

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL
CUSCO**

**FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROPECUARIA**



TESIS

**“CUANTIFICACION DE ANTICUERPOS CONTRA LA *Brucella abortus*
EN VACUNOS DE LA GRANJA K´AYRA, DISTRITO DE SAN
JERONIMO-CUSCO”**

PRESENTADO POR:

BACH. VILMA SIVANA RAYAN

**Para optar al título profesional de
INGENIERO AGROPECUARIO.**

ASESORES:

Dr. M.V.Z. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez.

Mgt. M.V. Santos Wilton Calderón Ruiz.

Ing. Zoot. Fiorela Guzmán Figueroa.

CUSCO – PERÚ

2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: "**CUANTIFICACION DE ANTICUERPOS CONTRA LA *Brucella abortus* EN VACUNOS DE LA GRANJA K'AYRA, DISTRITO DE SAN JERONIMO-CUSCO**" presentado por: VILMA SIVANA RAYAN con Nro. de DNI: 47825063, para optar el título profesional/grado académico de INGENIERO AGROPECUARIO, Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 1%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 04 de agosto de 2023



UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO

FCA

Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez

DOCENTE

Firma

Post firma: Edgar Alberto Valdez Gutierrez

Nro. de DNI: 01285940

ORCID del Asesor: 0000-0002-2966-7605

ORCID del Asesor: 0000-0001-8091-5814 (Santos W. Calderon Ruiz)

DNI: 26960866

ORCID del Asesor: 0000-0002-9913-5831 (Florencia Guzman Figueroa)

DNI: 70991650

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.

2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid:27259:250871010

NOMBRE DEL TRABAJO

**CUANTIFICACION DE ANTICUERPOS CO
NTRA LA Brucella abortus EN VACUNOS
DE LA GRANJA K'AYRA, DISTRITO DE**

AUTOR

SIVANA RAYAN VILMA

RECUENTO DE PALABRAS

17080 Words

RECUENTO DE CARACTERES

89444 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

94 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.5MB

FECHA DE ENTREGA

Aug 4, 2023 11:45 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Aug 4, 2023 1:46 PM GMT-5

● **1% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 1% Base de datos de trabajos entregados

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 20 palabras)
- Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente



UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO
E.C.A.
Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez
DOCENTE

DEDICATORIA

A Dios, por la salud y la sabiduría concedida para el logro de este objetivo.

Este trabajo de investigación está dedicado con mucho cariño a mis queridos padres Regina Rayan Huamani y Anacleto Sivana Madueño, quienes se han esforzado en el día a día a lo largo de mi formación profesional, a mi hermano Clevert Elias, quien dejó un vacío en mi corazón, pero sé que desde el cielo guía mis pasos.

A mis hermanos: Edwin, Idalia, Amalia, Adela, Erika, Maribel y Urbano, quienes me apoyaron incondicionalmente en el logro de mis metas y son mi fortaleza para seguir adelante.

A mi hijo Liam Zaid Molina Sivana, quien es mi mayor tesoro y la fuente más pura de inspiración para seguir adelante.

A mis compañeros y amigos presentes y pasados quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas y a todas aquellas personas que durante la etapa universitaria estuvieron a mi lado apoyándome y lograron que se haga realidad el logro de esta meta.

AGRADECIMIENTO

- Agradezco a Dios por la salud concedida y las grandes oportunidades que me ha brindado para el logro de mis objetivos.
- A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por haberme acogido en sus aulas a lo largo de mi vida estudiantil.
- A mis docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agropecuaria, filial Santo Tomas, por su gran apoyo y motivación para la culminación de mis estudios profesionales, por compartir sus conocimientos y experiencias para enriquecer mis conocimientos.
- A mis asesores de tesis: Dr. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez, Mgt. Wilton Calderón Ruiz e Ing. Fiorela Guzmán Figueroa, por su amistad, apoyo y orientación incondicional en la realización de este trabajo.
- A mis amigos: David, Oswaldo, Miguel, Delfín, Siarit, Mayumi y Sindy, quienes fueron partícipes de este trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	III
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE ANEXOS	VIII
GLOSARIO	IX
RESUMEN	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN	3
III. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN.....	5
3.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	5
3.1.1. Objetivo general.....	5
3.1.2. Objetivos específicos.....	5
3.2. JUSTIFICACIÓN	5
IV. HIPÓTESIS	7
V. MARCO TEÓRICO.....	8
5.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	8
5.1.1. Antecedentes a nivel internacional	8
5.1.2. Antecedentes a nivel nacional	11
5.1.3. Antecedentes a nivel regional.....	13
5.2. BASES TEÓRICAS	13
5.2.1. Brucelosis Bovina	13
5.2.1.1. Sinonimia.....	15
5.2.1.2. Etiología	15
5.2.1.3. Estructura	15
5.2.1.4. Distribución geográfica	16
5.2.1.5. Período de incubación.....	17
5.2.1.6. Transmisión.....	17
5.2.1.7. Signos clínicos	19
5.2.1.8. Susceptibilidad de rebaño	20
5.2.1.9. Lesiones.....	21
5.2.1.10. Patogenia.....	21

5.2.1.11.	Respuesta inmune	23
5.2.1.12.	Latencia	24
5.2.1.13.	Diagnóstico	24
5.2.1.13.1.	Método Directo	24
a)	Métodos de tinción	25
5.2.1.13.2.	Métodos de reconocimiento de ácidos nucleicos	26
5.2.1.13.3.	Métodos Indirectos	26
5.2.1.14.	Control	28
5.2.1.15.	Vacunas contra Brucella abortus	29
5.3.	BASES CONCEPTUALES	32
5.3.1.	Antígeno	32
5.3.2.	Anticuerpo	32
5.3.3.	Reacción antígeno – anticuerpo.	32
5.3.4.	Prueba ELISA	33
5.3.5.	ELISA indirecto	34
5.3.6.	Prevalencia.....	35
VI.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	37
6.1.	ÁMBITO DE ESTUDIO	37
6.1.1.	Ubicación política.....	37
6.1.2.	Ubicación geográfica	37
6.1.3.	Delimitación Política	37
6.1.4.	Datos climáticos.....	38
6.2.	MATERIALES DE ESTUDIO	38
6.2.1.	Tipo de investigación	38
6.2.2.	Población.....	38
6.2.3.	Tamaño de muestra.....	39
6.2.4.1.	Equipos	39
6.2.4.2.	Instrumentos.....	39
6.2.4.3.	Materiales.....	40
6.2.4.4.	Reactivos de laboratorio.....	41
6.2.4.5.	Materiales de Escritorio	41
6.3.	METODOLOGIA	42
6.3.1.	Toma de muestras.....	42
6.3.2.	Obtención del suero.....	43
6.3.3.	Metodología de laboratorio.	43
6.3.3.1.	Método de ELISA indirecta para detección de anticuerpos contra Brucella abortus.....	44
6.3.3.1.1.	Descripción y principios de la prueba (según el kit de laboratorio IDEXX, 2022)	44
6.3.3.1.2.	Preparación de las muestras y reactivos	44

6.3.3.1.3.	Procedimiento de la prueba, según (IDEXX, 2022a).	47
6.3.3.1.4.	Sensibilidad y especificidad de la prueba	52
6.3.3.1.5.	Validación de la prueba	52
6.3.3.1.6.	Cálculo de resultados	53
6.3.3.1.7.	Interpretación de resultados	54
6.3.4.	Determinación de la prevalencia	54
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
7.1.	SEROPREVALENCIA DE LA BRUCELLA ABORTUS EN LOS VACUNOS DE LA GRANJA K'AYRA.	55
7.1.1.	Determinación cualitativa de los anticuerpos contra Brucella abortus en vacunos.	55
7.1.2.	Determinación cuantitativa de los anticuerpos contra Brucella abortus en vacunos.	56
7.1.3.	Prevalencia de la Brucella abortus en vacunos de la granja K'ayra, por Sexo.	60
7.1.4.	Prevalencia de la Brucella abortus en vacunos de la granja K'ayra, por categorías.	60
VIII.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
8.1.	CONCLUSIONES	63
8.2.	RECOMENDACIONES	63
	BIBLIOGRAFIA	64
	ANEXOS	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Supervivencia de <i>Brucella</i> en el medio ambiente.....	14
Tabla 2. Distribución de las muestras de vacunos de K´ayra, en la placa ELISA, placa I.	46
Tabla 3. Distribución de las muestras de vacunos de K´ayra, en la placa ELISA, placa II.	47
Tabla 4. Densidades ópticas de las muestras, obtenidas con el lector de microplacas para la detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> , placa I.	57
Tabla 5. Densidades ópticas de las muestras, obtenidas con el lector de microplacas para la detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> , placa II	57
Tabla 6. Porcentaje M/P para determinar la presencia de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> en vacunos de la granja K´ayra, placa I.	58
Tabla 7. Porcentaje M/P para determinar la presencia de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> en vacunos de la granja K´ayra, placa II.	58
Tabla 8. Prevalencia de <i>Brucella abortus</i> en vacunos de la granja K´ayra, por Sexo ...	60
Tabla 9. Prevalencia de <i>Brucella abortus</i> en vacunos de la granja K´ayra, por categoría	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Membrana externa de la pared celular de la <i>Brucella</i>	16
Figura 2. Tipos de ELISA	34
Figura 3. Ficha Técnica de fase ELISA indirecto	35
Figura 4. Toma de muestras de sangre de vacunos de la granja K´ayra	42
Figura 5. Centrifugación de muestras de sangre	43
Figura 6. Preparación de solución de lavado y conjugado	45
Figura 7. Homogenización de muestras de suero.....	46
Figura 8. Adición de tampón de dilución a los pocillos de la placa ELISA.....	47
Figura 9. Adición de muestras de suero a los pocillos de la placa ELISA	48
Figura 10. Primera incubación de la placa ELISA	48
Figura 11. Primer lavado de los pocillos de la placa ELISA	49
Figura 12. Adición de conjugado a los pocillos de la placa ELISA.	49
Figura 13. Segunda incubación de la placa ELISA	50
Figura 14. Segundo lavado de los pocillos de la placa ELISA.	50
Figura 15. Adición de sustrato TMB a los pocillos de la placa ELISA.	51
Figura 16. Adición de solución de frenado a los pocillos de la placa ELISA.	51
Figura 17. Lectura de las densidades ópticas de cada pocillo de la placa ELISA.....	52
Figura 18. Placa ELISA con resultados cualitativos para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> , placa I.....	55
Figura 19. Placa ELISA con resultados cualitativos para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> , placa II.....	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para determinar la prevalencia <i>Brucella abortus</i> en vacunos de la granja K'ayra.....	74
Anexo 2. Reactivos del Kit IDEXX utilizados en la técnica de ELISA indirecta.	75
Anexo 3. Organización de materiales consumibles para la prueba de ELISA indirecta.	75
Anexo 4. Organización de las muestras de suero antes de realizar la prueba ELISA, de acuerdo a la plantilla.	76
Anexo 5. Registro de datos y resultados de vacunos machos evaluados por ELISA, para detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>	77
Anexo 6. Registro de datos y resultados de vacunos hembras evaluados por ELISA, para detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>	78

GLOSARIO

μl	: Microlitros
Ac	: Anticuerpo
Ag	: Antígeno
CNx	: Promedio control negativo
CPx	: Promedio control positivo
DO	: Densidad óptica
ELISA	: Ensayo por inmunoadsorción ligado a la enzima
HRPO	: Peroxidasa de rábano
IgG	: Inmunoglobulina G
IgM	: Inmunoglobulina M
LPS	: Lipopolisacárido
m s.n.m	: Metros sobre nivel del mar
nm	: Nanómetro
OIE	: Organización mundial de la Sanidad Animal
PCR	: Reacción en cadena de la polimerasa
pH	: Potencial de Hidrogeniones
PSB	: Solución salina tamponada con fosfato
RPM	: Revoluciones por minuto
SDA	: Suero dextrosa
SENAMHI	: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú

SENASA : Servicio Nacional de Sanidad y Calidad
Agroalimentaria

TCR : Receptor de células T

TMB : Solución Substrato Tetrametil bencidina

TSA : Agar Soya Tripticasa

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar los anticuerpos contra la *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K'ayra, distrito de San Jerónimo-Cusco. Se colectaron 103 muestras de sangre de vacunos mayores a seis meses, por punción de la vena caudal en tubos vacutainer de 5 mL, los cuales fueron centrifugados a 1500 RPM por 10 minutos. Los sueros fueron separados y almacenados en crioviales de 2mL a -20°C. El diagnóstico se realizó en el laboratorio de Sanidad Animal "M.V. Atilio Pacheco Pacheco" de la Escuela Profesional de Zootecnia-UNSAAC, mediante el método de ELISA indirecta. La Prevalencia de *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K'ayra, por categoría (terneros, toretes, toros, terneras, vaquillonas, vaquillas y vacas) y sexo, fue 0.00% (0/103). Por lo tanto, no existe la brucelosis bovina en los vacunos de la granja K'ayra, por sexo y categoría.

PALABRAS CLAVE: *Brucella abortus*, anticuerpos, ELISA, Vacunos.

I. INTRODUCCIÓN

La granja K'ayra, posee una población importante de vacunos lecheros, los mismos que nos representan a la región Cusco, por el potencial genético que estos poseen. Estos vacunos juegan un rol fundamental en la formación profesional de los estudiantes de la escuela profesional de Zootecnia, quienes utilizan a estos vacunos como material biológico para las prácticas de las diferentes asignaturas. Por lo tanto, es necesario realizar estudios epidemiológicos sobre enfermedades de impacto reproductivo como la brucelosis bovina, para asegurar la situación sanitaria de los hatos destinados a la producción de carne y leche; dado que los vacunos con alguna enfermedad zoonótica, no solo implicarían un riesgo a la salud pública, sino que ponen en riesgo la producción e ingresos económicos. La brucelosis podría ocasionar no solo una ola de abortos en los vacunos, sino que se podría contagiar a los trabajadores y transmitirse al público mediante el consumo de leche de vacas enfermas; por lo tanto, la prevalencia de *Brucella* debe ser objeto de estudio.

Existen reportes de casos positivos a brucelosis en regiones como Cusco, Cajamarca y San Martín; La región Cusco posee una importante población de ganado lechero de alrededor de 893,769 cabezas (MINAGRI, 2017), mostrando un ritmo de crecimiento anual de 1.9% (periodo 2007-2016); por lo que es necesario el control epidemiológico para garantizar el desarrollo del sector pecuario.

Es por ello que el estudio se centró en los vacunos de la granja K'ayra ubicada en el distrito de San Jerónimo-Cusco, con la finalidad de contribuir al conocimiento sobre la presencia de este agente patógeno; para ello fue necesario realizar el diagnóstico mediante la prueba ELISA, el cual es un método que facilita la detección de anticuerpos

de la *Brucella abortus*, por ser muy sensible, específica y versátil (99,4% de sensibilidad y 99% de especificidad), que utiliza cantidades muy pequeñas de suero y da muy buenos resultados incluso en presencia de hemólisis (Córdova et al., 2017). En este método se utilizó la cepa 99 (S99)³ o la cepa 1119-3 (S1119-3)⁴ de *B. abortus*. También se utilizan células enteras como lipopolisacárido liso (LPS) u O-polisacárido (OPS) como antígenos validados para el diagnóstico serológico de esta enfermedad (OIE, 2018).

II. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

La Granja K'ayra, facultad de Agronomía y Zootecnia-UNSAAC, es un referente en la producción de vacunos de leche, ya que cuenta con ejemplares de alta calidad genética, que poseen un potencial productivo, en términos de producción de leche. Sin embargo, se ve afectada por la presencia de problemas reproductivos como abortos, metritis, retención de placenta, que repercuten en la productividad, por consiguiente, en la rentabilidad de la granja K'ayra. Estos problemas reproductivos se vienen dando con frecuencia, los mismos que al tratamiento con antibióticos no responden y siguen siendo la causa principal de pérdidas de crías y saca de reproductores de alto potencial genético, los cuales se podrían deber a la presencia de enfermedades como la brucelosis bovina.

La brucelosis bovina es una enfermedad causada por *Brucella abortus*, caracterizada por un aborto espontáneo en el último trimestre de gestación. Las bacterias que causan esta enfermedad crecen dentro de las células y no son eliminadas por los antibióticos, por lo que se ha informado que no existe una cura, porque el tratamiento de los animales llevaría mucho tiempo, sería costoso y sin la garantía de una cura definitiva (Garry et al., 1999). El problema de esta enfermedad es que el animal infectado es vector y portador de la enfermedad, lo que empeora la situación en la explotación. Por lo tanto, todos los animales afectados (positivos) deben ser sacrificados, independientemente de su condición o valor genético (Garry et al., 1999). El uso de pruebas diagnósticas de alta sensibilidad y especificidad como la prueba ELISA, para detectar vacunos positivos a la enfermedad es limitado en la actualidad, debido al costo que estas poseen comparado a las pruebas de campo como Rosa de Bengala, razón por la cual no se utilizan con mucha frecuencia en los trabajos de investigación o en pruebas de rutina llevadas a cabo con

instituciones como SENASA, que realizan este tipo de pruebas cuando reportan casos sospechosos.

Con el presente estudio se pretende conocer si la causa de los abortos que se presentan en la granja K'ayra se deben a la presencia de la *Brucella abortus* en los vacunos, para este fin, se planteó como objetivo determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra la *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K'ayra, por categorías y sexos.

III. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

3.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.1. Objetivo general

Cuantificar los anticuerpos contra la *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K´ayra, distrito de San Jerónimo-Cusco.

3.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia contra la *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K´ayra, por categoría.
- Determinar la seroprevalencia contra la *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K´ayra, por sexo.

3.2. JUSTIFICACIÓN

A nivel de la región Cusco y específicamente en la granja no se han realizado trabajos de investigación para detectar la presencia de la brucelosis bovina. Sin embargo, existen estudios realizados en otras regiones del Perú, en los cuales las prevalencias reportadas son mínimas, mostrándonos que no se debe minimizar el riesgo. Desde el punto de vista económico esta enfermedad reduce la producción ganadera y lechera; asimismo, el control de brucelosis llega a implicar altos costos como programas de vigilancia y vacunación, además de sistemas de bioseguridad para los trabajadores; por lo que su prevención es clave para garantizar los ingresos de la actividad ganadera. El presente estudio posee importancia en salud pública dado que las enfermedades zoonóticas en vacunos podrían afectar sobre todo a aquellas personas que son parte de la actividad ganadera que llegan a manipular productos cárnicos y lácticos; por lo que

este tipo de estudios contribuyen en el control y prevención de esta enfermedad, mejorando la calidad de vida de la población. Asimismo, la producción de leche de estos vacunos es destinada para la venta al público, por lo que este estudio contribuye a garantizar la seguridad alimentaria de muchos consumidores.

Los motivos antes expuestos nos han llevado a realizar el presente trabajo de investigación, el mismo que servirá para notificar a las entidades correspondientes en el caso de encontrar vacunos seropositivos, de la misma forma servirá para prevenir cualquier tipo de contagio del agente patógeno a los humanos, ya sea por consumo de la leche o por manipulación de los vacunos enfermos, finalmente nos permitirá contribuir al control epidemiológico de esta enfermedad en los vacunos.

IV. HIPÓTESIS

H°: No existe la presencia de los anticuerpos contra la *Brucella abortus* en vacunos de la granja K´ayra, distrito de San Jerónimo-Cusco.

Ha: Existe la presencia de los anticuerpos contra la *Brucella abortus* en vacunos de la granja K´ayra, distrito de San Jerónimo-Cusco.

V. MARCO TEÓRICO

5.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

5.1.1. Antecedentes a nivel internacional

Alba (2021), en la indagación realizada en el departamento de Cochabamba-Bolivia, como parte de un programa de control y eliminación de brucelosis bovina, analizó por serología a 3271 vacunos de 117 viviendas. Al realizar la prueba de aglutinación rápida en placa y haciendo uso de la técnica Rosa de Bengala, halló 1311 situaciones de sospecha de *Brucella abortus*, a la prueba ELISA identificó 978 casos positivos a anticuerpos de *Brucella abortus* en las distintas zonas del distrito 9, del departamento de Cochabamba.

Apaza, (2019) realizó su estudio en la Localidad de Yucumo, Municipio de San Borja del departamento de Beni – Bolivia. Su objetivo fue establecer la prevalencia de Brucelosis en Bovinos Lecheros. Para tal fin procesaron 188 muestras sanguíneas con prueba Rosa de Bengala, obtuvo 1 vacuno positivo que representa el 0.53% de la población total en estudio.

Motta et al., (2018) tuvieron como objetivo determinar la prevalencia de brucelosis en bovinos del municipio de San Vicente del Caguán, Caquetá, Colombia. Trabajaron con sueros de 198 animales, utilizando el ensayo de Rosa de Bengala, y confirmando los casos positivos mediante ELISA competitivo. Lograron una tasa de seroprevalencia del 0% en machos y del 5,81% en hembras. Obteniendo un 40% de prevalencia a nivel de predios.

Escobar et al., (2017), tuvo como objetivo de establecer la prevalencia de brucelosis bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Muestrearon a 4903 bovinos, el mismo que evaluaron mediante las técnicas de aglutinación rápida en placa de Rosa de Bengala y ELISA. Encontraron 332 (6,77%) positivos por Rosa de Bengala y 164 (3,34%) por el método de ELISA indirecta, de estos sacrificaron 282 (5,75%) animales del total de positivos.

Zambrano et al., (2016) al establecer los factores de riesgo de los animales frente a la brucelosis bovina de la provincia Manabí, Ecuador. Seleccionaron 2369 bovinos, determinando que existe un mayor riesgo de padecer la enfermedad para los bovinos mayores de 5 años.

Pacheco & Mosquera, (2015) en un predio ubicado en la Parroquia Buría del estado Lara-Venezuela, realizó la estandarización de la PCR de la secuencia genómica parcial únicas del género *Brucella*: en esto, genes 16S RNAr y Omp2. Se determinó que la sensibilidad para la prueba SLT fue de 100%, la especificidad para la prueba RB fue de 88%, mientras que la amplificación por PCR de los genes fue exitosa en el 16 %. Llegando a la conclusión que, una de las herramientas más trascendentales para efectuar el diagnóstico, es la PCR, esto con el fin de tener controlada la brucelosis bovina en el territorio nacional, con el propósito de evitar que se eliminen animales importantes en valor u olvidando animales que son falsos negativos que sigan dispersando esta enfermedad en el grupo de bovinos nacionales.

Benítez (2013) al diagnosticar la brucelosis en la población de vacunos en el camal municipal de Ambato, provincia de Tungurahua, a través del método rápido Atigen Test Kit. Para lo cual tomaron 60 muestras de sangre de vacunos hembra, las que a la

evaluación resultaron negativas, concluyendo que la brucelosis bovina no presenta incidencia significativa que repercuta en la morbilidad de las hembras.

Sánchez et al., (2012) al determinar la coexistencia serológica con *Brucella abortus* y *Neospora caninum*. Tomo al azar 500 muestras sanguíneas de bovino lechero, raza Holstein-Freisan en producción, para su análisis por la técnica inmunoenzimática ELISA. Reportaron una coexistencia serológica de *Neospora caninum* y *Brucella abortus* de 21.2% (106/500).

Mosquera et al. (2008) en Córdoba, Colombia detectaron *Brucella abortus* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras de sangre y leche de bovinos en Colombia. Para ello, analizaron 136 muestras mediante la prueba del anillo (PAL) para detectar la presencia de anticuerpos. De estos animales positivos se obtuvieron muestras de sangre y leche para análisis por PCR. Se ha informado que, de las muestras de leche que fueron analizadas el 13.2% (18/1636) dieron positivas para PAL. Por otro lado, al realizar un análisis de las 33 muestras de leche negativa para PAL, de todas ellas el 30,3% dieron positivas para PCR. En cuanto a las muestras de sangre de los animales que dieron positivo por medio del PAL, dieron positivo por PCR el 94.1% (16/17), en tanto, de las muestras de leche positivo por medio de PAL, el 47% (8/17) dieron positivo por medio de PCR.

Cevallos et al. (2008) en Guayaquil, Guayas-Ecuador, compararon la técnica de PCR con un ensayo de Rosa de Bengala en la detección de *Brucella abortus*, en muestras de sangre. Obtuvieron 172 muestras de sangre de 4 rebaños de bovinos con reporte de prevalencia positiva a brucelosis, de los cuales 30 fueron serológicamente positivos para Rosa de Bengala y 29 fueron positivos para PCR. De los animales que

dieron positivos a la prueba Rosa, 4 dieron a conocer sintomatología clínica como: presencia de abortos, deficiencia de los terneros y una muy baja productividad de leche y carne, y las 26 vacas restantes fueron negativas a PCR y no mostraron síntomas clínicos. De los 142 animales con Rosa de Bengala negativa, 25 fueron PCR positivas. Sus resultados indican que el uso de la prueba PCR es más específico para la detección de animales positivos y más sensibles que la prueba serológica de Rosa de Bengala.

5.1.2. Antecedentes a nivel nacional

Vergara (2022) en el distrito de Huari, región Ancash, realizó una indagación con 329 vacunos mayores a cuatro meses de edad, entre hembras y machos, obteniendo muestras de sangre que fueron analizadas por la prueba de Rosa de Bengala con el fin de detectar los anticuerpos anti *Brucella spp.* No halló muestras positivas a las pruebas (0%, IC 95% de 0% - 1%), indicando que la *Brucella spp.* está ausente en la zona.

Salazar (2019) mediante la prueba Rosa de Bengala, determinó la prevalencia serológica de brucelosis bovina, esto en el distrito de Puente Piedra- Lima, realizó un muestreo de sangre al azar de 351 animales y analizó por la prueba serológica Rosa de Bengala. Sus resultados muestran que ningún bovino fue seropositivo a Brucelosis bovina, siendo su prevalencia igual a 0 %.

Maslucán (2019) haciendo uso de la prueba Rosa de Bengala, esto en los hatos ganaderos, ubicados en la provincia de Rioja, distrito de Pardo, San Martin, realizó un trabajo con 135 bovinos; de los cuales evidencio que no hay existencia de prevalencia de Brucelosis bovina y que no existe ninguna relación con la Raza, sexo, edad, lugar de vivencia o el periodo reproductivo.

Bardales (2017) en vacunos de las cuencas Mascón y Chonta, a través de la prueba Rosa de Bengala y fijación de complemento, analizó a 766 animales, de los cuales se determinó la existencia de una prevalencia de 0.13%, esto respaldada por medio de la prueba de Z de proporciones, afirmando que es menor a 01% la prevalencia.

Reyes et al. (2017) al establecer la presencia de la *Brucella spp.* en bovinos de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco, Perú. Analizó a 441 animales a través de la prueba de Rosa de Bengala. Reportó ausencia de esta enfermedad, ya que ninguna muestra presentó anticuerpos aglutinantes.

Zavala et al. (2011) en su indagación sobre de prevalencia de *Brucella spp.*, realizado a 5439 bovinos, estos del distrito de Codo del Pozuzo-Huánuco, de estos estudios se halló que dos vacunos dieron positivo, pero estos dieron negativos a la prueba de confirmación de fijación de complemento. Por medio de la aplicación de un modelo de simulaciones estocásticas de distribución beta, llegó a demostrar una prevalencia de 0.02%, demostrando el mínimo y 0.06% demostrando el máximo en un intervalo de confianza.

Meza et al. (2010) al establecer la seroprevalencia de brucelosis en bovinos, en crianzas de tipo de crianza extensivo ubicados en el distrito de Puerto Inca-Huánuco. Realizaron el análisis de 3221 animales a través de la prueba de aglutinación Rosa de Bengala. No encontraron reactores positivos, calcularon una prevalencia media de 0.031% con rangos de 0.0008 a 0.1144% con el programa @Risk de simulaciones estocástica de distribución beta.

SENASA (2022) reportó en el mes de mayo, un caso positivo a brucelosis bovina en el distrito de Encañada, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca. En

junio del 2019, reportó también un caso positivo a brucelosis bovina en el distrito de Agua Blanca, provincia de El Dorado, departamento de San Martín (SENASA, 2019). En el año 2014 reportó un acumulado de 15 casos positivos de brucelosis bovina (SENASA, 2014).

5.1.3. Antecedentes a nivel regional

SENASA (2022) reportó un caso positivo a brucelosis bovina en el distrito de Coporaque, provincia de Espinar, departamento de Cusco.

Por otro lado Herrera (2019) tuvo como objetivo determinar incidencia de la brucelosis en vacunos de la Pampa de Anta – Cusco. Trabajó con 336 muestras a través de la prueba de ELISA indirecta. Sus resultados muestran que en los distritos de Ancahuasi, Cachimayo y Huarcocondo la incidencia fue de 65.67, 3.03 y 20.90% respectivamente. Por categorías fue de: 6.67% en mayores a 6 meses; 21.28% en vacunos de 1 a 2 años; 22.03% en vacunos de 2 a 3 años; 6.12% en vacunos de 3 a 4 años; 12.5% en vacunos de 4 a 5 años; 29.55% en vacunos de 5 a 6 años y 18.18% en vacunos de 6 a más años. Reportando una incidencia total de 17.86%.

5.2. BASES TEORICAS

5.2.1. Brucelosis Bovina

La Brucelosis es una enfermedad causada por la *Brucella abortus*, esta bacteria tiene una relación con el útero grávido, los testículos, las glándulas mamarias, glándulas sexuales, bolsa sinovial, vainas tendinosas, y de ellos vacunos en edad mayor los ganglios linfáticos, esto llega a multiplicarse en los ganglios y por medio de la linfa o sangre se posicionan en los órganos (Blood et al., 1985). En terneros la infección es temporal y transitoria, multiplicándose en los ganglios linfáticos. Cuando la vaca no está

en estado de gestación, la *Brucella abortus* se llega a posicionar en el útero y en las glándulas mamarias, si está en periodo de gestación la infección se inicia en la ubre y llegan al útero por fases bacterémicas (Blood et al., 1985).

