

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS DE *Brucella abortus* EN HATOS DE
VACUNOS LECHEROS DE LAS COMUNIDADES CAMPESINAS DE
JILAYHUA Y TUNGASUCA, PROVINCIA CANAS-CUSCO**

PRESENTADO POR:

Br. DANTE RODRIGO MOLINA CASTRO

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE MEDICO VETERINARIO**

ASEORES:

Dr. M.V.Z. EDGAR ALBERTO VALDEZ
GUTIERREZ

Ing. Zoot. FIORELA GUZMAN FIGUEROA

CUSCO-PERÚ

2024



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor Dr. MVZ. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez
Ing. Zoot. Fiorela Guzmán Figueroa quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: DETECCIÓN DE ANTIQUERPOS DE Brucella abortus EN HATOS DE VACUNOS ZECHEROS DE LAS COMUNIDADES CAMPESINAS DE JILAYHUA Y TUNGASUCHA, PROVINCIA CANAS - CUSCO.

Presentado por: DANTE RODRIGO ROLINA CASTRO DNI N° 70074195 ;

presentado por: DNI N°:

Para optar el título Profesional/Grado Académico de MÉDICO VETERINARIO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 1º del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 06 %.

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 sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	<input checked="" type="checkbox"/>
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación 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 las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 01 de DICIEMBRE de 2025

Firma

Post firma Edgar Alberto Valdez Gutiérrez

Nro. de DNI 01285940

ORCID del Asesor 0000-0002-2966-7605

Firma

Post firma Fiorela Guzmán Figueroa

Nro. de DNI 70991650

ORCID del Asesor 0000-0002-9913-5831

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 272591532937684

TESIS DANTE MOLINA CASTRO-PARA TURNITIN (1).pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::27259:532937684

85 páginas

Fecha de entrega

25 nov 2025, 11:25 a.m. GMT-5

15.577 palabras

85.144 caracteres

Fecha de descarga

25 nov 2025, 1:15 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS DANTE MOLINA CASTRO-PARA TURNITIN (1).pdf

Tamaño del archivo

2.1 MB



Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez
DOCENTE

6% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 15 palabras)

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- | | |
|----|---|
| 6% |  Fuentes de Internet |
| 0% |  Publicaciones |
| 3% |  Trabajos entregados (trabajos del estudiante) |

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

- ▶ **Texto oculto**
1 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.



DEDICATORIA

A Dios.

Por tu infinita bondad y amor, que me han llevado hasta aquí y me han dado la salud para alcanzar mis metas.

A mi padre Luis Molina Millio.

Por su ejemplo de perseverancia que me inspira, por el coraje que demostró para seguir adelante y por su amor.

A mi madre Nancy Castro Cuba.

Gracias por apoyarme siempre, por los consejos, por los valores, por la motivación constante para ser una buena persona, pero sobre todo por el amor.

A mis amigos.

Milliand Huaraya Condori, Julián Chuctaya Sayco y Edgar Huaylla Huayhua, quienes me acompañaron en mi formación profesional y contribuyeron en el logro de este anhelo.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco:

Gracias a mi alma mater, por haberme permitido formarme en sus aulas bajo la dirección de todos mis docentes que forjaron mis conocimientos en mi etapa estudiantil.

Al director de la escuela profesional de Medicina Veterinaria, filial Espinar:

Mg. M.V.Z. Rassiel Macedo Sucari, quien se encuentra en la dirección de nuestra querida escuela Profesional.

A mis docentes:

M.V.Z. Alfredo Valdez Gutiérrez y M.V.Z. Hugo Mamani Quispe. Gracias por sus sabias palabras, sus conocimientos firmes y precisos, mis maestros, les debo todo mi conocimiento, los llevare presente en mi trayectoria profesional donde vaya, las semillas de sus conocimientos germinarán en mi alma, agradecido por su paciencia, por impartir sus conocimientos de manera profesional, por su dedicación, perseverancia y tolerancia.

A mis asesores:

Dr. M.V.Z. Edgar Alberto Valdez Gutierrez, e Ing. Zoot. Fiorela Guzmán Figueroa. Sin ustedes y su paciencia, este trabajo no hubiera sido tan fácil. Son una parte importante de esta historia y sus aportes profesionales fueron importantes para el logro de este objetivo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
INTRODUCCIÓN.....	X
PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN	XII
CAPITULO I	1
1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	1
1.1.1. Objetivo general	1
1.1.2. Objetivos específicos.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	1
CAPITULO II.....	2
MARCO TEÓRICO	2
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	2
2.2. BASES TEORICAS.....	6
2.2.1. Brucelosis Bovina.....	6
2.2.1.1. Sinonimia.....	6
2.2.1.2. Etiología.....	7
2.2.1.3. Características de la brucelosis	7
2.2.1.4. Distribución geográfica.....	8
2.2.1.5. Período de Incubación	8
2.2.1.6. Transmisión.....	8
2.2.1.7. Signos Clínicos	9
2.2.1.8. Susceptibilidad de rebaño.....	10
2.2.1.9. Lesiones.....	10
2.2.1.10. Patogenia.....	11
2.2.1.11. Latencia	12
2.2.1.12. Factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina	12
2.2.1.13. Diagnóstico.....	12
2.2.1.14. Control	15

2.3. BASES CONCEPTUALES	16
2.3.1. Antígeno	16
2.3.2. Anticuerpo	16
2.3.3. Reacción antígeno – anticuerpo.....	16
2.3.4. Prueba ELISA.....	17
2.3.5. Prevalencia.....	20
CAPITULO III.	21
DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	21
3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO.....	21
3.1.1. Ubicación política de los distritos de Túpac Amaru y Yanaoca.....	22
3.1.2. Delimitación Política de los distritos de Túpac Amaru y Yanaoca	22
3.1.3. Datos climáticos de los distritos de Túpac Amaru y Yanaoca	23
3.1.4. Área de investigación	24
3.1.5. Tipo de investigación	24
3.1.6. Tipo de estudio epidemiológico	24
3.2. MATERIALES DE ESTUDIO	24
3.2.1. Población	24
3.2.2. Tamaño de muestra.....	24
3.3. MATERIALES AUXILIARES	25
3.3.1. Equipos	25
3.3.2. Instrumentos	26
3.3.3. Reactivos	26
3.3.4. Materiales consumibles	26
3.3.5. Otros materiales	27
3.3.6. Indumentaria de trabajo	28
3.4. MÉTODO	28
3.4.1. Sensibilización a los productores	28
3.4.2. Toma de muestras.....	28
3.4.3. Obtención del suero.....	29
3.4.4. Metodología de laboratorio.	29

3.4.4.1. Método de ELISA indirecta para detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>	29
3.4.5. Determinación de la prevalencia	33
3.4.6. Determinación del intervalo de confianza	34
CAPITULO IV	35
RESULTADOS Y DISCUSIONES	35
4.1. SEROPREVALENCIA DE LA <i>Brucella abortus</i> EN HATOS DE VACUNOS LECHEROS POR COMUNIDAD.	35
4.2. SEROPREVALENCIA DE LA <i>Brucella abortus</i> EN HATOS DE VACUNOS LECHEROS POR DENTICION	36
CAPITULO V	39
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
5.1. CONCLUSIONES	39
5.2. RECOMENDACIONES.....	39
BIBLIOGRAFIA.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tamaño de muestra por comunidad	25
Tabla 2. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> en vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca.....	35
Tabla 3. Seroprevalencia de <i>Brucella abortus</i> en vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, según dentición.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Fases de la técnica ELISA indirecto.</i>	18
Figura 2. Mapa político de la provincia de Canas – Cusco.	21
Figura 3. Fotografía de la toma de muestras de sangre de vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca.....	49
Figura 4. Muestras de suero sanguíneo descongeladas.	49
Figura 5. Organización de muestras según la plantilla ELISA.....	50
Figura 6. Homogenización de muestras de suero sanguíneo.....	50
Figura 7. Preparación de solución de lavado.	51
Figura 8. Preparación del conjugado diluido.....	51
Figura 9. Reactivos estabilizados a 23°C antes de ser utilizados en el ensayo ELISA.	52
Figura 10. Adición del tampón de dilución a los pocillos de la placa ELISA.	53
Figura 11. Adición de las muestras a los pocillos ELISA.	53
Figura 12. Homogenización de la muestra y el tampón de dilución de los pocillos de la placa ELISA antes de la primera incubación.....	54
Figura 13. Primera incubación de la placa ELISA a 26°C por una hora.	54
Figura 14. Primer lavado de la placa ELISA con 300 µL por 3 veces.	55
Figura 15. Adición de 100 µL de conjugado a todos los pocillos de la placa ELISA.	55

Figura 16. Segundo lavado de la placa ELISA con 300 μ L por 3 veces.	56
Figura 17. Adición de 100 μ L de sustrato TMB a los pocillos de la placa ELISA.	56
Figura 18. Adición de 100 μ L de solución de frenado a los pocillos de la placa ELISA.	57
Figura 19. Lectura de las absorbancias de las muestras por espectrofotometría.	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Población de vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca – Canas.....	46
Anexo 2. Cálculos para determinar tamaño de muestra para la comunidad de Jilayhua.....	47
Anexo 3. Cálculos para determinar tamaño de muestra para la comunidad de Tungasuca.....	48
Anexo 4. Procedimiento de la ejecución de la tesis por el método de ELISA indirecta.....	49
Anexo 5. Fotografía de la placa correspondiente a la comunidad de Jilayhua.	58
Anexo 6. Fotografía de la placa correspondiente a la comunidad de Tungasuca.	58
Anexo 7. Densidades ópticas de las muestras evaluadas, comunidad de Jilayhua.	59
Anexo 8. Densidades ópticas de las muestras evaluadas, comunidad de Tungasuca.	59
Anexo 9. Muestra porcentual (%M/P) de las muestras evaluadas, comunidad de Jilayhua.....	60
Anexo 10. Muestra porcentual (%M/P) de las muestras evaluadas, Comunidad de Tungasuca.....	60
Anexo 11. Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> correspondiente a vacunos de la comunidad de Jilayhua.....	61
Anexo 12. Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> correspondiente a vacunos de la comunidad de Tungasuca.....	66

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia de la *Brucella abortus* en hatos de vacunos lecheros de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, provincia Canas-Cusco. Se muestraron 127 muestras de sangre de vacunos mayores a seis meses y según dentición, se obtuvieron dichas muestras realizando punción a la vena coccígea en tubos vacutainer de 5 ml, posteriormente se centrifugaron a 1500 RPM por 10 minutos llegando a obtener los sueros, La prueba se realizó mediante el método de ELISA indirecta, trabajo realizado en el laboratorio de Sanidad Animal “M.V. Atilio Pacheco Pacheco” de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia-UNSAAC. No se encontró animales seropositivos a *Brucella abortus* en los vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca. Mediante el software Gen5, Se concluye que en los vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca no existen anticuerpos contra la *Brucella abortus*. Siendo la prevalencia de 0.00%.

