv-Smirnov, que está en el límite de lo normal, realizando la pruebas para comprobar independencia de los datos y homocedasticidad se pudo comprobar que se podía continuar con el uso de la prueba de ANOVA.

Al realizar la prueba de ANOVA, con un alfa al 0.05, se obtuvo un valor $p=0.240$, indicando que no hay diferencia estadísticamente significativa entre la GDP del grupo prueba y el grupo control. Ambas vacunas cumplieron con el objetivo de mantener la inmunidad para poder mantener los parámetros productivos esperados en granja.

4.1.4. Evaluación de la eficacia de dos productos biológicos comerciales contra *Mycoplasma hyopneumoniae* y circovirus (PCV2) en cerdos de engorde.

A través del diseño de experimentos, utilizando ANOVA de medidas repetidas se estimó que no existe diferencia entre los niveles de inmunidad conferidos por ambos biológicos con niveles aceptables en la prueba de *ELISA* para *M. hyopneumoniae*, de igual manera es muy probable que los productos confieren la inmunidad deseada debido a que a través de la prueba de ANOVA se observó que la ganancia diaria de peso no se ve afectada y entre los grupos es similar.

En cuanto a morbilidad tampoco existe diferencia ya que no hubo signos asociados a los agentes infecciosos, en el caso de la morbilidad si se encontró diferencia entre las proporciones de lesiones asociadas a PCV2, siendo el grupo control el que no presentó ningún caso, por lo cual se considera como mejor.

Los resultados estadísticos indican que al no haber diferencia entre los productos, cualquiera puede ser utilizado en la población de cerdos para prevenir infecciones de *M. hyopneumoniae* y PCV2, y la elección de uno de ellos dependería del precio por dosis a negociarse entre las empresas proveedoras y la administración financiera de la empresa porcícola.

4.2. Análisis externo

En cuanto a morbilidad de *M. hyopneumoniae*, Pieters y Maes, mencionan que es alta, y los signos clínicos presentes no son patognomónicos, por lo que si en una granja se encuentran presentes otras bacterias y/o virus se

puede dar un diagnóstico falso en cuanto a la presencia o ausencia. Esto fue lo que ocurrió durante el desarrollo del experimento, la cantidad de signos sugerentes fue baja y cubrían una amplia cantidad de probables agentes.

Sobre la morbilidad de *PCV2*, Segalés, menciona que los cerdos pueden presentar desmedro, piel pálida, dificultad respiratoria, postración, problemas cutáneos (máculas y pápulas rojizas-moradas), entre otras. En ninguno de los animales que conformaron el estudio presentaron los signos descritos, por lo que al igual que el caso de *M. hyopneumoniae* la cantidad de casos tuvieron que ser registrados como 0.

Una probable razón por la cual no hubo diferencia significativa entre los valores *S/P* de la prueba de *ELISA* al realizar el ANOVA factorial de medidas repetidas se encuentra en la cantidad de sujetos que conformaron la muestra por grupo, esta cantidad tuvo razón a la restricción presupuestaria que se encontró por parte de la coordinación del área de salud, que solo otorgó un límite máximo de 20 muestras de suero por edad.

La ausencia de diferencia entre los datos de ambos grupos, y por lo general aceptado como buen desempeño del parámetro productivo, puede reflejar lo propuesto por Maes, que menciona que *M. hyopneumoniae* afecta en el crecimiento del animal, por lo tanto, afecta a la GDP. En este caso los resultados de esta variable reflejan un buen comportamiento de las vacunas en la protección de los cerdos. Con buena protección existe menor cantidad de signos y lesiones que alteran el consumo de alimento de animales, al haber buen consumo de alimento existe buena ganancia de peso.

CONCLUSIONES

1. Con la ausencia de morbilidad asociada a la presencia de *M. hyopneumoniae* y *circovirus PCV2* se infiere que la protección de las vacunas es la adecuada para mantener la salud de los cerdos. Y mediante la prueba de diferencia de proporciones se determinó que existe diferencia en la cantidad de mortalidad asociada a *circovirus (PCV2)* en los animales del experimento, siendo el grupo prueba el único afectado. Ninguno de los dos grupos presentó lesiones que se pudieran asociar a la presencia de mortalidad por *M. hyopneumoniae* por lo que también se puede establecer que esta ausencia es por buen desempeño en la formación de anticuerpos contra el agente.
2. Al comparar los valores *S/P* de la prueba de *ELISA* contra *M. hyopneumoniae*, a los mismos animales de ambos grupos durante diferentes momentos de su vida utilizando la prueba de ANOVA factorial de medidas repetidas, se infiere que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de protección otorgado por las dos vacunas, lo que indica que existe ambas confieren un nivel adecuado de protección aunque pueda existir probable positividad en la prueba desde las 11 semanas de vida, pero sin presentación clínica del agente.
3. Al realizar la prueba de ANOVA, se determinó que la ganancia diaria de peso no varía entre ambos grupos del experimento desde el punto de vista estadístico, infiriendo que la protección otorgada contra *M.*

hyopneumoniae y *circovirus* (PCV2) es la adecuada para mantener los parámetros productivos de acuerdo a lo esperado en la granja.