A bajas temperaturas y en condiciones húmedas, *Brucella* puede sobrevivir en ambientes distintos por largos períodos (ver tabla 01)

Tabla 1. Supervivencia de *Brucella* en el medio ambiente

Medio	Días de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a Temperatura ambiente	2-4 días
Fluidos y secreciones	10-30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37°C a pH 7.5	Menos de 1 día
Agua a 8°C a pH 6.5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6-8 meses

Fuente: Castro et al (2005).

Son bastante sensibles al calor, ya que al ser sometida a la pasteurización o al exponerla a temperaturas de 60° C por 30 minutos se destruyen rápidamente. La *Brucella* también es muy sensible a la radiación ionizante y a la luz ultravioleta (Lopez , 2006).

5.2.1.1. Sinonimia

Esta es conocida como fiebre ondulante, fiebre de malta, fiebre del mediterráneo (en personas). En los animales, el aborto infeccioso, contagioso, epizoótico; en los vacunos la enfermedad de Bang. (Acha & Szyfres, 2001).

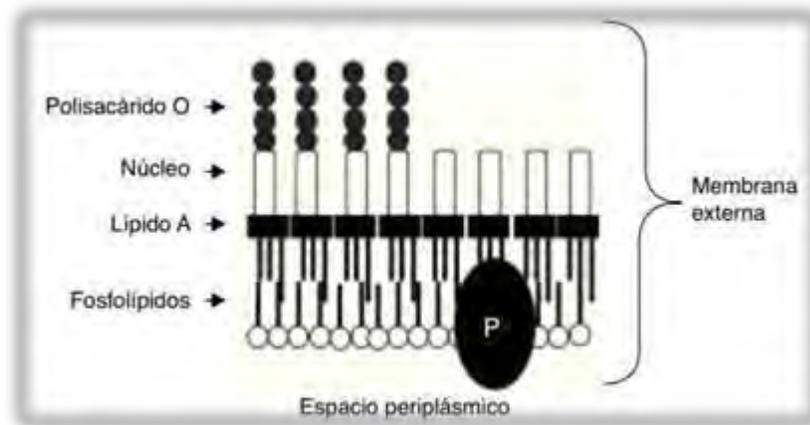
5.2.1.2. Etiología

Una de las causas principales de la brucelosis en los bovinos, búfalos y bisontes, es la *Brucella abortus*, este siendo un cocobacilo o bacilo corto Gram negativo (Lowa State University, 2009), no encapsulados, inmóviles, no formadores de esporas, de crecimiento lento, aerobios estrictos e intracelulares facultativos.¹ (Vega et al., 2008). Se han reportado hasta nueve biovariedades (1 a 9) de *B. abortus* (Lowa State University, 2009). Las dimensiones de estos pequeños bacilos gramnegativos que son género de la *Brucella*, por diámetro tienen de 0.5 – 0.7, y de longitud 0.5 – 1.5 μm , y en su mayoría prima la forma cocobacilar corta. (Álvarez et al., 2015). De metabolismo oxidativo, emplean nitratos como aceptores de electrones. Los bacilos son catalasa y oxidasa positivas, no fermentan azúcares (Castro et al., 2005; Alvarez et al., 2015). Su genoma está constituido por 2 cromosomas circulares y escasea de plásmidos (Álvarez et al., 2015).

5.2.1.3. Estructura

La membrana externa de *Brucella* está enriquecida de fosfatidil colina y tiene un componente de mayor estudio que es el LPS, este haciendo referencia a la endotoxina. Está constituida por 3 regiones, ellos son: Polisacárido O (cadena O), Lípido A y oligosacárido (núcleo) (ver figura 01)(Álvarez et al., 2015).

Figura 1. Membrana externa de la pared celular de la *Brucella*.



Fuente: Castro et al. (2005)

Las proteínas que se localizan en la membrana externa están asociadas a los lipopolisacáridos, las que tienen mayor interés debido a su alta especificidad en comparación con otras especies de bacterianas, por lo tanto, útiles para el serodiagnóstico e incluso para la producción de vacunas (Álvarez et al., 2015).

5.2.1.4. Distribución geográfica

La distribución de las distintas especies de *Brucella* y sus biovars presenta variaciones geográficas, de las cuales la *B. abortus* es la más difundida. Las otras especies como *Brucella melitensis* y *Brucella suis* están irregularmente distribuidas. La infección por *Brucella canis* tiene una distribución mundial, en cambio la *Brucella ovis* está distribuida en países donde la cría de ovinos es preponderante (Acha & Szyfres, 2001).

En países como Austria, Bélgica, Alemania, Bulgaria, Checoslovaquia, Hungría, Finlandia, Dinamarca, Rumania, Países Bajos, Suiza y Suecia; la brucelosis bovina, fue erradicada. Esto teniendo a los países europeos sin brucelosis bovina. Considerando

también que los países que son primeros productores de carne como Estados Unidos, Francia, Australia, Gran Bretaña, Nueva Zelanda y Canadá, con países donde no hay índice de brucelosis. La Brucelosis, es considerada como una de las enfermedades en los vacunos con mayor importancia en Latinoamérica como en otros entornos del desarrollo preindustrial (Acha & Szyfres, 2001).

5.2.1.5. Período de incubación

En el ganado bovino, el aborto y la muerte fetal suelen ocurrir de dos a cinco semanas posterior a la infección. Se considera que la mayoría de las pérdidas en etapa de preñez, suceden en la segunda mitad de esta. Es por ello, que cuando los animales se infectan, el tiempo de incubación es más extenso (Lowa State University, 2009). Cuando la etapa de preñez está más avanzada, el periodo de incubación es más corto. En el caso que la hembra se infecte por vía oral en el tiempo del apareo, el tiempo de la incubación llega a tener una duración de doscientos días, si después de 6 meses de apareamiento se llega a infectar, el tiempo de incubación será de dos meses. Factores que pueden afectar el tiempo de incubación son: la virulencia bacteriana, las dosis, las vías de infección y la susceptibilidad. (Acha & Szyfres, 2001).

5.2.1.6. Transmisión

a) Vía digestiva

La vía de invasión más habitual es en el tracto gastrointestinal, por ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminadas por brúcelas, estas son parte de las fuentes de infección primordiales. Otro factor por el cual se infectan, es el hábito de estos animales por lamer las partes genitales de otros animales de su tipo (vacas) (Acha & Szyfres, 2001).

b) Vía transplacentaria

La vía placentaria es una de las principales vías de transmisión. La infección uterina suele ocurrir en el último trimestre de gestación, provocando daños en la placenta y el feto, lo que puede conducir a la muerte fetal más adelante, como aborto espontáneo, mortinato o muerte y nacimiento de terneros débiles (Durán, 2012). En este contexto, la principal fuente de infección en las vacas es el feto, las membranas fetales y las secreciones vaginales que contienen grandes cantidades de *Brucella*. En menor medida, las heces de terneros alimentados con leche contaminada pueden contribuir a la contaminación del campo, ya que no todas las especies de *Brucella* se destruyen en el tracto digestivo (Acha & Szyfres, 2001).

c) Vía sexual

La vía sexual tiene escasa importancia en la secreción de *Brucella* dentro del hato, ya que los machos depositan el semen en la vagina de la hembra y se ha demostrado que la microbiota vaginal inhibe el desarrollo de la *Brucella*. Además, se ha encontrado una proteína en el moco cervical y vaginal que protege al útero de la invasión de la bacteria *Brucella abortus* (Durán, 2012).

d) Contaminación de material obstétrico

B. abortus se elimina continuamente en las secreciones uterinas hasta 30 días después del parto o aborto, lo que hace que las intervenciones ginecológicas sean una operación peligrosa para los veterinarios y los animales si el equipo no está apropiadamente esterilizado (Durán, 2012).

e) Otros productos

La propagación de la infección a través del hato lechero también puede afectar la producción de leche, ya que aproximadamente la mitad de las vacas infectadas eliminan *Brúcella* en la leche en las semanas, meses y años posteriores al aborto o al parto; especialmente en establos con muy malas condiciones sanitarias y durante el ordeño (Rodríguez et al., 2001). Otra manera de contraer la infección, es por medio de otros animales que, ya están infectados o por medio de sus productos (por la sangre, secreción vaginal, orina, abortos, fetos y la placenta infectada), por ello, se considera como una enfermedad de profesión de ganaderos, carniceros, granjeros y veterinarios. (Margni, 2005).

5.2.1.7. Signos clínicos

En el ganado bovino, *B. abortus* causa aborto y muerte fetal, y el aborto suele ocurrir en la mitad del tiempo de gestación. Es por ello, que varios terneros nacen con dificultades y un aspecto débil que puede provocar su muerte a poco tiempo de su nacimiento. Por otro lado, también se puede dar la retención de la placenta y la metritis secundaria (Lowa State University, 2009), que puede ser aguda con septicemia y muerte o infertilidad crónica (Dias, 2003). Puede reducir el periodo de lactancia. Después del primer aborto espontáneo, las gestaciones subsiguientes suelen ser normales; incluso entonces, las vacas pueden eliminar este microbio en su leche y secreciones uterinas.

En los machos, a veces se observan epididimitis, cistitis, orquitis o abscesos testiculares en los toros cuando la orquitis es aguda, pero si solo se ve afectado un testículo, pueden recuperar la fertilidad y convertirse en portadores (Dias, 2003).

La infertilidad puede ocurrir en ambos sexos debido a metritis u orquitis/epididimitis (Lowa State University, 2009). Se estima que la infección reduce la producción de leche entre un 20% y un 25% debido a la interrupción de la lactancia por aborto y concepción tardía (Acha & Szyfres, 2001). Las vacas inseminadas artificialmente con semen infectado, pueden repetir el celo varias veces (Acha & Szyfres, 2001). Las vacas no preñadas no muestran síntomas clínicos y cuando se infectan antes del servicio en muchas oportunidades no abortan (Acha & Szyfres, 2001).

5.2.1.8. Susceptibilidad de rebaño

Los terneros y terneras menos de 6 meses de edad son menos susceptibles a la infección y, por lo general, solo se infectan temporalmente. Los terneros alimentados solo con leche que contiene Brúcela pueden portar el patógeno en sus ganglios linfáticos, pero los animales generalmente están libres de infección a partir de las 6 a 8 semanas después de suspender la alimentación infectada (Acha & Szyfres, 2001).

Las vacas son la categoría más sensible, especialmente durante la preñez, donde las infecciones son comunes y los abortos son comunes. Algunos animales nunca se infectan o, si lo hacen, la infección es transitoria. Algunas vacas lecheras muestran baja susceptibilidad, mostrando infección sistémica, rendimiento reproductivo y producción de leche reducida durante uno o más años, pero se recuperan gradualmente. Sin embargo, la mayoría de las vacas conservan títulos de aglutinación positivos durante muchos años o durante toda la vida después de la infección, y aunque pueden parir normalmente y volver a la producción normal de leche después de uno o dos abortos, muchas vacas son portadoras y excretadoras de Brúcella. Se estima que solo del 10% al 25% de las vacas abortan por segunda vez (Acha & Szyfres, 2001).

5.2.1.9. Lesiones

Los fetos abortados entre el quinto mes de gestación y el nacimiento suelen tener edema con líquido subcutáneo excesivo, pero pocas lesiones evidentes. Las lesiones placentarias no suelen estar descritas, pero los cotiledones suelen estar necróticos y cubiertos de un exudado pardo. Las vacas adultas desarrollan endometritis de leve a moderada después del parto, que generalmente se resuelve dentro de los 30 a 90 días; sin embargo, puede ocurrir retención de placenta. El aspecto microscópico del útero y del posparto de la vaca preñada es adecuado. En el caso de los machos, se puede visualizar diferencias en el sistema reproductivo, como la epididimitis y orquitis, causando la atrofia testicular, esto a causa de la *Brucella*. (Cordova et al., 2017).

5.2.1.10. Patogenia

Inmediatamente después de la entrada, las bacterias, libres o en fagocitos, son transportadas al ganglio linfático más cercano al sitio de entrada (Iharmon et al., 1988; Rivers et al., 2006). Luego se multiplica en los nódulos regionales y se transporta a varios órganos a través de la linfa y la sangre (Acha & Szyfres, 2001). Estos ganglios linfáticos responden a la agresión a través de la hiperplasia de las células reticuloendoteliales y linfáticas que puede desarrollarse durante semanas y persistir durante meses (Rodriguez et al., 2001). *Brucella* sobrevive y se multiplica en los fagosomas de los macrófagos, y la rápida acidificación del medio, inhibe la fusión de los fagosomas que contienen bacterias con los lisosomas (Ko & Splitter, 2003). La afinidad específica de estas bacterias por el endometrio gestacional fetal bovino y la placenta significa que estas bacterias también se multiplican extensamente en los trofoblastos placentarios que rodean al feto (Meador & Deyoe, 1989; Rivers et al., 2006), lo que determina una infección aguda en animales

la manifestación clínica de aborto en el último tercio del período de gestación o el nacimiento de animales prematuros con baja tasa de supervivencia (Ficht, 2003). Esta afinidad se debe a que la placenta produce una sustancia llamada eritrol, la misma que es de alta concentración en el ambiente uterino, así como en el mismo feto, cuanto más avanzado este el proceso de gestación. El eritrol favorece a que las bacterias *Brucella* sean propagadas de forma adecuada, además de que dicha sustancia se fije en los tejidos. La invasión del útero grávido comienza en su pared, pero su luz se ocupa rápidamente, lo que provoca una endometritis ulcerosa grave en el espacio entre los cotiledones. La alantoína, el líquido amniótico y los cotiledones son atacados por *Brucella* seguido de la destrucción de las vellosidades que da lugar al aborto (Guerrero, 1996). En bovinos machos, provoca cambios testiculares y reducción de la fertilidad, a veces con abscesos testiculares y epididimarios (Hausler & Koontz, 1974; Rivers et al., 2006).

El grado o nivel del organismo que puede predisponer una patología, es decir la virulencia de la *Brucella abortus*, se determina por su capacidad de interiorizarse, lograr la supervivencia y efectuar su replicación en los fagocitos especializados y no especializados (Moreno & Moriyón, 2002; Rivas, 2014). El lipopolisacárido (LPS) de *Brucella* es de poca dinamicidad biológica, debido a que no incita a la sepsis, hace que no se reflejen las inflamaciones que están en curso, no se reclutan la cantidad de neutrófilos necesarios, ni se producen las citoquinas, es resistente a las moléculas que conforman el sistema inmune del hospedero, las mismas que tienen la función de eliminar bacterias, tampoco activa la vía alterna del complemento (Moreno & Moriyón, 2002; Ko & Splitter, 2003; Rivas, 2014). En organismos dotados de macrófagos, la cadena O del lipopolisacárido (LPS) liso bacteriano que no fue reconocida y dirigida mediante el

proceso de opsonización tienen interacción con las moléculas receptoras como ManR, que se encuentran ubicadas en la membrana celular hospedera (Porte et al., 2003; Moreno & Gorvel , 2004; Rivas, 2014). Después es introducida a través de balsas lipídicas. En su mayoría estos componentes bacterianos entran a las células del hospedero por fagocitosis “zipper”, este cuenta con la particularidad de inducir la duplicación parcial cromosómica, conocida como rearreglo y el citoesqueleto celular hospedero (Porte et al., 2003; Moreno & Gorvel , 2004; Rivas, 2014). En las células que se encuentran en el intestino, que son de tipo M y del epitelio, esta bacteria ingresa igualmente a través de procesos “zipper” (Rivas, 2014). En el caso de los macrófagos, generalmente los componentes bacterianos se dirigen a las fagolisosomas, son escasos los componentes bacterianos que alcanzan el retículo endoplásmico, este último constituye su ambiente de replicación. Para el caso de las células epiteliales, en su mayoría el destino por excelencia es el retículo endoplásmico y son menores los compuestos bacterianos cuya dirección son los lisosomas (Moreno & Gorvel , 2004; Rivas, 2014). En cuanto el agente bacteriano se encuentra en el ambiente para realizar su replicación, esta tiene la protección antibiótica y elementos que eliminan las bacterias del hospedero, además de los anticuerpos, esto predispone un proceso infeccioso crónico (Roop et al., 2009; Rivas, 2014).