Palabras clave: Anticuerpos, *Brucella abortus*, ELISA, Vacunos.

Abstract

The objective of this study was to determine the seroprevalence of *Brucella abortus* in dairy cattle herds from the communities of Jilayhua and Tungasuca, Canas-Cusco province. 127 blood samples were sampled from cattle older than six months. These samples were obtained by puncture of the coccygeal vein in 5 ml vacutainer tubes. They were subsequently centrifuged at 1500 RPM for 10 minutes, obtaining the sera. The test was performed using the indirect ELISA method, in the Animal Health laboratory “M.V. Atilio Pacheco Pacheco” from the Professional School of Zootechnics, Faculty of Agronomy and Zootechnics-UNSAAC. No animals were found seropositive for *Brucella abortus* in the cattle from the communities of Jilayhua and Tungasuca and according to dentition. Using the Gen5 software, it is concluded that in the cattle from the Jilayhua and Tungasuca communities there are no antibodies against *Brucella abortus*. The prevalence being 0.00%.

Keywords: Antibodies, *Brucella abortus*, ELISA, Cattle.

INTRODUCCIÓN

La región del Cusco cuenta con una población de 82 653 cabezas de ganado Vacuno (León, 2020). La provincia de Canas, cuenta con una población de 19 018 cabezas de ganado vacuno (INEI, 2012) En esta provincia, los distritos de Yanaoca y Túpac Amaru, vienen impulsando la crianza de vacunos de leche, contando así con una población de 2930 y 1228 cabezas de ganado vacuno respectivamente (INEI, 2012). Siendo esta actividad el sustento de muchas familias, contribuyendo así en la seguridad alimentaria de los mismos.

La ganadería lechera de estos distritos de la provincia de Canas, se ve afectada por problemas reproductivos, como: infertilidad, muerte embrionaria, abortos, malformaciones congénitas, neonatos nacidos débiles, los cuales son prevalentes en el ganado bovino ocasionando serias pérdidas económicas (Houe, 1995; McGowan & Kirkland, 1995). Estos problemas reproductivos en el ganado bovino tienen múltiples etiologías; los agentes infecciosos como la bacteria *Brucella sp.*, están ampliamente distribuidos en la población bovina (Brownlie *et al.*, 1998; Wounda *et al.*, 1999).

La brucellosis afecta a varias especies de mamíferos, incluida el hombre, aunque su principal blanco es el ganados bovino, equino, porcino, ovino y caprino, es considerada una enfermedad ocupacional de personas que trabajan con animales infectadas, es decir, particularmente granjeros, veterinarios y trabajadores de mataderos (Álvarez *et al.*, 2015). El diagnóstico se basa en el aislamiento de *Brucella* a partir de los abortos, de las secreciones de la ubre y de los tejidos tomados en el examen post-mortem, se puede realizar un diagnóstico preliminar determinando la respuesta específica celular o humoral frente a los antígenos de *Brucella* (OIE, 2012).

Este patógeno representa una amenaza para la producción lechera, en vista de que ocasionan abortos. Por ello el presente estudio tuvo como objetivo determinar la Seroprevalencia de la *Brucella abortus* en hatos de vacunos lecheros de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, según dentición.

PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

Existe una preocupación por parte de los productores lecheros, en lo que se refiere al estado sanitario de sus animales, ya que ellos perciben problemas reproductivos como la presencia de abortos y ausencia de celo o celos silenciosos, los cuales podrían estar asociados con la presencia de enfermedades reproductivas como es brucellosis bovina, ocasionada por la bacteria *Brucella abortus*. Esta enfermedad causa abortos y mortinatos; los abortos se suelen producir durante el segundo tercio de gestación (Lowa State University, 2009). *La Brucella abortus* posee un lipopolisacárido (LPS) fuertemente inmunodominante, el que junto con la capacidad de sobrevivir en el interior de células fagocíticas constituyen sus principales factores de virulencia (Rivers *et al.*, 2006), también se caracteriza por ser una bacteria intracelular facultativa, lo que al ser fagocitada por polimorfonucleares y macrófagos le permite sobrevivir por largos períodos evadiendo la respuesta inmunitaria, permitiéndole de ese modo su propagación por vía linfática o sanguínea (Garrido & Garrido, 2002). Problema que ocasiona esta enfermedad es que un animal infectado es un diseminador y transmite la enfermedad agravando así la situación en el rancho. Por lo que todo animal infectado (positivo) debe de ser sacrificado independientemente de su condición o valor genético (Garry , 1999). Por las consideraciones antes mencionadas representa un riesgo para las vacas productoras de leche, repercutiendo directamente en la rentabilidad de los productores de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca. En el caso de que existieran animales positivos a *Brucella abortus* representarían un riesgo contra la salud pública, debido a que esta bacteria se transmite mediante la leche, producto que es consumido como tal o es utilizado para la elaboración de queso.

CAPITULO I.

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1.1. Objetivo general

Determinar la Seroprevalencia de la *Brucella abortus* en hatos de vacunos lecheros de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, provincia Canas-Cusco.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia de la *Brucella abortus* en hatos de vacunos lecheros por comunidad.
- Determinar la seroprevalencia de la *Brucella abortus* en hatos de vacunos lecheros según dentición.

1.2. JUSTIFICACIÓN

La brucellosis bovina es una enfermedad zoonótica, con una gran importancia en salud pública y también en el sector ganadero por las pérdidas económicas directas que ocasiona y sobre todo por las restricciones comerciales tanto a los animales infectados como a sus productos (Cárdenes, 2018).

Las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, de la provincia de Canas, vienen potenciando su producción de ganado vacuno lechero en estos últimos años, debido a que cuentan con plantas procesadora de derivados lácteos, que se encuentran ubicados en su jurisdicción, las mismas que acopian la materia prima (leche fresca) para la elaboración de derivados como el queso. Esta planta procesadora de derivados lácteos va mejorando sus procesos hacia una producción eficiente y de calidad, para lo cual requiere de una materia prima de calidad y sin presencia de agentes patógenos que pueden ocasionar zoonosis, también es importante mencionar que, en este último año, SENASA viene exigiendo la certificación de hatos libres

de Brucelosis y Tuberculosis, esto en vista de que dichos productores proveen un producto (leche fresca) que, al ser procesado, sale al mercado para consumo humano. Por lo cual debe ser un producto inocuo, libre de microorganismos que ocasione zoonosis. Para lograr esta certificación los productores deberán contar con vacunos libres de brucelosis.

En la Zona sur de nuestro país existen escasos estudios sobre la brucelosis bovina, que haga constar la presencia del agente causal de esta enfermedad. Sin embargo, ya se tiene un reporte por parte del (SENASA, 2022) de un caso positivo a brucelosis bovina en el distrito de Coporaque, provincia de Espinar, departamento de Cusco. Estas razones nos conllevan a realizar este estudio, que contribuirá en el conocimiento de la presencia de la enfermedad en los hatos lecheros de dichas jurisdicciones y servirá para la toma de decisiones de cada productor. De esa manera se contribuirá en la vigilancia epidemiológica de la enfermedad.

CAPITULO II.

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Antecedentes a nivel regional

Con el objetivo de cuantificar los anticuerpos contra la *Brucella abortus* en los vacunos de la granja K'ayra, distrito de San Jerónimo-Cusco, colectó 103 muestras de sangre, las cuales son el total de vacas mayores a 6 meses, y lo analizó por el método de ELISA indirecta, determinó una prevalencia de 0.00% (0/103) de *Brucella abortus* en vacunos de la granja K'ayra (Sivana, 2023).

Por otro lado, reportó un caso positivo a brucellosis bovina en el distrito de Coporaque, provincia de Espinar, departamento de Cusco, analizados con la prueba Rosa de Bengala y ELISA indirecta (prueba tamiz) (SENASA, 2022).

Finalmente, en el estudio realizado en la Pampa de Anta-Cusco, con el objetivo determinar incidencia de la brucellosis en vacunos. Trabajó con 336 muestras a través de la prueba de ELISA indirecta y evidencia que en los distritos de Anta y Zurite la incidencia fue de 0.00 % y en los distritos de Ancahuasi, Cachimayo y Huaracando 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% (Herrera, 2019).

Antecedentes a nivel nacional

Mediante la prueba confirmatorio de ELISA Competitivo en el laboratorio oficial de SENASA, reportó casos positivos de Brucellosis bovina en Carhuaz-Ancash, Melgar-Puno, San Miguel-Cajamarca, Encañada-Cajamarca, Cajamarca-Cajamarca, Puerto Inca-Huánuco,

Sullana-Piura, Bellavista-San Martín, los mismos que correspondieron a 1, 2, 1, 2, 2, 3, 1 y 10 casos positivos respectivamente (SENASA, 2023).

Asimismo, reportaron un caso positivo a brucelosis bovina en el distrito de Encañada, provincia de Cajamarca, departamento de Cajamarca, analizados con la prueba de Rosa de Bengala y ELISA indirecta como prueba tamiz y, si hay reactores, se ejecuta un segundo análisis confirmatorio con ELISA Competitivo en el laboratorio oficial de (SENASA, 2022).

Por otro lado, en el distrito de Huari, provincia de Huari, en la región Ancash, con 329 bovinos mayores a cuatro meses de edad, entre hembras y machos, con el objetivo de conocer la situación de la brucelosis bovina en las comunidades participantes, recolectó muestras de sangre y proceso mediante la prueba de Rosa de Bengala y no detectó ninguna muestra fue positiva a la prueba (0%, IC 95% de 0% - 1%) (Vergara, 2022).