4. El diseño de experimentos fue de utilidad para inferir que no existe diferencia en los resultados en la comparación de los productos biológicos, por lo que cualquiera de los dos puede ser incorporado en el plan profiláctico de la granja.

RECOMENDACIONES

1. Al realizar comparación entre vacunas contra *M. hyopneumoniae* y *circovirus* (PCV2) se debe realizar una correlación entre las lesiones post mortem y pruebas de laboratorio específicas para muestras de suero o tejido cada vez que en los grupos de prueba exista algún cerdo muerto, para poder determinar si son factores que aportan al experimento. Debido a la falta de signos específicos para *M. hyopneumoniae*, se puede descartar el seguimiento de casos sospechosos y solo registrar aquellos para *circovirus*. El uso de la prueba de diferencia de proporciones debe seguir utilizándose para comparar los datos obtenidos de mortalidad, aunque se pueden incorporar otras pruebas para contrastar los resultados y continuar validando la primera.
2. Los resultados del ANOVA factorial de medidas repetidas deben ser validados repitiendo su uso en nuevos experimentos similares para conocer la influencia del tamaño de la muestra sobre estos. Y realizar una correlación entre resultados de laboratorio y lesiones pulmonares asociadas a *M. hyopneumoniae* a partir de las 18 semanas de vida.
3. La variable ganancia diaria de peso de los cerdos no fue afectada de forma negativa por las vacunas, al realizar la comparación utilizando la prueba de ANOVA, pero esta variable no deber ser la única a evaluarse en el comportamiento de desempeño inmunitario. Se deben agregar a futuros experimentos similares la conversión alimenticia y consumo de alimento para realizar una comparación más precisa de los beneficios de cada vacuna comparada.

4. La eficacia de las vacunas debe ser comparada en conjunto de la eficiencia de las mismas al realizarse experimentos de las mismas en granjas de engorde, también se puede replicar el mismo tipo de experimento pero en las cerdas en granjas reproductoras, midiendo la protección otorgada durante cada parto como referencia temporal.

REFERENCIAS

1. Arsenakis, I. (2017, 1 julio). *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination at or shortly before weaning under field conditions: a randomised efficacy trial. *Veterinary Record*. Recuperado de <https://veterinaryrecord.bmj.com/content/181/1/19>
2. Balluerka, N., Vergara, A.I. (2002). *Diseños de investigación experimental en psicología*. Madrid, España: Pearson Education.
3. Caravaca, F. P., Castel, J. M., Gúzman, J. L., Delgado, M., Mena, Y., Alcalde, M. J., y González, P. (2003). *Bases de la producción animal*. (1.ª ed.). Editorial Universidad de Córdoba.
4. Fernández, S. F., Sánchez, J. M. C., Córdoba, A., y Largo, A. C. (2002). *Estadística Descriptiva*. ESIC.
5. Gallegos, C.A., Lara, P.J., Quezada, F., Lozano, B., Safarti, D., Soto, P.E., Tórtora, P.J., Ciprián, A.A., Garrido, G., Mendoza, E.S., Ciprián, C.A. (2008, julio). Efecto de la vacunación contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en cerdos infectados con *Circovirus porcino tipo 2* y *PRRS*. En A.S. Hornedo (Presidencia). XLIII congreso nacional AMVEC Morelia 2008. Conferencia llevada a cabo en Morelia, México.
6. Gerstman, B. B. (2003). *Epidemiology Kept Simple: An Introduction to Traditional and Modern Epidemiology* (2.ª ed.). Wiley-Liss.