5.2.1.11. Respuesta inmune

Después de ingresar al cuerpo, *Brucella* invade y se desarrolla en las células del sistema fagocítico mononuclear. La respuesta inicial la proporcionan los linfocitos T auxiliares tipo I, que junto con la activación de los macrófagos son los responsables de la eliminación de las células infectadas (Vega et al., 2008). Si no se eliminan, ingresan a

los vasos linfáticos regionales y de allí al sistema circulatorio, donde son fagocitados por macrófagos y células polimorfonucleares y transportados a los órganos del cuerpo, donde pueden continuar multiplicándose y siendo fagocitados por células tisulares (Vega et al., 2008). Además, recientemente se estudió que las bacterias producen ureasa, que aparentemente protege a *Brucella* durante su paso por el tracto digestivo (Vega et al., 2008).

5.2.1.12. Latencia

El patógeno no permanece en el útero mucho tiempo después de que una vaca infectada haya abortado o parido normalmente. La infección se vuelve crónica y la *Brucella* coloniza los ganglios linfáticos y las glándulas mamarias del ganado. *Brucella* puede sobrevivir en la ubre durante muchos años (Acha & Szyfres, 2001).

5.2.1.13. Diagnóstico

5.2.1.13.1. Método Directo

Un diagnóstico definitivo de brucelosis necesita el aislamiento y la identificación del agente causal, pero no siempre es posible recuperar *B. abortus* de animales vivos infectados. La leche, los hisopados vaginales y los tejidos afectados a menudo se cultivan, pero los fetos abortados, los terneros infectados y las membranas fetales suelen contener una gran cantidad de *Brucella* (Córdova et al., 2017).

Las mejores muestras de cultivo son los contenidos de estómago, hígado y bazo de fetos abortados y terneros infectados. Los ganglios linfáticos vinculados con el tracto gastrointestinal también se cultivan de manera rutinaria como positivos para *Brucella* (Córdova et al., 2017).

a) Métodos de tinción

No son verdaderas bacterias acidorresistentes, pero son resistentes a la tinción ácida leve y pueden teñirse de rojo con el método Ziehl-Neelsen modificado de Stamp. Es un medio estándar que examina frotis de los órganos o fluidos que son fijados con anterioridad por medio del calor o etanol, la *Brucella* da una coloración rojiza mediante la tinción sobre un fondo azul (OIE, 2012).

b) Medios de Cultivo basales

El aislamiento y cultivo directo de *Brucella* se suele realizar en medios sólidos. Varios medios basales deshidratados están disponibles comercialmente, como base de medio para *Brucella*, agar de soja tripticasa (TSA). Algunas cepas, como *B. abortus* biovar 2, requieren la adición de 2-5% de suero bovino o equino. Es posible recurrir al uso de medios como el suero dextrosa, agar (SDA) o agar de glicerol dextrosa. El SDA suele ser el medio elegido para monitorear la morfología de las colonias (OIE, 2012).

c) Medios e cultivo selectivos

Todos los medios de cultivo bases enumeradas anteriormente se pueden utilizar para preparar un medio selectivo con la adición del antibiótico apropiado a fin de prevenir la proliferación de organismos diferentes de la *Brucella*. Uno de los medios que son de mayor utilidad, por ello se emplea con mayor frecuencia es el Farrel, este tiene una preparación compuesta por 6 antibióticos en el medio básico. Se deben agregar estas cantidades por 1lt de agar: cinco mil unidades (5 mg) de sulfato de polimixina B, veinticinco mil unidades (25 mg) de bacitracina, cincuenta mil unidades (50 mg) de natamicina, 100 mg de nistatina y veinte mil unidades de vancomicina (OIE, 2012).

5.2.1.13.2. Métodos de reconocimiento de ácidos nucleicos

La PCR, incluidos los formatos en tiempo real, es otro método para *Brucella spp.* para su detección e identificación. A pesar del alto grado de homología de ADN en el género *Brucella*, se han desarrollado varios métodos moleculares que posibilitan distinguir en cierta medida entre el género *Brucella* y algunas de sus variantes biológicas (OIE, 2012).

Este diagnóstico se establece mediante la prueba serológica de la tarjeta (PT) y la fijación del complemento (FC), *Yersinia enterocolitica* serotipo 09 es una bacteria que puede reaccionar también a las pruebas referidas, obteniendo así falsos positivos (Rentería, 2005). Los métodos indirectos para detectar la brucelosis incluyen:

5.2.1.13.3. Métodos Indirectos

a) Prueba de tarjeta o Rosa de Bengala

Esta prueba parte de identificar los anticuerpos que secretan las células plasmáticas, es decir son células circulantes, tienen una tipificación dual: anticuerpos IgM de la vacunación y anticuerpos IgG1 e IgG2 de larga duración como consecuencia de la infección. También llamada Rosa de Bengala puede detectar anticuerpos que circulan en la sangre del ganado, las mismas que no son dependientes del tipo (IgG o IgM) sensibles al 75-80% y una especificidad del 80-85%, estas hacen una detección del falso positivo y falso negativo. Aunque esta prueba diagnóstica tiene algunos inconvenientes, se considera una herramienta muy útil por ser una prueba sencilla y rápida (Córdova et al., 2017).

b) Prueba de Rivanol

El principio de esta prueba de diagnóstico es el mismo que el de la tarjeta, excepto que se agrega una sustancia de rivanol (lactato) para precipitar los anticuerpos IgM y el sobrenadante contiene un anticuerpo IgG que se aglutina con el antígeno en la prueba y reacciona solo con sueros que poseen anticuerpos de la infección (Córdova et al., 2017).

c) Prueba de ELISA

Es una técnica muy sensible, específica y versátil (99,4% de sensibilidad 99% de especificidad) que utiliza cantidades muy pequeñas de suero y tiene muy buenos resultados incluso en presencia de hemólisis (Córdova et al., 2017).

d) Prueba de fijación de complemento

Esta prueba diagnóstica tiene la sensibilidad más alta del 95 % y una especificidad del 70 % para el diagnóstico de brucelosis, pero su realización requiere mucho tiempo, equipo y se recomienda como prueba confirmatoria cuando los resultados son equívocos. Tiene la propiedad de distinguir los anticuerpos vacunales de los infecciosos, y dado que detecta animales infectados, se considera una prueba diagnóstica de alta confianza (Córdova et al., 2017).

e) Prueba de Inmunodifusión Radial

Esta prueba es una buena herramienta para el diagnóstico diferencial de anticuerpos de vacuna y anticuerpos de infección porque tiene la misma sensibilidad (95%) y mejor especificidad (80%) que la prueba de fijación del complemento, lo cual es importante porque detecta anticuerpos vacunales y de infección. Las vacunas son más seguras para los animales. Sería útil monitorear rebaños vacunados contra la cepa 19 o

RB51 para detectar diferencias entre las respuestas vacunales y postinfección (Córdova et al., 2017).

5.2.1.14. Control

La brucelosis bovina generalmente se introduce en el rebaño por animales infectados, pero también puede transmitirse por semen o fómites de toros infectados. En áreas endémicas, las terneras vacunadas o las novillas no preñadas son la mejor opción para introducir nuevos animales a una manada no infectada (Lowa State University, 2009). El ganado preñado o en movimiento debe ser de un rebaño o área libre de brucelosis y debe ser seronegativo. Los animales jóvenes deben estar en cuarentena durante aproximadamente un mes y sometidos a pruebas de *B. abortus* antes de su incorporación al rodeo (Lowa State University, 2009). La erradicación se puede lograr mediante el aislamiento de los rebaños infectados, la vacunación, los métodos de prueba y sacrificio, diversas formas de vigilancia y la identificación de la fuente de la enfermedad. Todas las áreas que entren en contacto con animales infectados y sus secreciones deben limpiarse y desinfectarse a fondo. Las vacunas contra las cepas 19 y RB51 de *Brucella abortus* son de posible empleo para el control de la patología en regiones endémicas, como también en programas de eliminación patológica (Lowa State University, 2009).

El control de la brucelosis depende de la identificación y erradicación de los animales infectados. Además, la vacunación de animales sanos es un pilar importante del programa de control para erradicar la enfermedad en una etapa posterior (Estein, 2006).

5.2.1.15. Vacunas contra *Brucella abortus*

A la actualidad se han empleado clásicamente cepas bacterianas atenuadas y componentes antigénicos propios de la *Brucella* (Rivers et al., 2006).

5.2.1.15.1. Bacterias atenuadas

a) *Brucella abortus* S19

La cepa 19 de *Brucella abortus*, es lisa concadena O del LPS, debido a eso, que en el caso de que el animal se encuentre inmunizado a esta cepa, se observan varios anticuerpos específicos contra los tipos IgG1, IgG2b e IgM (Vemulapalli et al., 2000). Aquellos anticuerpos que se introducen por medio de vacunas generan una interferencia al momento de diagnosticar a los bovinos que se infectaron con cepas silvestres de *B. abortus*, es por ello que su utilización se encuentra limitada, uno de los efectos adversos es la inducción del aborto en el caso de la hembra preñada (Olsen, 2000).

Los anticuerpos provocados por la vacunación con esta cepa interfieren con la respuesta a la infección con *Brucella* de tipo salvaje, por lo que su uso en la vacunación del ganado es limitado; la cepa también puede causar aborto en vacas preñadas (Olsen, 2000).

b) *Brucella abortus* 45/20

La cepa 45/20 es una cepa rugosa que no se usa mucho porque es inestable y puede volver a su forma virulenta in vivo (Corbeil et al., 1988).

c) *Brucella abortus* RB51

Brucella abortus RB51 es una cepa rugosa resistente a la rifampicina. La protección conferida por la vacunación con esta cepa está asociada con la activación de

los linfocitos T (Vemulapalli et al., 2000; Olsen, 2000). La vacunación induce altos niveles de IFN- γ , que es esencial en las primeras etapas de la infección (Pasquali et al., 2001).

5.2.1.15.2. Vacunas subcelulares

Se han probado varios antígenos de *Brucella* para determinar su capacidad para provocar respuestas inmunitarias mediadas por células. Estos antígenos forman parte de estructuras bacterianas como la lipoproteína de 18 kDa presente en la superficie de *Brucella* (Vemulapalli et al., 2000b). Proteína periplásmica P39, ferritina bacteriana (Al-Mariri et al., 2001) y proteína ribosomal L7/L12, que proporcionaron una protección comparable a la obtenida por *B. abortus* cepa 19 en ratones (Oliveira et al., 2002; Ko & Splitter, 2003).

5.2.1.15.3. Nuevas tendencias en la generación de vacunas contra *Brucella*

Con el paso del tiempo, se instauró una variedad estratégica para que las inmunizaciones sean de mayor efectividad con base en moléculas de ácido nucleico, que han dado lugar a la tercera generación de vacunas, se trata de las vacunas de ADN y ARN (Rivers et al., 2006).

a) Vacunas ADN

Las vacunas que emplean este recurso metódico, utilizan plásmido bacteriano, estos plásmidos están compuestos por promotores virales que se expresan en la célula eucarionte, este es un gen codificador de los antígenos seleccionados, con secuencia de término de la transcripción o poliadenilación. Los componentes celulares de los huéspedes tienen la capacidad de realizar la síntesis, el procesamiento y la presentación de antígenos a los linfocitos, ello hace que las células T y B respondan. Los plásmidos

se fabrican sin la necesidad de replicar funcionalmente en las células eucariontes, entonces, no hay replicación en las células hospederas ni integración al ADN (Donnelly et al., 1997).

En principio, los métodos de vacunación con ácidos nucleicos se basan en el uso de plásmidos bacterianos con potentes promotores virales capaces de autoexpresión en células eucariotas, genes que codifican antígenos seleccionados y una secuencia de término de la transcripción o poliadenilación. Las células huésped son capaces de sintetizar, procesar y presentar antígenos a los linfocitos, provocando finalmente respuestas de células T y células B específicas de antígeno. Los plásmidos se generan sin replicar la célula eucariota, por eso no hay replicación en las células hospederas ni integración al ADN de los hospederos (Donnelly et al., 1997).

✓ **Vacunas ADN para *B. abortus***

Está comprobado que la vacuna de ADN están compuestas por los genes de la proteína L7/L12 (Kurar & Splitter, 1997) y lumazina sintetasa (Velikovsky et al., 2002) protegen significativamente al ratón de la brucelosis. Es así que, el ratón BALB/c vacunado con un plásmido ADN que tiene el gen (sodC), realiza la codificación proteica de SOD Cu/Zn de *Brucella abortus* (pcDNA-SOD), desarrolla los anticuerpos específicamente contra la proteína recombinante SODr, muestran anticuerpos específicos inmunoglobulinas tipo IgG2a, que fueron superiores a IgG1 para provocar una respuesta proliferativa de las células T para producir INF- γ y noñdefIL-10 o IL-4, lo que demuestra que la vacunación con pcDNASOD indujo suficientes anticuerpos y respuestas inmunitarias de tipo Th1 para proteger contra el ataque de cepas patógenas de *Brucella* (Oñate et al., 2003).

b) Vacunas ARN

Este vector es una partícula suicida del componente viral Semliki Forest, contiene ARN desnudo autorreplicante, con una estructura secuencial con inserción del gen codificador proteico de capacidad inmune (Andesson et al., 2001; Fleeton, et al., 1999).

5.3. BASES CONCEPTUALES

5.3.1. Antígeno

Una molécula exógena o endógena que es extraña al cuerpo. Puede unirse específicamente a anticuerpos (Ac) o por receptores de células T (TCR), que no resulta en la totalidad de los casos con respuestas inmunitarias (Vega, 2009).

5.3.2. Anticuerpo

Un anticuerpo (Ac) también denominado inmunoglobulina (Ig) es una molécula con una composición glicoproteína con un 10% de carbohidratos y un 90% de polipéptidos, con capacidades específicas para integrarse a los antígenos. Es conocida también como: anticuerpos, gammaglobulinas (debido a su movilidad electroforética), antitoxinas, aglutininas o precipitinas (Vega, 2009). Son productos de células B que se unen específicamente a fragmentos antigénicos (Gallastegui et al., 2002).

5.3.3. Reacción antígeno – anticuerpo.

Los antígenos son partes de microorganismos o parásitos que contienen sitios específicos de reconocimiento humoral (anticuerpos) o celular (linfocito) para la respuesta inmune, llamados epítomos (Gallastegui et al., 2002). Los denominados antígenos crudos suelen ser extractos solubles de microorganismos o parásitos, que consisten en antígenos y varios componentes de las células en las que están presentes.