En el distrito de Puente Piedra provincia de Lima, realizó un muestreo de sangre al azar estratificado 351 animales, de 16 hatos ganaderos. Las muestras fueron analizadas por la prueba serológica Rosa de Bengala. Sus resultados indican que ningún vacuno fue seropositivo a Brucelosis bovina; concluyendo que no hay presencia de Brucelosis Bovina, siendo su prevalencia igual a 0 % (Salazar, 2019).

En los hatos ganaderos, del distrito de Pardo Miguel, provincia de Rioja, departamento de San Martín, evaluó sangre de 135 bovinos, evidenciando la no existencia de Brucelosis bovina en el distrito de Pardo Miguel y que no está relacionado con la edad, raza, sexo, etapa reproductiva y habitad (Maslucán, 2019).

En otro estudio realizado en vacunos de las cuencas Mashcón y Chonta, con el objetivo de determinar la prevalencia de brucelosis bovina, el diagnosticó fue mediante la prueba de Rosa de Bengala y fijación de complemento en laboratorio de SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) Baños del Inca, trabajó con 766 muestras sanguíneas de

bovinos, determinó la prevalencia de 0.13% y mediante la prueba de Z de proporciones se respalda para afirmar que la prevalencia es menor a 01% (Bardales, 2017).

Por otro lado, en los distritos de Oxapampa, Chontabamba y Huancabamba de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco, Perú, utilizó el método de Rosa de Bengala para la detección de anticuerpos contra *Brucella sp*, de 441 animales muestreados ninguno presentó anticuerpos aglutinantes, indicando la ausencia de esta enfermedad (Reyes *et al.*, 2017).

Finalmente, se tiene un reporte acumulado de 15 casos positivos de brucelosis bovina en todo el año a nivel de todo el Perú (SENASA, 2014).

Antecedentes a nivel internacional

En un estudio realizado en el departamento de Cochabamba-Bolivia 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*, y por el método de ELISA competitivo identificó 978 casos positivos a anticuerpos de *Brucella abortus* (Alba, 2021).

En otra investigación realizada en la Localidad de Yucumo, Municipio de San Borja del departamento de Beni – Bolivia. Trabajó con 188 muestras sanguíneas de bovinos lecheros, mediante la prueba de Rosa de Bengala, se obtuvo 01 vacuno positivo a brucelosis, que representa el 0.53% de la población total en estudio (Apaza, 2019).

Por otra parte, realizaron una investigación en bovinos del municipio de San Vicente del Caguán, Caquetá, Colombia, trabajaron con sueros de 198 animales, mediante el ensayo de Rosa de Bengala como prueba tamiz y confirmaron casos positivos mediante ELISA competitivo, lograron una tasa de Seroprevalencia de brucelosis del 0.00 % en machos y del 5,81% en hembras, obteniendo un 40% de prevalencia a nivel de predios (Motta *et al.*, 2018).

También en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, muestrearon a 4903 bovinos, los que evaluaron mediante las pruebas de aglutinación rápida en placa de Rosa de Bengala y ELISA indirecta, se determinó a 332 (6,77%) positivos por Rosa de Bengala y 164 (3,34%) por el método de ELISA indirecta, de estos beneficiaron a 282 (5,75%) animales positivos (Escobar *et al.*, 2017).

Finalmente, en establos bovinos lecheros del estado de Hidalgo, México, tomó al azar 500 muestras sanguíneas de vacas lecheras, raza Holstein-Freisan en producción, para su análisis por la técnica inmunoenzimática ELISA, donde determinó la coexistencia serológica de *Neospora caninum* y *Brucella abortus* (técnica de aglutinación en tarjeta y rivanol) resultó en 21.2% (106/500) (Sánchez *et al.*, 2012).

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1. Brucelosis Bovina

Conocida como una enfermedad infecciosa crónica del ganado, causada por la bacteria *Brucella abortus*, y su negativo impacto en la producción ganadera proviene de la infección en vacas de todas las edades durante el segundo tercio de la gestación, produciendo aborto espontáneo (Robles & Martínez, 2021).

2.2.1.1. Sinonimia

Melitoconia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre Mediterránea (en humanos), aborto infeccioso, aborto séptico, aborto epizoótico (en animales), síndrome de Bang (bovinos) (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.2. Etiología

En los ganados vacunos, bisontes y búfalos, el principal agente causante de la brucellosis es *Brucella abortus*, es un cocobacilo gramnegativo, este microrganismo es un patógeno intracelular facultativo, se han informado nueve biovaries (1 a 9) de *B. abortus* (Lova State University, 2009). Brucella es un pequeño bacilo “Gram negativo” con un diámetro de 0,5 a 0,7 m y una longitud de 0,5 a 1,5 m, principalmente en forma de “cocobacilos” (Álvarez *et al.*, 2015). Son inmóviles, estrictamente aeróbicos, de crecimiento lento y no se encapsulan ni forman esporas, tienen metabolismo oxidativo, utilizan nitratos como acceptor de electrones. Los bacilos son catalasa y oxidasa positivos, no afectan la gelatina ni modifican la leche y, por lo general, no fermentan el azúcar (Castro *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2015). En el proceso del genoma de algunas especies de Brucella se ha observado la eliminación de genes que codifican diversos factores de virulencia, como cápsulas, pili y toxinas. Sin embargo, dichos estudios han demostrado que tienen genes que codifican componentes de flagelina (Cutler, 2005). Su genoma consta de 2 cromosomas circulares y no contiene plásmidos (Álvarez *et al.*, 2015).

2.2.1.3. Características de la brucellosis

Brucella abortus tiene tropismo por el sistema reproductivo bovino (Songer & Post., 2005). En la placenta de vacuno hembra, la replicación bacteriana intracelular destruye las células que forman la capa externa del blastocisto y se propagan a los tejidos y fluidos corporales cercanos, la transmisión entre animales generalmente ocurre a través de la ingestión de material contaminado después del aborto, ya que las bacterias se eliminan a través del feto, las membranas fetales y las secreciones uterinas (Corbel & Brinley, 1984).

De esta forma, se renueva el ciclo de infección de la célula, replicación intracelular y muerte celular hospedera (Anderson *et al.*, 1986).

2.2.1.4. Distribución geográfica

La distribución de las diferentes especies de Brucella y sus biovaries (1^a9) muestra variación geográfica. *B. abortus* es el más común: *B. melitensis* y *B. suis* son de distribución es irregular (Acha & Szyfres, 2001). Países como: Alemania, Austria, Bélgica, Bulgaria, la antigua Checoslovaquia, Dinamarca, Finlandia, Hungría, Noruega, Países Bajos, Rumania, Suecia y Suiza, han eliminado la brucelosis bovina y la mayoría de los países europeos están libres de brucelosis bovina, también los principales países productores de carne, como Australia, Canadá, Estados Unidos, Francia, Gran Bretaña y Nueva Zelanda, están libres de brucelosis (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.5. Período de Incubación

El aborto y muerte fetal suelen ocurrir entre dos y cinco semanas después de la infección, por lo general, la pérdida reproductiva ocurre en la segunda mitad de preñez; por lo tanto, si los animales se infectan temprano en el período de incubación, el período de incubación es más largo (Low State University, 2009). Cuanto más tiempo sea la preñez, más corto será el período de incubación, si la hembra se infecta por vía oral durante la temporada de reproducción, el período de incubación puede extenderse a unos 200 días y a unos dos meses si se retrasa hasta seis meses después de la reproducción (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.6. Transmisión

La principal fuente de infección en el ganado bovino es el feto, que contiene grandes cantidades de Brucella en la cápsula fetal y en las secreciones vaginales. En menor medida, las heces de terneros que consumen leche contaminada pueden contribuir a la contaminación

del campo, ya que no todas las especies de Brucella se eliminan en el tracto digestivo (Acha & Szyfres, 2001).

La vía de invasión más común es el tracto gastrointestinal, que es una fuente muy importante de infección mediante la ingestión de pasto, alimento y agua contaminados con Brucella. La propagación de la infección también se ve facilitada por el hábito de las vacas de lamer los órganos reproductivos de otras vacas infectadas (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.7. Signos Clínicos

En los ganados bovinos, *Brucella abortus* puede provocar abortos y muerte fetal, el aborto suele ocurrir en la segunda mitad de preñez, algunas crías nacen débiles y pueden morir poco después del nacimiento. Puede ocurrir retención de placenta y metritis secundaria (Lova State University, 2009). También puede acortar el período de lactancia, después del primer aborto espontáneo, las gestaciones posteriores suelen ser normales, incluso entonces, las vacas pueden eliminar microorganismos en la leche y las secreciones uterinas, algunos toros desarrollan epididimitis, cistitis, inflamación testicular o absceso testicular. La infertilidad puede ocurrir en ambos sexos debido a metritis u orquitis testicular (Universidad Estatal de Lowe, 2009), puesto que, en los machos, la infección puede provocar adherencias, inflamación testicular o atrofia testicular; mientras que las hembras infectadas pueden sufrir abortos espontáneos, retención placentaria, infertilidad y reducción de la producción de leche (Songer & Post., 2005).

Se estima que la infección causa una pérdida de producción de leche del 20% al 25% debido a la interrupción de la lactancia debido al aborto y al retraso en la fertilización (Acha & Szyfres, 2001). Las vacas lecheras inseminadas artificialmente con esperma infectado

pueden volver a mostrarse (Acha & Szyfres, 2001). Las hembras no preñadas no muestran signos clínicos y, si se infectan antes de reproducirse, ocasionalmente pueden abortar (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.8. Susceptibilidad de rebaño

Los terneros menores de 6 meses son menos susceptibles a la infección y normalmente sólo se infectan durante un corto período de tiempo (Acha & Szyfres, 2001).