7. Guillén, A., y Crespo, R. (2006). *Distribuciones de probabilidad. El teorema central del límite. En Métodos estadísticos para enfermería nefrológica* (pp. 107-120). SEDEN.
8. Gutiérrez, C. (2016, 28 marzo). Biblioteca Virtual Corpmontana: *Efecto productivo de dos formas de administración de vacunas contra Mycoplasma hyopneumoniae y PCV2 en condiciones de campo (Parte I)*. Recuperado de http://bibliotecavirtual.corpmontana.com//handle/123456789/2896_
9. Gutierrez, H., de la Vara, R. (2012). *Análisis y Diseño de Experimentos* (3.^a ed.). McGraw-Hill.
10. Hain, J. (2010). *Comparison of Common Tests for Normality* (tesis de maestría), Universidad Julius Maximilians de Würzburg.
11. Hines, W. W., y Montgomery, D. C. (1996). *Probabilidad y estadística para ingeniería y administración* (2.^a ed.). Compañía editorial continental.
12. Karuppanan, A. K., y Opriessnig, T. (2017, 6 mayo). *Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccines in the Context of Current Molecular Epidemiology*. PubMed. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28481275/>
13. Levin, R. I., y Rubin, D. S. (1996). *Estadística para administradores* (6.^a ed.). Prentice Hall.

14. Maes, D., Segales, J., Meyns, T., Sibila, M., Pieters, M., & Haesebrouck, F. (2008). *Control of Mycoplasma hyopneumoniae infections in pigs. Veterinary Microbiology*, 126(4), 297-309. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.09.008>
15. Maes, D., Sibila, M., Kuhnert, P., Segalés, J., Haesebrouck, F., y Pieters, M. (2017). *Update on Mycoplasma hyopneumoniae infections in pigs: Knowledge gaps for improved disease control. Transboundary and Emerging Diseases*, 65, 110-124. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/tbed.12677>
16. Matthijs, A. M. F., Auray, G., Boyen, F., Schoos, A., Michiels, A., García-Nicolás, O., Barut, G. T., Barnier-Quer, C., Jakob, V., Collin, N., Devriendt, B., Summerfield, A., Haesebrouck, F., y Maes, D. (2019). *Efficacy of three innovative bacterin vaccines against experimental infection with Mycoplasma hyopneumoniae. Veterinary Research*, 50(1), na. Recuperado de <https://doi.org/10.1186/s13567-019-0709-0>
17. McDonald, J.H. (2014). *Handbook of Biological Statistics* (3.^a ed). Sparky House.
18. Montgomery, D. (2005). *Diseño y análisis de experimentos* (2.^a ed). Editorial Limusa.
19. O'Neill, K. C., Shen, H. G., Lin, K., Hemann, M., Beach, N. M., Meng, X. J., Halbur, P. G., y Opriessnig, T. (2011). *Studies on Porcine Circovirus Type 2 Vaccination of 5-Day-Old Piglets. Clinical and*

Vaccine Immunology, 18(11), 1865-1871. Recuperado de <https://doi.org/10.1128/cvi.05318-11>

20. Opriessnig, T., Giménez-Lirola, L. G., y Halbur, P. G. (2011). *Polymicrobial respiratory disease in pigs. Animal Health Research Reviews*, 12(2), 133-148. Recuperado de <https://doi.org/10.1017/s1466252311000120>
21. Rapp-Gabrielson, V. J., Rapp-Gabrielson VJ, Hoover T, Sornsen S, et al. (2008, 1 enero) *Effects of Mycoplasma hyopneumoniae vaccination in pigs co-infected with M hyopneumoniae and porcine circovirus type 2. J Swine Health Prod.* 2008;16(1):16–26. www.aasv.org. Recuperado de <https://www.aasv.org/shap/issues/v16n1/v16n1p16.htm>
22. Salgado, D. (2015, 17 diciembre). *Pruebas De Normalidad - Ensayos universitarios - 1516 Palabras*. Buenas Tareas. Recuperado de <https://www.buenastareas.com/ensayos/Pruebas-De-Normalidad/81887359.html>
23. Sheskin, D. J. (2003). *The Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures* (3.^a ed.). Chapman & Hall.
24. Triola, M. F. (2018). *Estadística* (12.^a ed.). PEARSON.
25. Witvliet, M., Holtslag, H., Nell, T., Segers, R., y Fachinger, V. (2015). *Efficacy and safety of a combined Porcine Circovirus and Mycoplasma hyopneumoniae vaccine in finishing pigs. Trials in*

Vaccinology, 4, 43-49. Recuperado de
<https://doi.org/10.1016/j.trivac.2015.04.002>

26. Zimmerman, J. J., Karriker, L. A., Ramirez, A., Schwartz, K. J., Stevenson, G. W., & Zhang, J. (2019). *Diseases of Swine* (11^a ed.). Wiley-Blackwell.