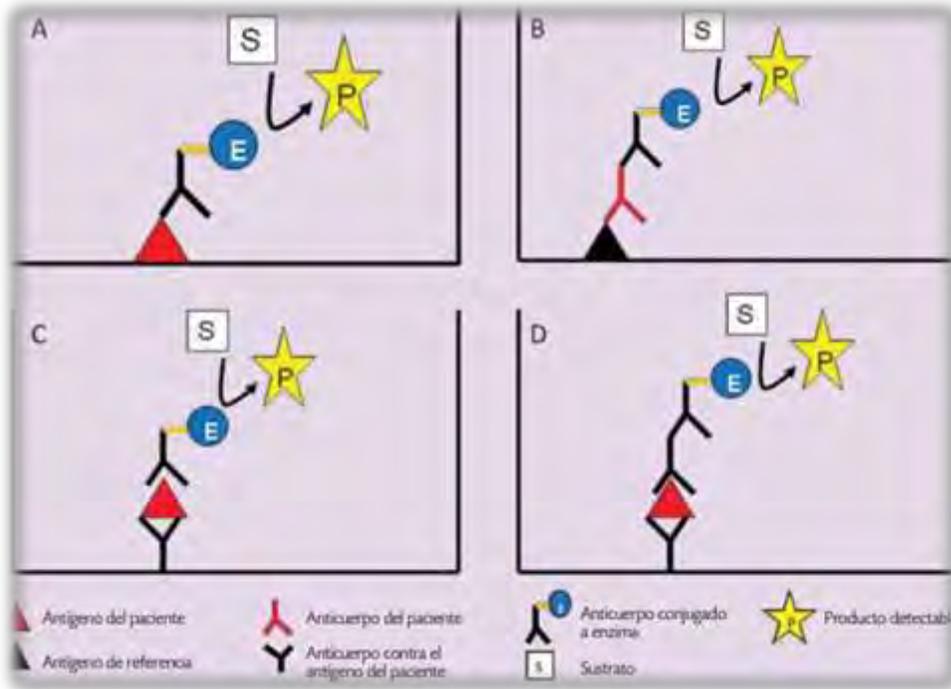
En el antígeno crudo, la mayoría de los componentes son irrelevantes, pero pueden ser reconocidos por anticuerpos o linfocitos y provocar reacciones de falso positivo o negativo, por lo que deben ser purificados (Gallastegui et al., 2002).

5.3.4. Prueba ELISA

La técnica ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) es actualmente la tecnología inmunológica más utilizada, se caracteriza por el empleo del marcador enzimático para detectar y amplificar la reacción corporal y antigénica (Rodríguez , 2004). Para este tipo de pruebas el elemento de la respuesta inmune se inmoviliza sobre algunos elementos sólidos, usualmente una placa de poliestireno, polietileno, polipropileno o nailon, que le permite adsorber pasivamente y eliminar los compuestos libres por lavado. La interacción antígeno-anticuerpo está determinada por una reacción colorimétrica cuando la acción enzimática produce la degradación de los sustratos correspondientes. La absorbancia de los pocillos que hay en las placas ELISA se miden para tener conocimiento cuantitativo de las respuestas inmunes (Rodríguez , 2004).

Todas las pruebas ELISA utilizan enzimas unidas covalentemente a antígenos o anticuerpos. Si la muestra de prueba contiene el antígeno o anticuerpo de interés, el anticuerpo marcado con enzima se une a él (principio de inmunología) y la enzima convierte el sustrato incoloro en un producto detectable (principio de enzimología). De esta forma, se generan productos detectables solo cuando el antígeno o anticuerpo de interés está presente en la muestra en estudio (Ríos et al., 2012).

Figura 2. Tipos de ELISA



Fuente: Obtenido de Ríos et al. (2012), A) *ELISA directo*, B) *ELISA indirecto*, C) *ELISA de Sándwich directo*, D) *ELISA de Sándwich indirecto*

5.3.5. ELISA indirecto

Este método permite detectar el anticuerpo. Para estas pruebas, los soportes tienen antígenos específicos, los anticuerpos muestreados se prueban contra dichos antígenos. Se inicia con la agregación muestral al paciente y los anticuerpos, si están presentes, se unirán al antígeno ya agregado al sustrato o soporte (Rios et al., 2012). Luego se realiza un lavado para eliminar cualquier material que no esté unido al antígeno, consecuentemente se añade un anticuerpo ligado a un enzima denominado conjugado, que se une al anticuerpo en el caso de que se encuentre en las muestras de los animales. Una vez concluido el segundo lavado y se elimine la totalidad de no uniones, se añade un sustrato incoloro, que se convertirá en un producto detectable si el conjugado todavía está presente (Rios et al., 2012).

El procedimiento del método de ELISA indirecto según (Abyntek, 2019) se describe a continuación:

1. La inmovilización del antígeno encima de la placa.
2. Incorporación del anticuerpo primario, sin marcar unión al antígeno.
3. Incorporación de anticuerpo secundario con marcación enzimática de unión al anticuerpo primario.
4. Agregación del sustrato cuya función es reaccionar frente a la enzima permitiendo a cuantificar el anticuerpo.

Figura 3. Ficha Técnica de fase ELISA indirecto



Fuente: Obtenido de Sánchez (2010), (1) El antígeno se pega a la placa (2) Se añade el suero problema. (3) se añade el conjugado. (4) se adiciona el sustrato.

5.3.6. Prevalencia

Caracteriza la cantidad de sujetos de una comunidad que padecen de alguna patología enmarcada en un tiempo específico. La prevalencia depende del inicio y la duración de la enfermedad (Pita et al., 2004). Si la incidencia de una enfermedad es baja

pero los individuos afectados lo tienen durante mucho tiempo, la fracción de la comunidad enferma se vincula en alto grado a la presencia de tal evento. Por el contrario, si hay un alto grado de incidencia en un intervalo temporal corto, ya sea por recuperación o muerte, es de baja prevalencia, si esta última sufre alteraciones, es posible que sea por alteraciones de la incidencia, la duración patológica o ambas razones (Pita et al., 2004).

VI. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

Para el presente estudio se realizó el muestreo de sangre de los vacunos de la Granja K´ayra, Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia-UNSAAC, ubicado en el distrito de San Jerónimo, provincia de Cusco, departamento de Cusco. La toma de muestras se realizó en el mes de febrero del 2022, consecuentemente se efectuó el análisis serológico en el laboratorio de Sanidad Animal “M.V. Atilio Pacheco Pacheco” de la Escuela Profesional de Zootecnia.

6.1.1. Ubicación política

- Región : Cusco
- Departamento : Cusco
- Provincia : Cusco
- Distrito : San Jerónimo

6.1.2. Ubicación geográfica

- Latitud Sur : 13°33'7,39"
- Longitud Oeste : 71°52'52,73"
- Altitud : 3220 m s. n. m
- Superficie : 93.58 Km²

Fuente: (Robles, 2019).

6.1.3. Delimitación Política

- Por el Norte: con los distritos de San Salvador y Taray de la provincia de Calca (Cerros Pícol y Nañuhuayco).

- Por el Sur: Con el distrito de Yaurisque de la provincia de Paruro (cerro de Occoruro).
- Por el Este: Con el distrito de Saylla (Lircay y ex hacienda Angostura).
- Por el Oeste: Con el distrito de San Sebastián.

Fuente: (Robles, 2019).

6.1.4. Datos climáticos

- **Temperatura:** El distrito de San Jerónimo posee una temperatura máxima promedio de 22°C y una temperatura mínima promedio de 4.4° C (SENAMHI, 2014).
- **Precipitación:** La precipitación acumulada es de 698.2 mm, siendo los meses más lluviosos enero, febrero, octubre y diciembre (SENAMHI, 2014).

6.2. MATERIALES DE ESTUDIO

6.2.1. Tipo de investigación

El presente estudio corresponde a una investigación básica de tipo descriptivo. Según el diseño es una investigación no experimental y transversal.

6.2.2. Población

Vacunos mayores a seis meses de edad, de las razas Brown Swiss, Holstein e híbridos de la granja K'ayra, de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia-UNSAAC, distrito de San Jerónimo, región Cusco.

6.2.3. Tamaño de muestra

Se trabajó con la totalidad de vacunos mayores a seis meses de edad de las categorías (terneros, toretes, toros, terneras, vaquillonas, vaquillas y vacas) y sexos (hembras y machos), el cual correspondió a un total de 103 vacunos.

6.2.4. Materiales Auxiliares

6.2.4.1. Equipos

- Refrigeradora de -20°C (ELECTRIX EU21)
- Incubadora de 26° C (JITERBUG – 4, BOEKEL).
- Refrigeradora de 8°C (LG)
- Lector de microplacas de ELISA (Biotek EPOCH 2)
- Cabina de flujo laminar (Telstar Bio II A).
- Vortex (GENIE 2)
- Centrífuga (Nuve 2000)

6.2.4.2. Instrumentos

- Micropipetas de 30 - 300 µl
- Micropipetas de 100 – 1000 µl
- Micropipetas de 10-100 µl
- Mochetas
- Cronómetro

- Probeta de 100 a 1000 ml

6.2.4.3. Materiales

- Casquete para las agujas vacutainer.
- Tubos vacutainer con separador de suero de 5mL.
- Agujas vacutainer de 21G x 1"
- Alcohol de 70°
- Torundas de algodón.
- Gradillas
- Puntas o tips desechables de 5 – 300 µl.
- Puntas o tips desechables de 100-1000 µl
- Cooler refrigerante
- Baterías de hielo
- Guantes desechables
- Viales criogénicos de 2.0 mL
- Pipetas Pasteur desechables.
- Barbijo
- Gorro

- Agua destilada
- Parafilm.
- Papel absorbente.

6.2.4.4. Reactivos de laboratorio

- Placa tapizada por LSP de *Brucella abortus*.
- Control negativo
- Control positivo
- Conjugado concentrado
- Solución tampón de dilución n.º1
- Solución tampón de dilución n.º2
- Sustrato TMB n.º13
- Solución de frenado n.º3
- Solución de lavado concentrada (20x)

6.2.4.5. Materiales de Escritorio

- Cuadernos de campo
- Tablero
- Fichas individuales para los animales
- Marcador indeleble

- Laptop
- Lapicero

6.3. METODOLOGIA

6.3.1. Toma de muestras

Las muestras de sangre, se tomaron de vacunos hembras y machos mayores a seis meses de edad, de las razas Brown Swiss, Holstein e Híbridos, de la granja K´ayra. Dichas muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena caudal, para lo cual se realizó la desinfección de la zona de muestreo con alcohol de 70°, seguidamente se colectó la muestra sanguínea en un tubo vacutainer de 5 mL (figura 5), el cual se rotuló con los datos de cada vacuno. Dichas muestras fueron colocadas en un cooler refrigerante en medio de las baterías de hielo, para conservar la muestra a 8°C durante el traslado al laboratorio.

Figura 4. Toma de muestras de sangre de vacunos de la granja K´ayra



6.3.2. Obtención del suero.

La obtención de suero sanguíneo se realizó por centrifugación a 1500 RPM por 10 minutos (Muñoz & Morente, 2009) (figura 6). Luego se aspiró cuidadosamente la fracción superior de aspecto claro y transparente, de color amarillento (suero) con ayuda de una pipeta Pasteur estéril sin tocar el gel de la interface (Muñoz & Morente, 2009). Consecuentemente se colocó en crioviales de 2 ml y se conservó en la congeladora de -20 °C, por un periodo de 5 días, hasta el momento del análisis por el método ELISA indirecta.

Figura 5. Centrifugación de muestras de sangre



6.3.3. Metodología de laboratorio.

Se utilizó el método de ELISA indirecta, para detectar anticuerpos contra *Brucella abortus*.

6.3.3.1. Método de ELISA indirecta para detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

6.3.3.1.1. Descripción y principios de la prueba (según el kit de laboratorio IDEXX, 2022)

Las placas están tapizadas con un lipopolisacárido (LPS) de *Brucella*. Las muestras a analizar se diluyen y se incuban en los pocillos. Cualquier anticuerpo presente en la muestra específico frente a *Brucella* forma un complejo LPS de antígeno-anticuerpo en la superficie del pocillo. Tras el lavado, se incuba en los pocillos un conjugado de un anticuerpo anti-rumiante unido a una enzima. El conjugado se une a los complejos LPS de antígeno-anticuerpo. Después de otro lavado, se añade a los pocillos el sustrato (TMB). En presencia de la enzima, el sustrato se oxida generando una coloración azul, que vira amarilla luego de añadir la solución de frenado. La intensidad del color es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos anti-*Brucella* presentes en la muestra. El resultado se obtiene comparando la densidad óptica (DO) de la muestra con la media del control positivo (IDEXX, 2022a).

6.3.3.1.2. Preparación de las muestras y reactivos

a) Solución de lavado

La solución de lavado concentrada (20X) almacenada a 8°C, se diluyó en una proporción de 1:20 con agua destilada. Esta solución conocida como "solución de lavado" se cubrió con papel parafilm y se llevó a una temperatura de 21°C en una incubadora, antes de ser utilizada (IDEXX, 2022a).

Figura 6. Preparación de solución de lavado y conjugado



b) Conjugado

El conjugado concentrado almacenado a 8°C, se diluyó en una proporción de 1:100 con la solución tampón de dilución n. °1. Este conjugado diluido se llevó a una temperatura de 21°C en una incubadora antes de ser utilizada (IDEXX, 2022a).

c) Muestras

Se descongeló las muestras a una temperatura ambiental de 18°C y homogenizó en un vortex antes de realizar el ensayo (IDEXX, 2022a).

Figura 7. Homogenización de muestras de suero



Después de homogenizar las muestras, se preparó la plantilla ELISA, en la cual se asignó la posición de las muestras en cada pocillo de la placa (ver tabla 02 y 03).

Tabla 2. Distribución de las muestras de vacunos de K´ayra, en la placa ELISA, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
B	CP	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
C	CN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
D	CN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
E	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
F	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
G	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
H	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

Tabla 3. Distribución de las muestras de vacunos de K´ayra, en la placa ELISA, placa II.

	1	2
A	CP	M
B	CP	M
C	CN	M
D	CN	M
E	M	M
F	M	M
G	M	M
H	M	

6.3.3.1.3. Procedimiento de la prueba, según (IDEXX, 2022a).

1. Se anotó la posición de las muestras en las placas tapizadas con antígeno.
2. Se dispensó 190 µl de solución Tampón de Dilución n. °2 en cada pocillo (figura 9).

Figura 8. Adición de tampón de dilución a los pocillos de la placa ELISA.



3. Se añadió a los pocillos 10 µl de Control Negativo (CN) NO DILUIDO en las posiciones C1 y D1, y 10 µl de Control Positivo (CP) NO DILUIDO en las posiciones A1 y B1, ambos por duplicado.

4. Se dispensó 10 μ l de muestra NO DILUIDA en el resto de los pocillos (figura 9) y se procedió a sellar la placa con papel Parafilm para evitar la evaporación de los reactivos de los pocillos de la placa.