Las vacas lecheras se encuentran entre las más susceptibles, mayormente durante la gestación, cuando las infecciones son comunes y los abortos son comunes, algunos animales nunca se infectan o, si lo hacen, la infección dura poco, algunas vacas lecheras son menos susceptibles y presentan infecciones sistémicas, su función reproductiva y la producción de leche se ven afectadas durante uno o más años, pero se irán recuperando paulatinamente, pero sin embargo, la mayoría de las vacas lecheras se infectan y mantienen títulos de aglutinación positivos durante muchos años o durante todo el periodo de vida, y aunque dan parto normal y vuelven a la producción normal de leche, después de uno o dos abortos, muchas son portadoras y se estima que sólo entre el 10% y el 25% de las vacas lecheras abortarán una segunda vez (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.9. Lesiones

Los fetos abortados en el quinto mes de gestación y el término suelen presentar edema y exceso de líquido subcutáneo, pero rara vez hay otras lesiones evidentes, las lesiones placentarias no suelen describirse, pero los cotiledones suelen estar necróticos y cubiertos de un exudado marrón, las vacas lecheras adultas pueden experimentar endometritis leve a moderada después del parto, que generalmente se resuelve dentro de 30 a 90 días; sin embargo, puede ocurrir retención de placenta, y en los machos, la *brucella* puede provocar

cambios en los órganos reproductivos, como orquitis y epididimitis, y también puede provocar atrofia testicular (Cordova *et al.* 2017).

2.2.1.10. Patogenia

La mayoría de los animales se infectan directamente a través de la mucosa oral y nasal al consumir alimento contaminado o al inhalar polvo de establos que contiene microorganismos arrojados por los animales después del aborto en la leche o secreciones vaginales (Rodríguez *et al.* 2001). Después de la entrada, independientemente de la ruta de entrada, las bacterias son eliminadas o transportadas por fagocitos al ganglio linfático más cercano al sitio de entrada, las bacterias pueden sobrevivir en los fagocitos por largos períodos de tiempo si no se destruyen (Ilarmon *et al.* 1988). La bacteria *Brucella abortus*, que ingresa al cuerpo del animal se multiplica primero en los ganglios regionales y luego son transportados a varios órganos por la linfa y la sangre (Acha & Szyfres, 2001).

Los ganglios linfáticos responden al desafío mediante hiperplasia reticulendoendotelial y proliferación linfoide, que pueden durar semanas o meses en producirse y mantenerse varios meses (Rodríguez *et al.* 2001). La *Brucella abortus* sobrevive y se multiplica dentro de los fagosomas de los macrófagos y la fusión de fagosomas y lisosomas que contienen bacterias se inhibe mediante la rápida acidificación del medio (Ko & Splitter, 2003). En células fagocíticas no profesionales, la internalización de *B. abortus* se asocia con la activación del dominio extracelular de una proteína tirosina quinasa y varias GTPasas pequeñas (Guzmán *et al.* 2001), frecuentemente localizadas en el retículo endoplásmico rugoso (Corbel, 1997).

La afinidad específica de estas bacterias por el endometrio gestacional y la placenta fetal bovina significa que estas bacterias también se multiplican ampliamente en las células del trofoblasto placentario que rodean al feto (Meador & Deyoe, 1989), causando endometriosis

aguda, la principal manifestación clínica. Las causas de infección en animales incluyen el aborto en el último tercio de la gestación o el nacimiento de animales prematuros con poca viabilidad (Ficht, 2003). En los machos, provoca cambios testiculares y reducción de la fertilidad, a veces acompañados de abscesos testiculares y epidídimos (Hausler & Koontz, 1974).

2.2.1.11. Latencia

La bacteria de *Brucella abortus*, no permanece en el útero mucho tiempo después de que una vaca infectada haya abortado o haya dado a parto normalmente, la infección se vuelve crónica y la *Brucella abortus* coloniza los ganglios linfáticos y las ubres de la vaca y puede permanecer en la ubre durante varios años (Acha & Szyfres, 2001).

2.2.1.12. Factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina

Estudios han encontrado que los rebaños pertenecientes a problemas de metritis posparto y los animales declarados estériles permanentemente tienen mayor riesgo de ser identificados como seropositivos en las pruebas de diagnóstico utilizadas (Robles & Marínez, 2021). También se puede observar que el ingreso de animales sin un muestreo adecuado puede provocar la propagación de la enfermedad en los hatos ganaderos (Robles & Marínez, 2021).

2.2.1.13. Diagnóstico

A. Método directo

El diagnóstico definitivo de brucelosis requiere el aislamiento y la identificación de la bacteria causante, no siempre es factible recuperar *Brucella abortus* de animales vivos infectados (ganglios linfáticos adyacentes). A menudo se realizan cultivos en leche, muestras vaginales y tejidos afectados, pero los fetos abortados, los terneros infectados y las

membranas fetales suelen contener cantidades elevadas de Brucella (Córdova *et al.* 2017). Para cultivo, las mejores muestras son el contenido del estómago, el hígado y el bazo de los fetos abortados y terneros infectados, los ganglios linfáticos asociados al tracto gastrointestinal también muestran con frecuencia resultados positivos para cultivos de Brucella (Córdova *et al.* 2017).

Método de tinción

No son verdaderas bacterias acidorresistentes, si son resistentes a la decoloración ácida leve y a la tinción roja mediante el método Ziehl-Neelsen modificado de Stamp. Este método es un procedimiento común para examinar frotis de órganos o fluidos biológicos previamente fijados con calor o etanol tiñendo Brucella rojo sobre fondo azul (OIE, 2012).

Medios de Cultivo

Aislamiento y cultivo directo de Brucella se suele realizar en medios sólidos y se encuentran disponibles comercialmente varios medios basales deshidratados, como los medios Brucella o el agar tripsina (o tripsina)-soja (TSA). El cultivo de algunas cepas requiere la adición de un 2-5 % de suero bovino o de equino, como biovariedad 2 de *B. abortus*. También se pueden utilizar otros medios satisfactorios tales como agar dextrosa sérica (SDA) o agar glicerol dextrosa, el medio SDA suele ser el medio de elección para monitorear la morfología de las colonias (OIE, 2012).

Métodos de Reconocimiento de ácidos Nucleicos

La PCR (incluido el formato en tiempo real) es otro método para la detección e identificación de especies de Brucella, a pesar del alto grado de homología del ADN en el género Brucella, se han desarrollado varios métodos moleculares que permiten

cierta diferenciación entre el género *Brucella* y algunas de sus variantes biológicas (OIE, 2012).

B. Método Indirecto

Los métodos indirectos para detectar la brucellosis incluyen:

Prueba de tarjeta

Se basa en la identificación de anticuerpos circulantes, que pueden ser de dos tipos: anticuerpos IgM producidos como resultado de la vacunación, y anticuerpos IgG1 e IgG2 producidos como resultado de una infección y mantenidos en el tiempo. La prueba de Rosa de Bengala, es capaz de detectar anticuerpos circulantes en la sangre del ganado, independientemente de su tipo (IgG o IgM), con una sensibilidad del 75-80% y una especificidad del 80-85% (Córdova *et al.*, 2017).

Prueba de Rivanol

Diagnóstico de esta prueba sigue el mismo principio que la prueba con tarjeta, excepto porque se añade la sustancia (ácido láctico) Rivanol para precipitar los anticuerpos IgM, el sobrenadante contiene anticuerpos IgG que reaccionan únicamente con el antígeno de la prueba mediante aglutinación (Córdova *et al.*, 2017).

Prueba de ELISA

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

Prueba de fijación de complemento

Método de diagnóstico que tiene la sensibilidad más alta para el diagnóstico de brucelosis con un 95% y una especificidad del 70%, pero su realización requiere mayor tiempo y equipo, por lo cual se recomienda como prueba de confirmación en caso de resultados equívocos. Tiene propiedades que distinguen entre anticuerpos vacunales y anticuerpos infecciosos y se considera una prueba diagnóstica altamente confiable ya que detecta animales infectados (Córdova *et al.* 2017).

Prueba de Inmunodifusión Radial

Esta prueba es considerada excelente herramienta para el diagnóstico diferencial de anticuerpos vacunales y anticuerpos infecciosos, ya que tiene de sensibilidad (95%) y mejor especificidad (80%) que la prueba de fijación del complemento, la cual es importante porque detecta anticuerpos con mayor eficacia a aquellos animales infectados y vacunados y esto es importe, ya que está detectando con mayor seguridad aquellos animales infectados y vacunados, es de utilidad para poder dar seguimiento en hatos vacunados con cepa 19 o RB51, y detectar diferencias en las respuestas vacunales o reacciones post-infección (Córdova *et al.* 2017).

2.2.1.14. Control

La brucelosis bovina generalmente se introduce en el rebaño a través de animales infectados, pero también puede introducirse a través de semen de toro infectado o contaminantes (Lova State University, 2009). En zonas endémicas, los terneros vacunados o las maltonas no preñadas son la mejor opción para introducir nuevos animales en rebaños no infectados. Las vacas lecheras preñadas o en transición deben provenir de un rebaño o área libre de brucelosis y ser serológicamente negativas (Lova State University, 2009). Los

animales jóvenes deben permanecer en cuarentena durante aproximadamente un mes y someter a pruebas de *B. abortus* antes de la introducción en el rebaño (Lova State University, 2009). La erradicación se puede lograr mediante el aislamiento de los rebaños infectados, con métodos de detección para la identificación de la fuente de la enfermedad (Lova State University, 2009). Todo material que entre en contacto con animales infectados y sus secreciones deben limpiarse y desinfectarse minuciosamente, las vacunas de *B. abortus* que contienen la cepa 19 y RB51 se pueden utilizar para controlar la enfermedad en zonas endémicas o como parte de un programa de erradicación (Lova State University, 2009).

2.3. BASES CONCEPTUALES

2.3.1. Antígeno

Moléculas exógenas o endógenas que son extrañas al organismo. Puede unirse específicamente a anticuerpos (Ab) o receptores de células T (TCR), pero no necesariamente produce una respuesta inmune (Vega, 2009).

2.3.2. Anticuerpo

Los anticuerpos (Ab) o las inmunoglobulinas (Ig) son moléculas de glicoproteínas (90% polipéptidos, 10% carbohidratos) que se unen específicamente a un antígeno o inmunógeno. También se les conoce como anticuerpos, gammaglobulinas, antitoxinas, aglutininas o precipitinas (Vega, 2009). Son productos de células B y son capaces de unirse específicamente a fragmentos de antígeno (Gallastegui *et al.* 2002).

2.3.3. Reacción antígeno – anticuerpo.

Un antígeno es una parte de un microorganismo o parásito que contiene sitios específicos que son reconocidos por los fluidos corporales (anticuerpos) o las células

(linfocitos) de la respuesta inmune; estos sitios se llaman epítopes, los llamados antígenos brutos suelen ser extractos solubles de microorganismos o parásitos; consisten en varios componentes del patógeno y las células en las que reside (Gallastegui *et al.* 2002).