Figura 9. Adición de muestras de suero a los pocillos de la placa ELISA



5. Se procedió a mezclar el contenido de los pocillos usando un agitador de placas.
6. Se cubrió la placa e incubó por 1 hora a 26°C (figura 10).

Figura 10. Primera incubación de la placa ELISA



7. Se eliminó el contenido líquido de cada pocillo y se lavó cada pocillo con 300 μ l de Solución de Lavado, por 3 veces (figura 11). Después del lavado final se eliminó el fluido de lavado residual de cada placa golpeándola sobre papel toalla.

Figura 11. Primer lavado de los pocillos de la placa ELISA



8. Se dispensó 100 μ l de Conjugado DILUIDO en cada pocillo (figura 12).

Figura 12. Adición de conjugado a los pocillos de la placa ELISA.



9. Se incubó por 30 minutos a 26°C (figura 13).

Figura 13. Segunda incubación de la placa ELISA



10. Se repitió el paso 7 (figura 14).

Figura 14. Segundo lavado de los pocillos de la placa ELISA.



11. Se añadió 100 μ l de Substrato TMB n.º13 en cada pocillo (figura 15).

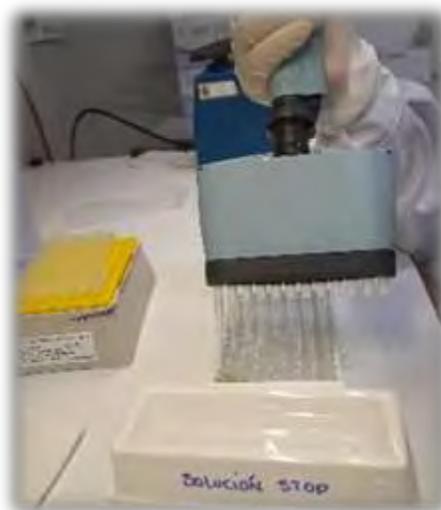
Figura 15. Adición de sustrato TMB a los pocillos de la placa ELISA.



12. Se procedió con la segunda incubación por 20 minutos a 26°C lejos de la luz directa.

13. Se añadió 100 μ l de Solución de Frenado n.º3 por pocillo (figura 16).

Figura 16. Adición de solución de frenado a los pocillos de la placa ELISA.



14. Se realizó la medición de los valores de densidad óptica (DO) de muestras y controles con un lector de microplacas ELISA a 450 nm de longitud de onda (figura 17).

Figura 17. Lectura de las densidades ópticas de cada pocillo de la placa ELISA



6.3.3.1.4. Sensibilidad y especificidad de la prueba

El kit ELISA para la detección de anticuerpos de la *Brucella abortus* del laboratorio IDEXX, posee una sensibilidad calculada de 95.8% y una especificidad de 99.8% (IDEXX, 2022b).

6.3.3.1.5. Validación de la prueba

La reacción es considerada válida, si los controles positivos ($CP_{\bar{x}}$) presentan un valor medio de densidad óptica (DO) $\geq 0,350$, a 450 nm de longitud de onda; y si el cociente del valor medio de las DO de los controles positivos ($CP_{\bar{x}}$) y el valor medio de las DO de los controles negativos ($CN_{\bar{x}}$) es $\geq 3,00$ (IDEXX, 2022a).

a) Cálculos

- Media de los controles negativos

$$CN \bar{x} = (CN1 + CN2) / 2$$

Donde:

CN \bar{x} : Densidad óptica promedio de los controles negativos.

CN1: Densidad óptica del control negativo 1, posición C1

CN2: Densidad óptica del control negativo 2, posición D1

- Media de los controles positivos

$$CP \bar{x} = (CP1 + CP2) / 2$$

Donde:

CP \bar{x} : Densidad óptica promedio de los controles positivos

CP1: Densidad óptica del control positivo 1, posición A1

CP2: Densidad óptica del control positivo 2, posición B1

6.3.3.1.6. Cálculo de resultados

- Muestra porcentual (M/P)

$$M/P (\%) = (DO_{muestra} - CN\bar{x}) / (CP\bar{x} - CN\bar{x}) * 100$$

Donde:

M/P (%): Muestra porcentual

CN \bar{x} : Densidad óptica promedio de los controles negativos.

CP \bar{x} : Densidad óptica promedio de los controles positivos

DO muestra: Densidad óptica de cualquier muestra

6.3.3.1.7. Interpretación de resultados

Según (IDEXX, 2022a) para sueros individuales:

- Muestras con porcentaje M/P % ≤ 110 , se consideran como negativos.
- Muestras con porcentaje M/P % >110 y < 120 , se consideran dudosos.
- Muestras con porcentaje M/P % >120 , se consideran positivos

6.3.4. Determinación de la prevalencia

Para determinar la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*, se utilizó la siguiente fórmula (Pita, *et al*, 2004):

$$P = \frac{C}{N} \times 100$$

Donde:

P = Prevalencia de la enfermedad.

C = Número casos existentes.

N= Total de animales evaluados.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. SEROPREVALENCIA DE LA *Brucella abortus* EN LOS VACUNOS DE LA GRANJA K´AYRA, POR CATEGORIAS.

7.1.1. Determinación cualitativa de los anticuerpos contra *Brucella abortus* en vacunos.

En las muestras evaluadas no se encontró sueros positivos, por lo que a la observación no hubo presencia de coloración amarilla en los pocillos de la placa ELISA después de agregar el sustrato cromógeno TMB. En las figuras 18 y 19 se observa la coloración amarilla en los pocillos correspondientes a los controles positivos más no en los sueros objeto de estudio.

Figura 18. Placa ELISA con resultados cualitativos para anticuerpos contra *Brucella abortus*, placa I.

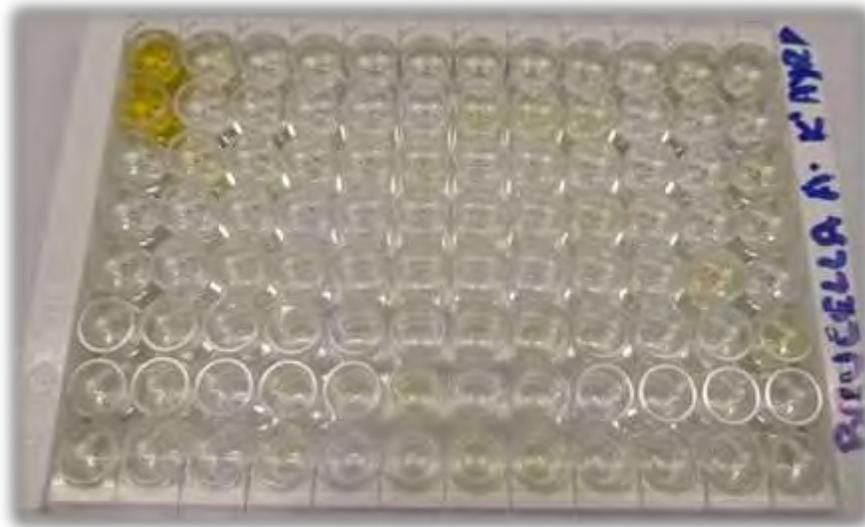


Figura 19. Placa ELISA con resultados cualitativos para anticuerpos contra *Brucella abortus*, placa II.



7.1.2. Determinación cuantitativa de los anticuerpos contra *Brucella abortus* en vacunos.

Para determinar de forma cuantitativa la presencia de los anticuerpos contra *Brucella abortus* en vacunos de la granja K'ayra, primero se realizó la lectura de los valores de densidades ópticas con un lector de microplacas ELISA a 450 nm de longitud de onda, las que se muestran en las tablas 04 y 05.

Tabla 4. Densidades ópticas de las muestras, obtenidas con el lector de microplacas para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,764	0,124	0,056	0,067	0,066	0,061	0,062	0,061	0,074	0,06	0,148	0,087
B	1,814	0,079	0,076	0,055	0,074	0,053	0,154	0,154	0,164	0,054	0,08	0,069
C	0,058	0,146	0,095	0,087	0,073	0,119	0,051	0,054	0,062	0,063	0,066	0,154
D	0,052	0,06	0,062	0,051	0,059	0,056	0,085	0,078	0,13	0,062	0,06	0,082
E	0,104	0,06	0,086	0,066	0,07	0,08	0,086	0,068	0,065	0,067	0,183	0,064
F	0,124	0,104	0,075	0,064	0,092	0,07	0,117	0,109	0,077	0,083	0,104	0,196
G	0,114	0,115	0,054	0,085	0,066	0,127	0,126	0,058	0,06	0,068	0,098	0,068
H	0,07	0,078	0,057	0,065	0,081	0,084	0,115	0,124	0,134	0,101	0,071	0,061

Tabla 5. Densidades ópticas de las muestras, obtenidas con el lector de microplacas para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*, placa II.

	1	2
A	1,723	0,054
B	1,726	0,082
C	0,044	0,061
D	0,046	0,144
E	0,077	0,055
F	0,151	0,063
G	0,083	0,07
H	0,068	

En las tablas 04 y 05, se muestran los títulos de anticuerpos de las muestras analizadas, los que se encuentran por debajo de los valores de densidades ópticas de los controles positivos (posición A1 y A2), lo cual nos indica que no hubo presencia de anticuerpos contra la *Brucella abortus* en los sueros evaluados.

A partir de los valores de densidades ópticas de las muestras evaluadas se determinó el % M/P, cuyos valores se muestran en las tablas 06 y 07.

Tabla 6. Porcentaje M/P para determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en vacunos de la granja K'ayra, placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	98,558	3,979	0,058	0,692	0,634	0,346	0,404	0,346	1,096	0,288	5,363	1,845
B	101,442	1,384	1,211	0,000	1,096	0,115	5,709	5,709	6,286	0,058	1,442	0,807
C	0,173	5,248	2,307	1,845	1,038	3,691	0,231	0,058	0,404	0,461	0,634	5,709
D	-0,173	0,288	0,404	0,231	0,231	0,058	1,730	1,326	4,325	0,404	0,288	1,557
E	2,826	0,288	1,788	0,634	0,865	1,442	1,788	0,750	0,577	0,692	7,382	0,519
F	3,979	2,826	1,153	0,519	2,134	0,865	3,576	3,114	1,269	1,615	2,826	8,131
G	3,403	3,460	0,058	1,730	0,634	4,152	4,095	0,173	0,288	0,750	2,480	0,750
H	0,865	1,326	0,115	0,577	1,499	1,672	3,460	3,979	4,556	2,653	0,923	0,346

Tabla 7. Porcentaje M/P para determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en vacunos de la granja K'ayra, placa II.

	1	2
A	99,911	0,536
B	100,089	2,203
C	-0,060	0,953
D	0,060	5,895
E	1,905	0,595
F	6,311	1,072
G	2,263	1,489
H	1,369	

En las tablas 06 y 07, se observa los resultados obtenidos al hacer el cálculo del % M/P a partir de las densidades ópticas de cada muestra, el cual nos indica la presencia

o ausencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*. En la presente evaluación no se encontró ninguna muestra positiva, ya que los % M/P fueron menores a 110. Asimismo, ninguna de las muestras tuvo valores similares a los controles positivos.

Tabla 8. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en vacunos de la granja K´aya, por categoría.

Categoría	N° muestras	Positivos <i>Brucella abortus</i>	Seroprevalencia%
Ternereros	3	0	0.00 ± 0.00 %
Toretos	3	0	0.00 ± 0.00 %
Toros	3	0	0.00 ± 0.00 %
Ternereras	12	0	0.00 ± 0.00 %
Vaquillas	8	0	0.00 ± 0.00 %
Vaquillonas	11	0	0.00 ± 0.00 %
Vacas	63	0	0.00 ± 0.00 %
Total	103	0	0.00 ± 0.00 %

En las categorías terneros, toretes, toros, terneras, vaquillas, vaquillonas y vacas, no se encontró ningún vacuno seroreactor positivo a *Brucella abortus*, lo cual nos indica que no existe la enfermedad de la brucelosis en los vacunos de la granja K´aya.

7.2. SEROPREVALENCIA DE LA *Brucella abortus* EN VACUNOS DE LA GRANJA K´AYRA, POR SEXOS.

7.2.1. Seroprevalencia de la *Brucella abortus* en vacunos de la granja K´ayra, por Sexo.

Tabla 9. Prevalencia de *Brucella abortus* en vacunos de la granja K´ayra, por Sexo.

Sexo	N° muestras	Positivos <i>Brucella abortus</i>	Seroprevalencia (%)
Hembras	94	0	0.00 ± 0.00 %
Machos	9	0	0.00 ± 0.00 %
Total	103	0	0.00 ± 0.00 %

En la tabla 8, se puede observar que, tanto en vacunos hembras como en machos mayores a 6 meses de edad no se encontró vacunos positivos a anticuerpos contra *Brucella abortus*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, de 103 vacunos evaluados, no se encontró ningún vacuno positivo, por lo tanto, la prevalencia de *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K´ayra, por categoría y sexo, fue 0.00%. No se realizó otra prueba confirmatoria, ya que la prueba ELISA es una prueba robusta con una especificidad menor y una sensibilidad superior a la prueba de Fijación de complemento (CFT), por lo que se generan pocos falsos negativos (OIE, 2022).

Nuestros resultados son iguales a los reportes realizados en Perú por Vergara, (2022) en la provincia de Huari, región Ancash; Salazar, (2019) en la provincia de Lima;

Maluscan, (2019) en la provincia de Rioja, departamento de San Martín; y Reyes et al., (2017) en la provincia de Oxapampa, región Pasco; los cuatro autores realizaron la evaluación por el método de Rosa de Bengala y encontraron una prevalencia de 0.00%. Los reportes realizados por Bardales, (2017) en la cuenca de Maluscan y Chonta, región Cajamarca; y Zavala et al., (2011) en el distrito de Pozuzo, región Huánuco, mediante la prueba de campo de Rosa de Bengala y Fijación de complemento, como prueba confirmatoria definitiva; evidencian prevalencias de 0.13 % y 0.02% respectivamente. Asimismo, Meza, (2010) en la provincia de Puerto Inca, departamento de Huánuco, por la prueba de Rosa de Bengala encontró una prevalencia de 0.031%. Sus resultados difieren al presente estudio, esto se podría deber al método Rosa de Bengala utilizado por dichos autores, que posee menor especificidad comparado al método ELISA, y por lo tanto, genera mayor número de falsos positivos.

Nuestros resultados difieren con lo reportado por Herrera, (2019), en los distritos de Ancahuasi, Huarcocondo, Cachimayo, Zurite y Anta de la provincia de Anta, Región Cusco, quien encontró por el método de ELISA indirecta una incidencia de 17,86%. Esta diferencia probablemente se deba a que esta zona posee un alto potencial ganadero, razón por la cual el mejoramiento genético ha sido constante y mediante la introducción de vacunos de diversas procedencias, lo cual ha limitado que se realice un control riguroso que evite el ingreso y la diseminación de la enfermedad en los rebaños; también podría estar relacionado al mayor tamaño de muestra con el cual trabajó dicho autor.

Otros estudios llevados a cabo a nivel de los países vecinos reportan prevalencias superiores a lo encontrado en el presente estudio, tal es el caso de Apaza, (2019) en el departamento de Beni-Bolivia, por la prueba de Rosa de Bengala; Mota et al., (2018) en

Caqueta-Bolivia, por ELISA competitivo; Escobar et al., (2017) en Santo Domingo de Tsachilas-Ecuador, por la prueba de ELISA indirecta; y Sanches et al., (2012) en el estado de Hidalgo-México, por el método de ELISA, encontraron prevalencias de 0.53%, 5.81%, 3.34% y 21.2% respectivamente. Sus resultados nos muestran que la enfermedad persiste en los países vecinos, lo cual se debe considerar para los programas de mejoramiento genético que utilizan semen importado procedente de estos países. Por otro lado, Pacheco & Mosquera, (2015) en el estado de Lara-Venezuela, determinaron que el 16% de muestras amplificaron por PCR. Asimismo, Mosquera et al., (2008) en Córdova-Colombia determinaron que el 94,1% de muestras de sangre positivas por prueba del anillo (PAL) y el 47% de las muestras de leche positivas por PAL fueron positivas por PCR. Cevallos et al., (2008) determinaron que, el 17,60% de los vacunos negativos por la prueba de Rosa de Bengala (RB) y el 13,33% de vacunos positivos por RB fueron positivos por PCR. Estos autores utilizaron la técnica de PCR como prueba confirmatoria, mostrándonos que las pruebas de campo nos pueden dar falsos negativos y que es necesario realizar la confirmación con pruebas muy específicas en hatos donde se encuentre seropositivos.

Los resultados encontrados podrían ser un indicador de que se está realizando un adecuado control de la enfermedad en nuestro país, particularmente en la granja K'ayra, esto también se puede atribuir a que en dicha granja se aplica la reproducción por medio de la inseminación artificial con pajillas de origen conocido y no se compran vacunos para pie de cría de otros hatos.

VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

8.1. CONCLUSIONES

- No existe anticuerpos contra *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K´ayra, por categoría.
- No existe anticuerpos contra *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K´ayra, por sexo.

8.2. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas de campo como Rosa de Bengala, como prueba tamiz al inicio de la campaña. En caso de encontrar reactores positivos confirmar con las pruebas de ELISA, Fijación de complemento o PCR, con la finalidad de contribuir con la vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina e identificar casos asintomáticos o la posibilidad de algún brote.
- Realizar pruebas serológicas o moleculares para la detección de otras enfermedades que estén asociadas al aborto en vacunos de la granja K´ayra, con la finalidad de identificar la enfermedad que está ocasionando este tipo de problemas reproductivos.
- Implementar un plan de bioseguridad y prevención de enfermedades en la granja K´ayra.

BIBLIOGRAFIA

- Abyntek. (2019). *Tipos de ELISAS ¿Conoces las diferencias?*
<https://www.Abyntek.Com/Tipos-de-Elisa/>.
- Acha, Pedro N. & Szyfres, B. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. *Organizacion Panamericana de La Salud.*, 28–55.
<https://doi.org/10.1590/s0036-46652004000500016>
- Al-Mariri, A., Tibor, A., Mertens, P., De Bolle, X., Michel, P., Godfroid, J., Walravens, K., & Letesson, J. (2001). Induction of immune response in BALB/c mice with a DNA vaccine encoding bacterioferritin or P39 of *Brucella* spp. *Infect Immun*, 69, 6264–6270.
- Alba S., J. (2021). *Brucelosis bovina en la cuenca lechera del distrito 9 de Cochabamba*. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Mayor de San Simon.
- Alvarez H., N. E., Díaz F., M., & Ortiz R., M. (2015). Brucelosis, una zoonosis frecuente N.E. *Medicina e Investigación*, 3(2), 129–133.
- Andesson, C., Vasconcelos, N., Sievertzon, M., Haddad, D., Liljeqvist, S., Berglund, P., Liljestrom, P., Ahlborg, N., Stahl, S., & Berzins, K. (2001). Comparative immunization study using RNA and DNA constructs encoding a part of the *Plasmodium falciparum* antigen Pf332. *Scand J Immunol*, 54, 117–124.
- Apaza H., P. Q. (2019). *Prevalencia de Brucelosis en bovinos lecheros en la localidad de Yucumo-Municipio de San Borja del departamento de Beni- Bolivia*. Universidad Mayor de San Andres.
- Bardales S., M. A. (2017). *Prevalencia de brucelosis bovina en las cuencas Mashcon y Chonta-Cajamarca*, 2016.

[http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1111/TESIS
MELINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1111/TESIS_COMPLETA_MELINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Benitez G., M. J. (2013). *Diagnostico de Brucelosis (Brucella) bovina (bovidos) mediante antigen rapid B. Brucella AB. test kit en vacas lecheras del camal municipal del canton ambato de la provincia de tungurahua.*
- Blood, D., Henderson, J., & Radostis, O. (1985). *Enfermedades Causadas por Diversas Especies de Brucella* (Medicina Veterinaria Interamericana. México (ed.); Unknown Ed). https://doi.org/10.20595/jjbf.19.0_3
- Castro, H. A. ., González, S. R. ., & Prat, M. I. (2005). Brucelosis: una revision practica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamerica*, 39(2), 203–216. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53539208>
- Cevallos F., O. F., Motte, E., Cedeño, V., Carranza P., M. S., Canchignia M., H. F., & Saucedo A., S. G. (2008). Implementación De La Pcr (Reacción En Cadena De La Polimerasa) Para El Diagnóstico De La Brucelosis De Bovinos En El Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 1(1), 31. <https://doi.org/10.18779/cyt.v1i1.99>
- Corbeil, L., Blau, K., Inzana, T., Nielsen, K., Jacobson, R., Corbeil, R., & Winter, A. (1988). Killing of *Brucella abortus* by bovine serum. *Infect Immun*, 56, 3251–3261.
- Cordova I., Alejandro; Iglesias, Adrian E.; Espinosa C., Roman; Guerra Liera, Juan E.; Huerta C., Ruben; Mosqueda, Lourdes; Gomez V., Armando; Cancino A., Gerardo; Mendez H., William; Olivares P., Jaime; Velazquez, Valente; Snaches, P. (2017). Importancia de la Brucelosis Bovina y consecuencias economicas para el ganadero. *Sitio Argentino de Produccion Animal.*, 1–5.
- Dias, M. (2003). Manual de Enfermedades Infecciosas en el Ganado Bovino de la Zona

Central del Litoral Ecuatoriano. *INEAP. Los Ríos-Ecuador.*

Donnelly, J., Ulmer, J., Shiver, J., & Liu, M. (1997). DNA vaccines. *Annu Rev Immunol* 15, 15, 617–648.

Escobar C., S. G., Romero S., E. J., & Gualpa M., F. O. (2017). Geo-Referenciación de la Prevalencia de Brucelosis (*Brucella Abortus*) en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. *Espam Ciencia*, 8(2), 59–66.

Estein, S. M. (2006). Brucelosis: Inmunidad y vacunación (revisión bibliográfica). *Revista Electronica de Veterinaria REDVET*, VII(5), 1–25.

Ficht T. (2003). Intracellular survival of brucella: defining the link with persistence. *Vet Microbiol*, 92, 213–223.

Fleaton, M., Sheahan, B., Gould, E., Atkins, G., & Liljestrom, P. (1999). Recombinant Semliki Forest virus particles encoding the prME or NS1 proteins of louping ill virus protect mice from lethal challenge. *J Gen Virol*, 80, 1189–1198.

Gallastegui, C.; Bernardez, B.; Reguera, A.; Davila, C. y Leboreiro, B. (n.d.). Inmunología. In *Farmacia Hospitalaria* (pp. 1078–1080).

Garry L., A. (1999). Brucelosis bovina: Control, prevención y perspectivas en Tamaulipas. *Memoria del XVII día del ganadero*, Vol(9), 2-15.

Guerrero, A. (1996). “Producción Bovina: Evaluación Reproductiva.” In *FESC-C4 UNAM*.

Hausler, W., & Koontz, F. (1974). *Manual of Clinical Microbiology* (A. S. of Microbiology (ed.); 2nd ed.Len). Washington, D. C. Pgs.

Herrera L., J. R. (2019). *Incidencia de la brucelosis en vacunos de la Pampa de Anta-Cusco*. Escuela Profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

- IDEXX. (2022a). *Brucellosis Antibody Test Kit Kit* (pp. 1–24).
- IDEXX. (2022b). *IDEXX Brucellosis Serum-Sensibilidad y Especificidad*. (pp. 1–3).
- Ilarmon, B., Adams, L., & Frey, M. (1988). Survival of rough and smooth strains of *Brucella abortus* in bovine mammary gland macrophages. In *Am J Vet Res* (Vol. 49).
- Ko, J., & Splitter, G. (2003). Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. *Clin Microbiol Rev* 16, 65–78.
- Kurar, E., & Splitter, G. (1997). *Nucleic acid vaccination of Brucella abortus ribosomal L7/L12 gene elicits immune response*. 15, 1851–1857.
- Lopez M., A. (2006). *Brucella*. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 48(2), 146–153.
- Lowa State University. (2009). *Brucellosis bovina: Brucella abortus*. *The Center for Food Security & Public Health*, 1–6.
- Margini, R. (2005). Nueva vacuna contra la brucelosis. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 40(1), 83–88.
- Maslucán G., J. (2019). *Diagnóstico de la prevalencia de Brucelosis bovina en los hatos ganaderos mediante la prueba serológica (Rosa de bengala) en el distrito de Pardo Miguel - Naranjos*. file:///C:/Users/ASUS/Downloads/bacteria brucela abortus (2).pdf.
- Meador, V., & Deyoe, B. (1989). Intracellular Localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. *Vet Pathol*, 513–515.
- Meza C., A., Morales C., S., Ara G., M., Manchego S., A., Calle, E., S., & Angulo J., C. (2010). Seroprevalencia De Brucelosis Bovina En El Distrito De Puerto Inca , Huánuco. *Rev Inv Vet Perú*, 2(2), 223–226.

- MINAGRI. (2017). *Plan Nacional de Desarrollo Ganadero 2017-2027* (p. 60).
- Moreno, E., & Gorvel j., P. (2004). *Invasion, intracelular trafficking and replicación of Brucella organisms in professional and non professional phagocytes*. (I. L.-G. & I. M. (Eds.) (ed.)). *Brucella Molecular and Cellular Biology*. Norfolk: Horizon Bioscience.
- Moreno, Edgardo, & Moriyón, I. (2002). *Brucella melitensis: A nasty bug with hidden credentials for virulence*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(1), 1–3. <https://doi.org/10.1073/pnas.022622699>
- Motta D., P. A., Herrera V., W., Londoño, M., Rojas V., E. P., & Rivera C., L. G. (2018). Prevalencia de brucelosis (*Brucella* spp) en bovinos del municipio de San Vicente de Caguán, Caqueta, Colombia. *Veterinaria y Zootecnia*, 12(2), 1–9. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2018.12.2.1>
- Muñoz, Á., & Morente, M. M. (2009). Obtención, procesado y almacenamiento de muestras de suero. *Red Biobancos-Instituto de Salud Carlos III.*, 12. http://redbiobancos.es/Pages/Docs/PNT_Suero.pdf
- OIE. (2012). *Brucelosis Bovina. Manual de La OIE Sobre Animales Terrestres*, 1–39.
- OIE. (2018). *Brucelosis (Brucella abortus, B. melitensis y B. suis) (Infección por B. abortus, B. melitensis y B. suis). Manual Terrestre de La OIE*, 1–48.
- OIE. (2022). *Brucelosis (Infección por B. abortus, B. melitensis y B. Suis). Manual Terrestre de La OIE*, 1–52.
- Oliveira, S., Soeurt, N., & Splitter, G. (2002). Molecular and cellular interactions between *Brucella abortus* antigens and host immune responses. *Vet Microbiol*, 90, 417–424.
- Olsen, S. (2000). Responses of adult cattle to vaccination with a reduced dose of *Brucella abortus* strain RB51. *Res Vet Sci*, 69, 135–140.

- Oñate, A., Cespedes, S., Cabrera, A., Rivers, R., Gonzales, A., Muñoz, C., Folch, H., & Andrews, E. (2003). A DNA vaccine encoding Cu/Zn superoxide dismutase of *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice. *Infect Immun*, *71*, 4857–4861.
- Pacheco, N., & Mosquera, O. (2015). Detección de *Brucella* sp. por PCR en sangre de bovinos. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, *20*(2), 26–34. <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/2530int2530er2530no/articulos/documasp/~zsgmdejw.pdf>
- Pasquali, P., Adone, R., Gasbarre, L., Pistoia, C., & Ciuchini, F. (2001). Mouse cytokine profiles associated with *Brucella abortus* RB51 vaccination or *B. abortus* 2308 infection. *Infect Immun*, *69*, 6541–6544.
- Pita F., S; Díaz P., S & Valdés C., F. (2004). Medida de frecuencia de enfermedad. *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística*, 1–6.
- Porte, F., Naroeni, A., Ouahrani B., S., & Liautard J, P. (2003). Role of the *Brucella suis* lipopolysaccharide O antigen in phagosomal genesis and in inhibition of phagosome-lysosome fusion in murine macrophages. *Infect Immun*, *71*(3), 1481–1490.
- Reyes R., Antoinette E.; Samamè B., Hugo A.; Ceino G., F. E. (2017). Presencia de Brucelosis Bovina en la provincia de Oxapampa, departamento de Cerro de Pasco, Perú. *Biotempo (Lima)*, *14*(2), 97–102.
- Rios Y., Jose M.; Mercadillo P., Patricia; Yuil D-R., Emma; Rios C., M. (2012). ELISA y sus aplicaciones en dermatología. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, *10*(3), 212–222.
- Rivas-Solano, O. (2014). *Brucella abortus*: patogénesis y regulación génica de la

- virulencia *Brucella abortus*: pathogenicity and gene regulation of virulence. *Tecnología En Marcha*, 28(2), 61–73. <https://n9.cl/80bkt>
- Rivers, R., Andrews, E., Gonzalez-Smith, A., Donoso, G., & Onate, A. (2006). *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en acidos nucleicos. *Archivos De Medicina Veterinaria*, 38(1), 7–18.
- Rodriguez, A., Orduña, A., Ariza, X., Moriyon, I., Diaz, R., Blasco, J., Almaraz, A., Martinez, F., Ruiz, C., & Abad, R. (2001). *Manual de Brucelosis* (E. Ed. Junta de Castilla y León. Copyright. Zamora (ed.)).
- Rodriguez R., M. A. (2004). Utilizacion de tecnicas geneticas(PCR Y PCR cuantitativo en tiempo real) e inmunologicas(ELISA), para la deteccion y cuantificacion de diferentes especies animales. *Univresidad Complutense de Madrid.*, 37.
- Roop M., M. L., Gaines J., M., Anderson E., S., Caswell C., C., & Martin D., W. (2009). Survival of the fittest: how *Brucella* strains adapt to their intracellular niche in the host. *Med Microbiol Immunol*, 198, 221–238.
- Salazar A., J. (2019). *Prevalencia serologica de brucelosis bovina, mediante la prueba rosa de bengala, en el Distrito de Puente Piedra Provincia de Lima - 2019.*
- Sánchez-castilleja Y.; Rodriguez J.; Pedroso M.; Cuello S. (2012). Simultaneidad serológica de *Neospora caninum* con *Brucella abortus* y los virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en bovinos pertenecientes al Estado de
- SENASA. (2014). *Boletín Epidemiológico* (pp. 1–9).
- SENASA. (2019). *Reporte epidemiologico* (pp. 1).
- SENASA. (2022). *Reporte epidemiologico semanal* (pp. 1).
- Vega L., C. A., Ariza A., R., & Rodríguez W., F. L. (2008). *Brucelosis. Una infección*