2.3.4. Prueba ELISA

La técnica ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) en la actualidad es la tecnología inmunológica más utilizada, caracterizada por el uso de marcadores enzimáticos para detectar y amplificar reacciones antígeno-anticuerpo, en estas técnicas, uno de los elementos de la respuesta inmune (antígeno o anticuerpo) se inmoviliza sobre un soporte sólido, generalmente una placa de poliestireno, polivinilo, polipropileno o naylon, que permite su adsorción pasiva y eliminación mediante lavado del compuesto libre, la interacción antígeno-anticuerpo está determinada por una reacción colorimétrica, que ocurre cuando una enzima (unida a un antígeno o anticuerpo) degrada el sustrato correspondiente, midiendo la absorbancia en los pocillos de una placa ELISA se puede cuantificar la respuesta inmune (Rodríguez, 2004).

ELISA directo

Es el método de ensayo ELISA más sencillo y rápido, en el que un anticuerpo primario marcado con una enzima se unirá directamente al antígeno de interés, lo que permite la detección y/o cuantificación del mismo (Abyntek, 2019).

La ruta simplificada sería la siguiente (Abyntek, 2019):

1. Sobre una placa se inmoviliza el antígeno.
2. Se añade un anticuerpo primario marcado con una enzima, la que se unirá al antígeno de interés.

3. Se añade el sustrato, al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible la que permitirá la detección y/o cuantificación del antígeno de interés.

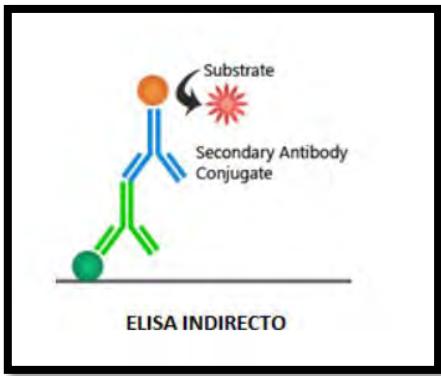
ELISA indirecto

Promover la detección de anticuerpos, en esta prueba, un antígeno específico se une a un soporte contra el cual se dirigen los anticuerpos de la muestra, el primer paso, se agrega muestra del animal y, si hay anticuerpos presentes, se unirán a los antígenos ya agregados al soporte, posteriormente se realiza un lavado para eliminar cualquier material que no esté unido al antígeno, seguido de la adición de anticuerpos anti-inmunoglobulina conjugados con una enzima que se une a los anticuerpos solo si están presentes en la muestra del animal, después de un segundo paso de lavado (para eliminar todo el conjugado no unido), se agrega un sustrato incoloro, que convierte el conjugado en un producto detectable si aún está presente. (Ríos *et al.* 2012)

El procedimiento del método de ELISA indirecto según (Abyntek, 2019) es el siguiente:

1. Se inmoviliza el antígeno en la placa.
2. Se agrega el anticuerpo primario sin marcar para unirse al antígeno objetivo.
3. Agregue un anticuerpo secundario marcado con enzima que se unirá al anticuerpo primario.
4. Agregue un sustrato que, al reaccionar con la enzima, dé una señal visible, permitiendo la detección y/o detección del antígeno de interés.

Figura 1. *Fases de la técnica ELISA indirecto.*



Fuente: (Abyntek, 2019) (1) *El antígeno se pega a la placa* (2) *Se añade el suero problema.* (3) *posteriormente, el conjugado.* (4) *y, por último, el sustrato.*

ELISA competitivo

Es una versión más complicada de la técnica ELISA, conocida también como Elisa de inhibición, porque usa un antígeno de referencia que competirá con el antígeno de la muestra para unirse al anticuerpo primario, se utiliza principalmente para identificar y/o medir antígenos en cantidades muy pequeñas. (Abyntek, 2019)

El procedimiento del método de ELISA competitivo según (Abyntek, 2019) es el siguiente:

1. Se inmoviliza el antígeno de referencia sobre la placa.
2. Por otro lado, un exceso de anticuerpo primario sin marcar se incuba con la muestra que alberga el antígeno relevante, resultando en la creación de complejos antígeno-anticuerpo.
3. Se debe añadir la mezcla antígeno-anticuerpo a la placa, donde el antígeno de referencia competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo.
4. La placa se lava eliminando complejos antígeno-anticuerpo solubles.
5. Se añade un anticuerpo secundario a la placa, marcado con una enzima que se unirá al anticuerpo primario anclado al antígeno de referencia.

6. Se añade el sustrato que, al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que será inversamente proporcional a la cantidad de antígeno de interés presente en la muestra.

ELISA sándwich

Este tipo de ELISA inmoviliza el antígeno entre dos anticuerpos, uno de captura y otro de detección, que se unen a dos epítopos diferentes de un mismo antígeno (Abyntek, 2019)

El procedimiento es el siguiente: (Abyntek, 2019)

1. El anticuerpo capturado se detiene sobre la placa.
2. Se incorpora la muestra que alberga el antígeno unido al anticuerpo de captura correspondiente.
3. Se incorpora el anticuerpo de detección, el cual se acoplará al antígeno que, a su vez, se acoplará al anticuerpo capturador.
4. En caso de que el anticuerpo de detección vaya conjugado a una enzima, procederemos directamente con el 5º paso. De lo contrario (que es lo más habitual en los ELISA tipo sándwich), será necesario añadir un anticuerpo secundario marcado con una enzima la que se unirá al anticuerpo de detección.
5. Se añade el sustrato que al reaccionar con la enzima proporcionará una señal visible que permitirá la detección y/o cuantificación el antígeno de interés.

2.3.5. Prevalencia

La prevalencia define la proporción de una población que padece una enfermedad en un momento o período determinado, por lo tanto es una proporción que indica la frecuencia de un evento (Pita *et al.* 2004).

CAPITULO III.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, distritos de Yanaoca y Túpac Amaru respectivamente, provincia de Canas, región Cusco.

Figura 2. Mapa político de la provincia de Canas – Cusco.



Fuente: (INEI, 1994).

3.1.1. Ubicación política de los distritos de Túpac Amaru y Yanaoca

a. Ubicación política del distrito de Túpac Amaru

Departamento	: Cusco
Provincia	: Canas
Distrito	: Túpac Amaru
Comunidad	: Tungasuca
Altitud	: 3791 m. s. n. m
Superficie	: 117.81 Km2

Fuente: (INEI, 1994).

b. Ubicación política del distrito de Yanaoca

Departamento	: Cusco
Provincia	: Canas
Distrito	: Yanaoca
Comunidad	: Jilayhua
Altitud	: 3913 m.s.n.m
Superficie	: 292.97 Km2

Fuente: (INEI, 1994).

3.1.2. Delimitación Política de los distritos de Túpac Amaru y Yanaoca

a. Delimitación política del distrito de Túpac Amaru

- Por el norte : Distrito de Pomacanchi.
- Por el sur : Distrito de Yanaoca.
- Por el este : Distrito de Pampamarca, Mosocllaqta

- Por el oeste : Distrito de Livitaca

Fuente: (INEI, 1994)

b. Delimitación política del distrito de Yanaoca

- Por el norte : Distrito de Pampamarca y Túpac Amaru.
- Por el sur : Distrito de Quehue.
- Por el este : Distrito de Tinta.
- Por el oeste : Distrito de Livitaca.

Fuente: (INEI, 1994)

3.1.3. Datos climáticos de los distritos de Túpac Amaru y Yanaoca

a. Datos climáticos del distrito de Túpac Amaru

- ✓ **Temperatura:** Se considera una temperatura media anual de 7.9 °C, siendo la temperatura mensual máx. de 18.6 °C y la temperatura mensual min, de 7.2°C para los meses de marzo y Julio respectivamente (SENAMHI, 2014).
- ✓ **Precipitación:** Se considera una precipitación anual de 750 mm, siendo la precipitación mensual más alta de 1000 mm y la precipitación mensual más baja de 500 mm para los meses de enero y mayo respectivamente (SENAMHI, 2014).

b. Datos climáticos del distrito de Yanaoca

- ✓ **Temperatura:** En este distrito, el verano es corto, fresco, nublados y el invierno es corto, muy frío, secos y parcialmente nublados, durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de -3 °C a 18 °C y rara vez baja a menos de -5 °C o sube a más de 21 °C (SENAMHI, 2014).
- ✓ **Precipitación:** El mes con más lluvia en Yanaoca es enero, con un promedio de 93 mm de lluvia, el periodo del año sin lluvia dura 4.6 meses, del 1 de

mayo al 19 de setiembre, el mes con menos lluvia en Yanaoca es agosto, con un promedio de 4 mm de lluvia (SENAMHI, 2014).

3.1.4. Área de investigación

La presente investigación, por su naturaleza se enmarca dentro del área de las ciencias veterinarias, porque está relacionado con la producción pecuaria.

3.1.5. Tipo de investigación

El tipo de investigación empleado es de tipo descriptivo.

3.1.6. Tipo de estudio epidemiológico

El presente estudio es de tipo transversal, debido a que la población en estudio se seleccionó de manera aleatoria sin considerar la exposición a la enfermedad y porque sólo se hará una medición en el tiempo en cada sujeto de estudio (Hernández *et al.* 2008).

3.2. MATERIALES DE ESTUDIO

3.2.1. Población

La población estuvo conformada por vacunos mayores a seis meses de edad, tanto hembras como machos de las categorías (DL, 2D, 4D, 6D y BLL), de las comunidades campesinas de Jilayhua y Tungasuca de la provincia de Canas, región Cusco.

3.2.2. Tamaño de muestra

El tamaño de muestra se obtuvo teniendo en cuenta que las comunidades de Jilayhua y Tungasuca cuentan con una población de 870 y 950 vacunos (GERAGRI-AAC, 2023). De los cuales se realizó el muestreo considerando el error de precisión de 0.1 y 90 % de confianza. Dicho tamaño de muestra se determinó con la siguiente formula (Aguilar & Borjas, 2005).

$$N = \frac{N*Z^2*p*q}{(N-1)*E^2+Z^2(p*q)}$$

Dónde:

N: tamaño poblacional

Z: 1.65, nivel de confianza que se da a la muestra

p: animales positivos a Brucelosis (0.5)

q: animales negativos a Brucelosis (0.5)

E: error experimental 0.1

El tamaño de muestra por cada comunidad según el resultado obtenido al desarrollar la formula (ver anexo 01 y 02), se muestra en la tabla 01.

Tabla 1. Tamaño de muestra por comunidad

Comunidad	Población de vacunos	Tamaño de muestra
Jilayhua	870	63
Tungasuca	950	64
Total	1820	127

Fuente: GERAGRI-AAC (2023)

3.3. MATERIALES AUXILIARES

3.3.1. Equipos

- Cabina de flujo laminar (AIRCLEAN SYSTEMS)
- Centrífuga (Nuve 2000)
- Incubadora de 26 °C (JITERBUG – 4, BOEKEL).
- Lector de microplacas de ELISA (Biotek EPOCH 2)
- Congeladora de -20 °C (ELECTRIX EU21)

- Refrigeradora de 8 °C (BIOBASE)
- Vortex (GENIE 2)

3.3.2. Instrumentos

- Cámara fotográfica.
- Cronómetro de tiempo
- Micropipeta multicanal de 10 a 300 µL
- Micropipeta unicanal de 10 a 100 µL
- Micropipeta unicanal de 100 a 1000 µL
- Micropipeta unicanal de 20 a 200 µL
- Probeta de 100, 500 y 1000 ml

3.3.3. Reactivos

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

3.3.4. Materiales consumibles

- Agua desionizada
- Agujas vacutainer de 21G x 1"

- Alcohol de 70°
- Barbijo
- Casquete para las agujas vacutainer
- Gorro
- Gradillas
- Guantes desechables
- Papel absorbente
- Parafilm
- Pipetas Pasteur desechables
- Tips desechables de 100-1000 μL
- Tips desechables de 5 – 300 μL
- Torundas de algodón
- Tubos vacutainer con separador de suero de 5 ml
- Viales criogénicos de 2.0 ml.

3.3.5. Otros materiales

- Bandejas para depósito de reactivos
- Cooler refrigerante
- Fichas clínicas
- Geles refrigerantes
- Marcador
- Mocheta
- Porta viales
- Soga
- Tablero

3.3.6. Indumentaria de trabajo

- Botas
- Mameluco
- Mandil

3.4. MÉTODO

3.4.1. Sensibilización a los productores

Primero, se realizó las coordinaciones con los presidentes de las comunidades de Tungasuca y Jilayhua, para programar una reunión con los productores de vacunos. Seguidamente se llevó a cabo la charla de concientización, en el cual se dio alcance sobre los objetivos y la importancia del estudio a realizar.

3.4.2. Toma de muestras

La toma de muestras de sangre, se consideró vacunos mayores a seis meses de edad, de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca. Dichas muestras de sangre se obtuvieron por punción a la vena coccígea, previa desinfección de la zona; en tubos vacutainer de 5 ml con gel separador de suero, la cantidad promedio de obtención de sangre fue 3 ml por vacuno. Paralelo a la obtención de la muestra sanguínea se llenaron los registros con los datos de cada vacuno, terminado el trabajo de campo, las muestras fueron trasladadas en un cooler refrigerante a una temperatura de refrigeración de 5 °C al Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. ATILIO PACHECO PACHECO”, de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia- UNSAAC, para su respectivo procesamiento, el tiempo de traslado fue de 5 horas.

La toma de muestras se ejecutó en el mes de marzo de 2023 durante dos días consecutivos en el horario que corresponde a: 5:00 AM a 10: 00 AM. El procesamiento de

muestras se realizó en el mismo mes. Dicha actividad se realizó con la colaboración de 4 estudiantes de zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

3.4.3. Obtención del suero.

Para la obtención del suero sanguíneo, se realizó la centrifugación de las muestras a 1500 rpm durante 10 minutos (Muñoz & Morente, 2009), este suero se depositó en crioviales de 2 ml y se conservó en la congeladora a una temperatura de -20°C por un periodo de 15 días.

3.4.4. Metodología de laboratorio.

Se empleó el método de ELISA indirecta, para detectar anticuerpos de la *Brucella abortus*.

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

A. Descripción y principios de la prueba

Las micoplacas ELISA se encuentran tapizadas con un lipopolisacárido (LPS) de *Brucella abortus*. Los sueros a analizar se diluyen y se incuban en los pocillos, cualquier anticuerpo específico frente a *Brucella abortus*. Presente en la muestra, forma un complejo LPS de antígeno-anticuerpo en la superficie del pocillo (IDEXX, 2022a). Tras el lavado, se incuba en los pocillos un anticuerpo secundario anti-rumiante unido a un enzima, el conjugado se une a los complejos LPS de antígeno-anticuerpo, después de otro lavado, se añade a los pocillos la enzima substrato (TMB)(IDEXX, 2022a). En presencia de la enzima, el substrato se oxida generando una coloración azul, que cambia a color amarillo al añadir la solución de frenado, la intensidad del color es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos anti-*Brucella abortus* presentes en la muestra de suero (IDEXX, 2022a).

B. Sensibilidad y especificidad del Kit ELISA

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).

C. Preparación de las muestras y reactivos

Solución de lavado

La solución de lavado Concentrada (20X) se diluyó a razón de 1:20 con agua desionizada antes de ser usada (IDEXX, 2022a), después de preparar se llevó a incubar a una temperatura de 21°C, antes de ser utilizada.

La cantidad total de solución de lavado diluido que se utilizó fue de 243 000µL, para lo cual se usó 12 150 µL de solución de lavado Concentrada (20X) y 230850 µL de agua desionizada, esto para las 127 muestras evaluadas y 8 controles correspondientes a las dos placas trabajadas.

Conjugado

El conjugado concentrado se diluyó en una proporción de 1:100 con la Solución tampón de dilución n.º1, luego se llevó a incubar a 21°C de temperatura antes de ser utilizada (IDEXX, 2022a).

La cantidad total de conjugado diluido que se utilizó fue de 13500 µL, para lo cual se usó 135 µL de conjugado concentrado y 13 365 µL de tampón de dilución n.º1, esto para las 127 muestras evaluadas y los 8 controles correspondientes a las dos placas trabajadas.

Muestras de suero

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

Procedimiento del ensayo

Según (IDEXX, 2022a) el procedimiento fue el siguiente:

1. Se obtuvo las placas tapizadas con antígeno y se anotó la posición de las muestras y controles en una plantilla ELISA.
2. Se añadió 190 µl de solución tampón de dilución n. °2 en cada pocillo.
3. Se dispensó 10 µl de control negativo en los pocillos correspondientes.
4. Se dispensó 10 µl de control positivo en los respectivos pocillos.
5. Se añadió 10 µl de muestra de suero sanguíneo en el resto de los pocillos, según la asignación realizada en la plantilla ELISA.
6. Se cubrió la placa con papel Parafilm y se mezcló el contenido de los pocillos usando un agitador de microplacas por 1 minuto.
7. Se incubó la placa por 1 hora a 26°C.
8. Se eliminó el contenido líquido de todos los pocillos y se lavó cada pocillo con 300 µl de solución de lavado por 3 veces consecutivas. Después del lavado final, se eliminó el fluido de lavado residual de todos los pocillos de la placa, invirtiéndola sobre papel toalla.
9. Se dispensó 100 µl de conjugado diluido a todos los pocillos de la placa ELISA.
10. Se incubó por 30 minutos a una temperatura de 26°C
11. Se volvió a repetir el paso 8.
12. Se dispensó 100 µl de Substrato TMB n. °13 a todos los pocillos.
13. Se incubó por 20 minutos a 26°C en la oscuridad.
14. Se dispensó 100 µl de Solución de Frenado n. °3 a todos los pocillos de la placa.

15. Se colocó la placa en un lector de microplacas ELISA y se procedió a leer las densidades ópticas a una longitud de onda de 450 nm, con el software Gen5.

16. Se analizó los resultados según el inserto del Kit.

D. Criterios de validación

La reacción se consideró valida, porque el valor medio control positivo ($CP\bar{x}$) tuvo un valor mínimo medio de densidad óptica (DO) $\geq 0,350$ y el cociente del valor medio de los controles positivos ($CP\bar{x}$) y el valor medio de los controles negativos ($CN\bar{x}$) $\geq 3,00$ (IDEXX, 2022a).

E. Cálculos

- Media de las densidades ópticas (DO) de los controles negativos.

$$CN\bar{x} = \frac{CN1 + CN2}{2}$$

Dónde:

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

$CN1$: Densidad óptica del control negativo 1.

$CN2$: Densidad óptica del control negativo 2.

- Media de las densidades ópticas (DO) de los controles positivos.

$$CP\bar{x} = \frac{CP1 + CP2}{2}$$

Dónde:

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

CP1: Densidad óptica del control positivo 1.

CP2: Densidad óptica del control positivo 2.

- Porcentaje M/P de las muestras

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

Dónde:

M/P (%): Muestra porcentual.

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

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

DO muestra: Densidad óptica de cualquier muestra.

F. Interpretación de resultados

La interpretación 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.

3.4.5. Determinación de la prevalencia

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

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

Dónde:

P = Prevalencia de la enfermedad.

C = Número casos existentes.

N= Total de animales evaluados.

3.4.6. Determinación del intervalo de confianza

La Seroprevalencia se ajustará a un intervalo de confianza mediante la fórmula de (Mendenhall et al. 2010):

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

Dónde:

p = proporción de bovinos afectados.

z = Desviación con relación a una distribución normal estándar.

q = Proporción de bovinos no afectados.

n = Tamaño de la muestra definitiva.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. SEROPREVALENCIA DE LA *Brucella abortus* EN HATOS DE VACUNOS LECHEROS POR COMUNIDAD.

La seroprevalencia de la *Brucella abortus* en los hatos de vacunos lecheros de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca.

Comunidad	Nº muestras	Positivos a anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>	Seroprevalencia (%)
Jilayhua	63	0	0.00 ± 0.00 %
Tungasuca	64	0	0.00 ± 0.00 %
Total	127	0	0.00 ± 0.00 %

Fuente: Elaboración propia.

En las comunidades de Jilayhua y Tungasuca no se encontró ningún vacuno seropositivo a *Brucella abortus*, siendo la seroprevalencia de 0.00 ± 0.00 % para ambas comunidades y evidenciando la no existe la brucelosis en los vacunos de ambas comunidades.