- vigente. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 6(4), 158–165.
- Vega R., G. B. (2009a). Anticuerpos. *Rev Fac Med UNAM.*, 136–138.
- Vega R., G. B. (2009b). Antígenos e inmunógenos. *Rev Fac Med UNAM.*, 52(1), 41–42.
- Velikovskiy, C., Cassataro, J., Giambartolomei, G., Goldbaum, F., Estein, S., Bowden, R., Bruno, L., Ffossati, C., & Spitz, M. (2002). A DNA vaccine encoding lumazine synthase from *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice. *Infect Immun*, 70, 2507–2011.
- Vemulapalli, R., He, Y., Buccolo, L., Boyle, S., Sriranganathan, N., & Schurig, G. (2000). Complementation of *Brucella abortus* RB51 with a functional *wboA* gene result in O-antigen synthesis and enhanced vaccine efficacy but no change rough phenotype and attenuation. *Immun, Infect*, 68, 3927–3932.
- Vemulapalli R., S., Cravero, S., Calvert, C., Toth, T., Sriranganathan, N., Boyle, S., & Rosseti, O. (2000). Characterization of specific immune responses of mice inoculated with recombinant vaccinia virus expressing an 18-kilodalton outer membrane protein of *Brucella abortus*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 7, 114–118.
- Vergara E., K. A. (2022). *Evaluación de la brucelosis bovina en cinco comunidades del distrito de Huari – Áncash*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Zambrano A., M. D. ., Pérez R., M., & ;Rodríguez V., X. (2016). Brucelosis Bovina en la Provincia Manabí, Ecuador. Estudio de los Factores de Riesgo. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 27(3), 607.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v27n3/a22v27n3.pdf>
- Zavala D., I., Morales C., S., Huamán U., H., & Angulo J., C. (2011). Presencia de brucelosis bovina en el distrito de Codo del Pozuzo, Huánuco. *Revista de*

Investigaciones Veterinarias Del Peru, 22(1), 72–75.

ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para determinar la prevalencia *Brucella abortus* en vacunos de la granja K'ayra.

$$P = \frac{0}{103} \times 100$$

$$P = 0.00\%$$

Cálculo de intervalo de confianza:

$$p \pm z \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{0.00 \times 100}{103}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{\frac{0 \times 1}{103}}$$

$$IC \pm 1.96 \sqrt{0.00}$$

$$IC \pm 1.96 \times 0.00$$

$$IC \pm 0.00$$

$$0.00 \pm 0.00\%$$

Anexo 2. Reactivos del Kit IDEXX utilizados en la técnica de ELISA indirecta.



Anexo 3. Organización de materiales consumibles para la prueba de ELISA indirecta.



**Anexo 4. Organización de las muestras de suero antes de realizar la prueba
ELISA, de acuerdo a la plantilla.**



Anexo 5. Registro de datos y resultados de vacunos machos evaluados por ELISA, para detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

N°	N.º Arete	Fecha de Nacimiento	Edad	Sexo	Raza	Categoría	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
							DO	%MP	Diagnóstico
1	1830	31/05/2021	8 meses	Macho	Hibrido	Ternero	0,196	8,131	NEGATIVO
2	1841	05/06/2021	7 meses	Macho	Hibrido	Ternero	0,151	6,311	NEGATIVO
3	1845	25/06/2021	7 meses	Macho	Holstein	Ternero	0,082	2,203	NEGATIVO
4	1820	17/04/2021	8 meses	Macho	Hibrido	Torete	0,081	1,499	NEGATIVO
5	1816	13/03/2021	9 meses	Macho	Hibrido	Torete	0,061	0,346	NEGATIVO
6	1818	28/03/2021	9 meses	Macho	Hibrido	Torete	0,053	-0,115	NEGATIVO
7	1591	05/06/2018	3 años y 6 meses	Macho	Brown Swiss	Toro	0,066	0,634	NEGATIVO
8	1728	18/11/2018	3 años y 1 mes	Macho	Holstein	Toro	0,07	0,865	NEGATIVO
9	1750	29/05/2019	2 años y 7 meses	Macho	Holstein	Toro	0,077	1,905	NEGATIVO

Anexo 6. Registro de datos y resultados de vacunos hembras evaluados por ELISA, para detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

N°	N.º Arete	Fecha de Nacimiento	Edad	Sexo	Raza	Categoría	Estado Productivo	Número total de partos	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	%MP	Diagnóstico
1	1826	01/05/2021	8 meses	Hembra	Holstein	Tenera	-	-	0,064	0,519	NEGATIVO
2	1831	18/06/2021	7 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,068	0,750	NEGATIVO
3	1835	04/07/2021	6 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,061	0,346	NEGATIVO
4	1838	19/07/2021	6 meses	Hembra	Holstein	Tenera	-	-	0,054	-0,058	NEGATIVO
5	1842	07/06/2021	7 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,083	2,263	NEGATIVO
6	1843	18/06/2021	7 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,068	1,369	NEGATIVO
7	1844	20/06/2021	7 meses	Hembra	Holstein	Tenera	-	-	0,054	0,536	NEGATIVO
9	1846	13/07/2021	6 meses	Hembra	Holstein	Tenera	-	-	0,061	0,953	NEGATIVO
10	1847	17/07/2021	6 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,144	5,895	NEGATIVO
11	1848	05/08/2021	6 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,055	0,595	NEGATIVO
12	1849	09/08/2021	6 meses	Hembra	Hibrido	Tenera	-	-	0,063	1,072	NEGATIVO
13	1607	02/02/2021	11 meses	Hembra	Brown Swiss	Vaquilla	-	-	0,069	0,807	NEGATIVO
14	1608	11/03/2021	10 meses	Hembra	Brown Swiss	Vaquilla	-	-	0,087	1,845	NEGATIVO
15	1783	18/08/2020	1 año y 4 meses	Hembra	Hibrido	Vaquilla	-	-	0,08	1,442	NEGATIVO
16	1794	03/12/2020	1 año y 1 meses	Hembra	Hibrido	Vaquilla	-	-	0,066	0,634	NEGATIVO
17	1796	08/12/2020	1 un año y 15 días	Hembra	Holstein	Vaquilla	-	-	0,071	0,923	NEGATIVO
18	1798	10/12/2020	1 año y 1 meses	Hembra	Holstein	Vaquilla	-	-	0,06	0,288	NEGATIVO
19	1813	02/03/2021	10 meses	Hembra	Holstein	Vaquilla	-	-	0,154	5,709	NEGATIVO

N°	N.º Arete	Fecha de Nacimiento	Edad	Sexo	Raza	Categoría	Estado Productivo	Número total de partos	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	%MP	Diagnóstico
20	1814	04/03/2021	10 meses	Hembra	Holstein	Vaquilla	-	-	0,082	1,557	NEGATIVO
21	1733	28/02/2019	2 años y 10 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,06	0,288	NEGATIVO
22	1735	03/03/2019	2 años y 9 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,134	4,556	NEGATIVO
23	1739	12/03/2019	2 años y 9 meses	Hembra	Hibrido	Vaquillona	Preñada	-	0,06	0,288	NEGATIVO
24	1742	22/03/2019	2 años y 9 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,054	-0,058	NEGATIVO
25	1745	30/03/2019	2 años y 9 meses	Hembra	Brown Swiss	Vaquillona	Preñada	-	0,063	0,461	NEGATIVO
26	1757	18/11/2019	2 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,062	0,404	NEGATIVO
27	1760	22/11/2019	2 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,067	0,692	NEGATIVO
28	1762	29/11/2019	2 años y 1 meses	Hembra	Hibrido	Vaquillona	Preñada	-	0,083	1,615	NEGATIVO
29	1763	29/11/2019	2 años y 1 meses	Hembra	Hibrido	Vaquillona	Preñada	-	0,068	0,750	NEGATIVO
30	1776	10/06/2020	1 año y 7 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,101	2,653	NEGATIVO
31	1781	02/08/2020	1 año y 5 meses	Hembra	Holstein	Vaquillona	Preñada	-	0,148	5,363	NEGATIVO
32	1512	06/08/2012	9 años y 4 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	4	0,076	1,211	NEGATIVO
33	1535	13/06/2013	8 años y 6 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	2	0,104	2,826	NEGATIVO
34	1547	12/12/2013	8 años	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,095	2,307	NEGATIVO
35	1558	16/04/2014	7 años y 9 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	2	0,124	3,979	NEGATIVO
36	1561	02/05/2014	7 años y 7 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	4	0,059	0,231	NEGATIVO
37	1569	21/08/2014	7 años 4 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,114	3,403	NEGATIVO
38	1572	19/09/2014	7 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	4	0,07	0,865	NEGATIVO
39	1573	19/09/2014	7 años	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	3	0,124	3,979	NEGATIVO

N°	N.º Arete	Fecha de Nacimiento	Edad	Sexo	Raza	Categoría	Estado Productivo	Número total de partos	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	%MP	Diagnóstico
40	1576	22/10/2014	7 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	3	0,062	0,404	NEGATIVO
41	1583	05/12/2014	7 años	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,079	1,384	NEGATIVO
42	1584	08/12/2014	7 años	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	4	0,086	1,788	NEGATIVO
43	1597	22/03/2015	6 años y 9 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	3	0,075	1,153	NEGATIVO
44	1606	04/09/2015	6 años y 3 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	2	0,054	-0,058	NEGATIVO
45	1610	07/09/2015	6 años y 3 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	3	0,057	0,115	NEGATIVO
46	1625	07/02/2016	5 años y 11 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,146	5,248	NEGATIVO
47	1629	11/03/2016	5 años y 9 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,06	0,288	NEGATIVO
48	1630	21/03/2016	5 años y 9 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	2	0,067	0,692	NEGATIVO
49	1634	26/04/2016	5 años y 8 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,065	0,577	NEGATIVO
50	1637	20/06/2016	5 años y 6 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,06	0,288	NEGATIVO
51	1638	21/06/2016	5 años y 6 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	2	0,092	2,134	NEGATIVO
52	1644	20/10/2016	5 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,104	2,826	NEGATIVO
53	1647	14/11/2016	5 años y 1 mes	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,066	0,634	NEGATIVO
54	1654	15/12/2016	5 años	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	2	0,087	1,845	NEGATIVO
55	1659	23/02/2017	4 años y 10 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	2	0,051	-0,231	NEGATIVO
56	1660	07/03/2017	4 años y 9 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,115	3,460	NEGATIVO
57	1668	09/04/2017	4 años y 8 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,078	1,326	NEGATIVO
58	1682	06/09/2017	4 años y 3 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	2	0,066	0,634	NEGATIVO
59	1698	16/05/2018	3 años 7 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,074	1,096	NEGATIVO

N°	N.º Arete	Fecha de Nacimiento	Edad	Sexo	Raza	Categoría	Estado Productivo	Número total de partos	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	%MP	Diagnóstico
60	1711	05/06/2018	3 años y 6 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,056	0,058	NEGATIVO
61	1714	12/06/2018	3 años y 6 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,064	0,519	NEGATIVO
62	1715	19/09/2018	3 años y 3 meses	Hembra	Holstein	Vaca	Producción	1	0,085	1,730	NEGATIVO
63	1748	11/05/2019	2 años y 1 mes	Hembra	Hibrido	Vaca	Producción	1	0,073	1,038	NEGATIVO
64	1502	07/04/2012	9 años y 8 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	3	0,119	3,691	NEGATIVO
65	1524	27/12/2013	8 años	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	4	0,056	0,058	NEGATIVO
66	1563	01/06/2014	7 años y 6 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	3	0,08	1,442	NEGATIVO
67	1584	31/01/2015	7 años	Hembra	Brown Swiss	Vaca	En seca	2	0,07	0,865	NEGATIVO
68	1590	09/02/2015	6 años y 11 meses	Hembra	Brown Swiss	Vaca	En seca	2	0,127	4,152	NEGATIVO
69	1592	12/02/2015	6 años y 11 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	En seca	2	0,084	1,672	NEGATIVO
70	1593	21/12/2017	4 años	Hembra	Brown Swiss	Vaca	En seca	1	0,062	0,404	NEGATIVO
71	1594	18/03/2015	6 años y 10 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	3	0,183	7,382	NEGATIVO
72	1595	21/03/2015	6 años y 9 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	4	0,154	5,709	NEGATIVO
73	1605	02/09/2015	6 años y 3 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	En seca	1	0,051	-0,231	NEGATIVO
74	1608	07/09/2015	6 años y 4 meses	Hembra	Brown Swiss	Vaca	En seca	1	0,085	1,730	NEGATIVO
75	1609	07/09/2015	6 años y 4 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	3	0,104	2,826	NEGATIVO
76	1615	21/11/2015	6 años y 1 mes	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,086	1,788	NEGATIVO
77	1631	30/03/2016	5 años y 9 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	2	0,117	3,576	NEGATIVO
78	1645	22/10/2016	5 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,126	4,095	NEGATIVO
79	1651	02/12/2016	5 años y 1 mes	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,115	3,460	NEGATIVO

N°	N.º Arete	Fecha de Nacimiento	Edad	Sexo	Raza	Categoría	Estado Productivo	Número total de partos	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	%MP	Diagnóstico
80	1657	17/02/2017	4 años y 10 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,061	0,346	NEGATIVO
81	1659	23/02/2017	4 años y 10 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	2	0,154	5,709	NEGATIVO
82	1683	14/10/2017	4 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,055	0,000	NEGATIVO
83	1691	30/04/2018	3 años y 8 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,078	1,326	NEGATIVO
84	1697	15/05/2018	3 años y 7 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,068	0,750	NEGATIVO
85	1699	18/05/2018	3 años y 7 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	En seca	1	0,109	3,114	NEGATIVO
86	1702	22/05/2018	3 años y 7 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,058	0,173	NEGATIVO
87	1704	23/05/2018	3 años y 7 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	En seca	1	0,124	3,979	NEGATIVO
88	1712	11/06/2018	3 años y 7 meses	Hembra	Hibrido	Vaca	En seca	1	0,074	1,096	NEGATIVO
89	1717	15/10/2018	3 años y 3 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,164	6,286	NEGATIVO
90	1723	02/11/2018	3 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,062	0,404	NEGATIVO
91	1724	02/11/2018	3 años y 2 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,13	4,325	NEGATIVO
92	1731	27/12/2018	3 años	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,065	0,577	NEGATIVO
93	1732	23/02/2019	2 años y 10 meses	Hembra	Holstein	Vaca	En seca	1	0,077	1,269	NEGATIVO
94	1743	23/03/2019	3 años	Hembra	Hibrido	Vaca	En seca	1	0,098	2,480	NEGATIVO