4.2. SEROPREVALENCIA DE LA *Brucella abortus* EN HATOS DE VACUNOS LECHEROS POR DENTICION.

En siguiente tabla se muestra los resultados de los vacunos evaluados según dentición.

Tabla 3. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca, según dentición.

Dentición	Edad Aproximada.	Nº muestras	Positivos <i>Brucella abortus</i>	Seroprevalencia%
DL	>6 meses a ≤2años	36	0	0.00 ± 0.00 %
2D	>2 años a ≤3años	16	0	0.00 ± 0.00 %
4D	>3 años a ≤4 años	22	0	0.00 ± 0.00 %
6D	>4 años a ≤5años	20	0	0.00 ± 0.00 %
BLL	>5 años a mas	33	0	0.00 ± 0.00 %
Total		127	0	0.00 ± 0.00 %

Fuente: Elaboración propia.

En los animales categorizados según dentición, no se halló ningún vacuno seropositivo a *Brucella abortus*, siendo la seroprevalencia de 0.00 % (0/127) en todas las categorías, evidenciando que ningún animal evaluado ha presentado la enfermedad, por lo que, no posee anticuerpos contra la bacteria *Brucella abortus*, por lo tanto, los hatos evaluados se encuentran libres de brucellosis.

Nuestros hallazgos difieren con lo reportado por Herrera (2019) en los distritos de Ancahuasi, Huarocondo, Cachimayo, Zurite y Anta en la provincia de Anta, Región Cusco, quien detectó una incidencia del 17,86 % mediante el método de ELISA indirecta. Esta discrepancia posiblemente se debe a que esta región tiene un gran potencial ganadero, lo que ha llevado a un mejoramiento genético constante, a través de la introducción de vacunos de diferentes procedencias. Esto ha restringido la aplicación de un control estricto que impida

el ingreso y la propagación de la enfermedad en los ganaderos; también podría estar vinculado al mayor tamaño utilizado por el autor.

El resultado obtenido en la presente investigación se asemeja a los estudios realizados en otras regiones del País, así como: Vergara (2022) en Huari-Ancash, por el método de Rosa de Bengala; Salazar (2019) en puente Piedra-Lima, mediante la prueba de Rosa de Bengala, Maslucán (2019) en Rioja-San Martín con la prueba de Rosa de Bengala y Reyes *et al.* (2017) en Oxapampa-Pasco, con la prueba de Rosa de Bengala, quienes no encontraron casos positivos, siendo la prevalencia de 0.00 % de brucelosis bovina en las regiones antes mencionadas.

Por otro lado, nuestros resultados difieren de los reportes realizados por SENASA (2014), quienes evidenciaron mediante ELISA competitivo casos positivos de brucelosis bovina a nivel de varias regiones del país, con un acumulado de quince casos positivos a lo largo del año 2014. De igual forma por método de ELISA competitivo SENASA (2023), muestra un acumulado de 22 casos positivos que corresponden a las regiones de Ancash, Puno, Cajamarca, Huánuco, Piura y San Martín. Estos reportes muestran la existencia de la enfermedad (*Brucella abortus*) en dichas regiones mencionadas del Perú, lo cual representa un riesgo para los vacunos de otras regiones del Perú, teniendo en cuenta que la compra y venta de ganado vacuno se realiza de forma indiscriminada sin ningún tipo certificado sanitario emitido por SENASA, institución del estado que, debe tomar acciones rigurosas para controlar y evitar la transmisión de enfermedades zoonótica como la brucelosis bovina.

Nuestros resultados difieren de los estudios realizados por Alba (2021) en Cochabamba-Bolivia, mediante el método de Rosa de Bengala, quien halló el 40 % (1311/3271) de casos sospechosos y por ELISA competitivo identificó un 30 % (978/3271); Apaza (2019) en el departamento de Beni-Bolivia, mediante de método Rosa de Bengala obtuvo el

0.53 % (1/188) de casos positivos de brucelosis bovina, Motta *et al.* (2018) en Caquetá-Colombia, mediante el método de Rosa de Bengala como prueba de tamiz y Prueba de ELISA competitivo como prueba confirmatoria encontraron una prevalencia de 0.00 % y 5.81% en hembras y machos respectivamente; Escobar *et al.* (2017) en Santo Domingo de Tsáchilas-Ecuador, mediante la prueba de Rosa de Bengala y ELISA indirecta, determinaron 6.17 % (332/4903) y 3.34 % (164/4903) respectivamente y Sánchez *et al.* (2012) en el Estado de Hidalgo-México, mediante la técnica de aglutinación en tarjeta y rivanol encontraron un 21.2 % (106/500) animales positivos a *Brucella abortus*. Los resultados de los autores antes mencionados demuestran la existencia de la enfermedad en países vecinos, demostrando que, a diferencia de otros países pertenecientes al continente europeo, no se está poniendo en práctica los planes de control y erradicación de la brucelosis bovina en países de Sudamérica. Esta diferencia se puede deber a que en países del continente europeo se ha erradicado la enfermedad mediante pruebas específicas como las serológicas.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- No se encontró animales seropositivos a *Brucella abortus* en los vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca de la provincia de Canas – Cusco.
- En las diferentes categorías según dentición de vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca de la provincia de Canas – Cusco, no se evidenció animales seropositivos a *Brucella abortus*.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos de investigación utilizando una prueba de tamiz o prueba serológica como rosa de bengala u otros y a los animales positivos corroborar mediante método de ELISA (directa, indirecta, sándwich y/o competitivo) para tener mejor variabilidad y grado de confianza.
- Para posteriores trabajos de investigación se recomienda realizar, con comunidades y/o distritos que tengan población de vacunos considerables, para tener mayor tamaño de muestras y poder tener resultados amplios.
- Se recomienda tomar en cuenta la varianza y la variabilidad estadística para futuras investigaciones en el mismo tema.
- También se recomienda que todos los trabajos de investigación se tomen en cuenta para tener la data estadística en ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - MIDAGRI.

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.*, pp. 28–55. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652004000500016>.
- Aguilar B., S. (2005). Formulas para el calculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*, 11(1-2), 333-338.
- Alba S., J. (2021). *Brucellosis bovina en la cuenca lechera del distrito 9 de Cochabamba.* Tesis de posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Mayor de San Simon.
- Alvarez H., N.E.; Florez D., D.; Ortiz R., M. (2015). Brucellosis, una Zoonosis frecuente. *Medicina e Investigacion*, 3(2), 2–6.
- Anderson, T. D., Meador, V. P. & Cheville, N. F. (1986). Pathogenesis of placentitis in the goat inoculated with *Brucella abortus*: I. Gross and histologic lesions. *Vet Pathol*, 23, 219–226.
- Apaza H., P. Q. (2019). *Prevalencia de Brucellosis en bovinos lecheros en la localidad de yucumo-municipio de San Borja del departamento de Beni-Bolivia.* Tesis de pregrado de la Carrera de Ingenieria Agronómica de la Universidad Mayor de San Andres.
- Bardales S., M. A. (2017). *Prevalencia de Brucellosis bovina en las cuencas Mashcon y Chonta-Cajamarca, 2016.* Universidad Nacional de Cajamarca. Retrieved from http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1111/TESIS_MELINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y COMPLETA
- Brownlie, J.; Hooper L., B. ; Thompson, I. & C. M. E. (1998). Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhea virus - the bovine pestivirus. *Clin. Diagn. Virol*, pp. 141-150.

Castro, H. A. ., González, S. R. ., & Prat, M. I. (2005). Brucellosis: una revision practica. *Acta Bioquímica Clinica Latinoamerica*, 39(2), 203–216.

Cardenas, C.Z.L. (2018) *La brucellosis bovina y sus factores de riesgo: evaluadas a nivel mundial y en colombia*. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/461075/zlcc1de1.pdf?sequence=1>

Corbel, M. J. & Brinley-Morgan, W. J. (1984). Genus *Brucella* Meyer and Shaw 1920.

Corbel, M. (1997). Brucellosis: an overview. *Emerg Infect*, 3, 213–221.

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 Brucellosis Bovina y consecuencias economicas para el ganadero. *Sitio Argentino de Produccion Animal.*, 1–5.

Cutler, S. J. (2005). Existencia de ganado, aves, otros animales y colmenas. *Journal of Applied Microbiology*, 1270–1281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02622.x>

Escobar C., S. G., Romero S., E. J., & Gualpa M., F. O. (2017). Geo-Referenciación de la Prevalencia de Brucellosis (*Brucella abortus*) en la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas. *Espam Ciencia*, 8(2), 59–66. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7020053.pdf>

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

Gallastegui, C.; Bernardez, B.; Reguera, A.; Davila, C. y Leboreiro, B. (2002). Inmunologia. In *Farmacia Hospitalaria* (pp. 1078–1080).

Garrido M., R. F., & Garrido, A. (2002). Género *Brucella*. In M. G.-H. Interamericana. (Ed.), *Manual de Microbiología Veterinaria*. (pp. 275-292.).

Garry L., A. (1999). Brucellosis Bovina: Control, prevención y perspectivas en Tamaulipas. *Memoria Del XVII Día Del Ganadero*, 2–7. Retrieved from <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/423/680.pdf?s>

equence=1

Gerencia Regional de Agricultura Cusco - Agencia Agraria Canas 2023, poblacion de vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca Provincia de Canas-Cusco.

Guzmán B., C., Chaves O., E., Eichel S., C. V., Lopez G., I., Thelestam, M., Arvidson, S., Moreno, E. (2001). GTPases of the Rho subfamily are required for *Brucella abortus* internalization in nonprofessional phagocytes, 276, 44435–44443.

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

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

Houe, H. (1995). Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Vet. Clin. North Am.: Food Animal Practice*, 11, 521-547.

IDEXX. (2022a). Brucellosis Antibody Test Kit Kit.

IDEXX. (2022b). IDEXX Brucellosis Serum-Sensibilidad y Especificidad.

Ilarmon, B., Adams, L., & Frey, M. (1988). *Survival of rough and smooth strains of Brucella abortus in bovine mammary gland macrophages*. Am J Vet Res (Vol. 49).

INEI. (2012). Existencia de ganado, aves, otros animales y colmenas. *Instituto Nacional de Estadística e Informática*. Retrieved from <http://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/%0Ahttp://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/%0Ahttp://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/#%0Ahttp://censos.inei.gob.pe/cenagro/tabulados/>

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. Retrieved from <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:BDsuQOHoCi4J:https://media.neliti.com/media/publications/9138-ID-perlindungan-hukum-terhadap-anak-dari-konten-berbahaya->

dalam-media-cetak-dan-ele.pdf+&cd=3&hl=id&ct=clnk&gl=id

Lowa State University. (2009). Brucelosis bovina: *Brucella abortus*. *The Center for Food Security & Public Health*, 1–6.

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*.

McGowan, M.R. & Kirkland, P. D. . (1995). Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Br. Vet. J.*, 151, 263–270.

Meador, V., & Deyoe, B. (1989). Intracellular Localization of *Brucella abortus* in bovine placenta. *Vet Pathol*, 513–515.

Motta-Delgado, P. A., Herrera-Valencia, W., Londoño, M., Rojas-Vargas, E. P. ., y Rivera-Calderón, L. G. . (2018). Prevalencia de brucelosis (*Brucella spp*) en bovinos del municipio de San Vicente del Caguán, Caquetá, Colombia. *Revista Veterinaria Y Zootecnia (On Line)*, 12(2), 1–9. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2018.12.2.1>

OIE. (2012). Brucelosis Bovina. *Manual de La OIE Sobre Animales Terrestres*, 1–39.

Pita F., S; Díaz P., S & Valdés C., F. (2004). Medidad de frecuencia de enfermedad. *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística*, pp. 1–6.

Reyes R., A., Samamé B., H. 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.

Rivers, R., Andrews, E., González-Smith, A., Donoso, G., & Oñate, A. (2006). *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. *Arch. Med. Vet*, 38(1), 7–18.

Robles, C. &, Marínez, A. (2021). Control de la Brucelosis Bovina: Cambios en la legislación actual para acelerar el saneamiento de los rodeos.

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. Retrieved from <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8315>

Sánchez C., Y. M., Rodriguez D., J. G., 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 Hidalgo, México. *Rev. Salud Anim*, 34(2), 95–100.

SENAMHI. (2014). Datos historicos de la estacion meteorologica de Pomacanchi.

SENASA. (2014). Boletín Epidemiológico. Retrieved from <https://repositorio.midagri.gob.pe/jspui/bitstream/20.500.13036/511/1/SENASA BOLETÍN-NOVIEMBRE-2014.pdf>.

SENASA. (2019). *Reporte epidemiologico*. Retrieved from <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2560038/REPORTE SEMANA 25 - 2019.pdf>

SENASA. (2022). *Reporte epidemiologico semanal*. Retrieved from <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/3142305/REPORTE SEMANA 19-2022.pdf.pdf.pdf.pdf>

Sivana R., V. (2023). *Cuantificación de anticuerpos contra la Brucella abortus en vacunos de la granja K'ayra, distrito de San Jeronimo-Cusco* [Tesis de Pregrado de la Escuela Profesional de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco]. <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/5181/253T20201002.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Songer, J. G. & Post, K. W. (2005). Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease. *St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders*.

Vega R., G. B. (2009a). Anticuerpos. *Rev Fac Med UNAM.*, 136–138.

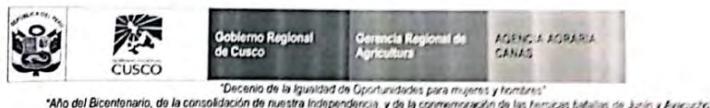
Vega R., G. B. (2009b). Antígenos e inmunógenos. *Rev Fac Med UNAM.*, 52(1), 41–42.

Vergara E., K. A. (2022). *Evaluación de la brucellosis bovina en cinco comunidades del distrito de Huari – Áncash*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Wounda, W.; Dijkstra, Th. ; Kramer A., M.H.; Maanen, C. & Brinkho, J. M. (1999).
Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections
in dogs and cattle. *J. Parasitol.*, 29, 1677-1682.

ANEXOS

Anexo 1. Población de vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca – Canas.



INFORME N° 144 -2024-GR CUSCO/GERAGRI-AAC

A : SR. DANTE RODRIGO MOLINA CASTRO
ASUNTO : REMITO INFORMACION SEGÚN SOLICITADA
REFERENCIA : SOLICITUD DE POBLACION DE VACUNOS EN COMUNIDADES DE JILAYHUA-YANAOCAY TUNGASUCA -TUPAC AMARU
FECHA : Yanaoca, 15 de octubre del 2024

Estimado Señor Molina Castro,

En respuesta a su solicitud de información sobre la población de vacunos en las comunidades de Jilayhua – Yanaoca y Tungasuca – Túpac Amaru, en la provincia de Canas, tengo a bien informarle lo siguiente:

- ✓ Comunidad Jilayhua – Yanaoca: La población de vacunos es de 870 cabezas.
 - ✓ Comunidad Tungasuca – Túpac Amaru: La población de vacunos es de 950 cabezas.
- Datos que concierne al mes del Marzo del 2023 .

Esta información ha sido recopilada y validada con fines de registro de la población ganadera en la región y esperamos que sea útil para su investigación académica.

Es cuanto informo a usted, para los fines pertinentes.

Atentamente,



Hagamos
HISTORIA

Av. Micaela Bastidas N° 310 - 314
Distrito de Wanchaq, Cusco - Perú
www.gob.pe/regioncusco-geragri

Escaneado con CamScanner

Anexo 2. Cálculos para determinar tamaño de muestra para la comunidad de Jilayhua.

$$n = \frac{N * Z^2 * p(1-p)}{(N-1) * E^2 + Z^2(p * q)}$$

Dónde:

n: tamaño de muestra

N: tamaño poblacional

Z: 1.65, nivel de confianza que se da a la muestra

p: animales positivos a *Brucella abortus* 0.5

q = animales negativos a *Brucella abortus* 0.5

E: error experimental 0.1

$$n = \frac{870 \times (1.65)^2 (0.5 \times 0.5)}{(870 - 1)(0.1)^2 + (1.65)^2 (0.5 \times 0.5)}$$

$$n = \frac{870 \times 2.7225 \times (0.5 \times 0.5)}{(870 - 1)(0.01) + 2.7225(0.5 \times 0.5)}$$

$$n = \frac{870 \times 0.6806}{8.69 + 0.6806}$$

$$n = \frac{592.122}{9.37}$$

$$n = 63.19$$

$$n = 63$$

Anexo 3. Cálculos para determinar tamaño de muestra para la comunidad de Tungasuca.

$$n = \frac{N * Z^2 * p * (1-p)}{(N-1) * E^2 + Z^2 * (p * q)}$$

Dónde:

n: tamaño de muestra

N: tamaño poblacional

Z: 1.65, nivel de confianza que se da a la muestra

p: animales positivos a *Brucella abortus* 0.5

q = animales negativos a *Brucella abortus* 0.5

E: error experimental 0.1

$$n = \frac{950 \times (1.65)^2 (0.5 \times 0.5)}{(950 - 1)(0.1)^2 + (1.65)^2 (0.5 \times 0.5)}$$

$$n = \frac{950 \times 2.7225 \times (0.5 \times 0.5)}{(950 - 1)(0.01) + 2.7225(0.5 \times 0.5)}$$

$$n = \frac{950 \times 0.6806}{9.5 + 0.6806}$$

$$n = \frac{646.57}{10.18}$$

$$n = 63.51$$

$$n = 64$$

$$n = 64$$

Anexo 4. Procedimiento de la ejecución de la tesis por el método de ELISA indirecta.

Figura 3. Fotografía de la toma de muestras de sangre de vacunos de las comunidades de Jilayhua y Tungasuca.



Figura 4. Muestras de suero sanguíneo descongeladas.



Figura 5. Organización de muestras según la plantilla ELISA.



Figura 6. Homogenización de muestras de suero sanguíneo.



Figura 7. Preparación de solución de lavado.



Figura 8. Preparación del conjugado diluido.



Figura 9. Reactivos estabilizados a 23°C antes de ser utilizados en el ensayo ELISA.



Figura 10. Adición del tampón de dilución a los pocillos de la placa ELISA.



Figura 11. Adición de las muestras a los pocillos ELISA.



Figura 12. Homogenización de la muestra y el tampón de dilución de los pocillos de la placa ELISA antes de la primera incubación.



Figura 13. Primera incubación de la placa ELISA a 26°C por una hora.



Figura 14. Primer lavado de la placa ELISA con 300 μ L por 3 veces.



Figura 15. Adición de 100 μ L de conjugado a todos los pocillos de la placa ELISA.

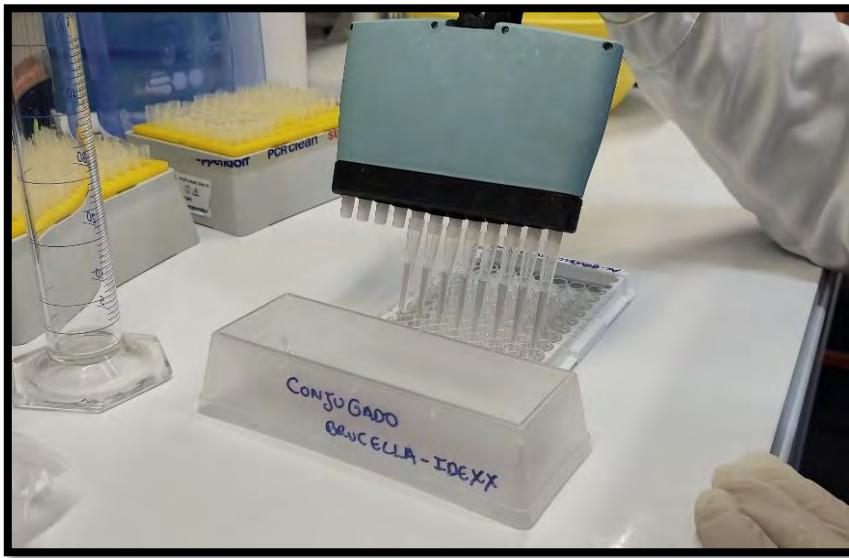


Figura 16. Segundo lavado de la placa ELISA con 300 μ L por 3 veces.

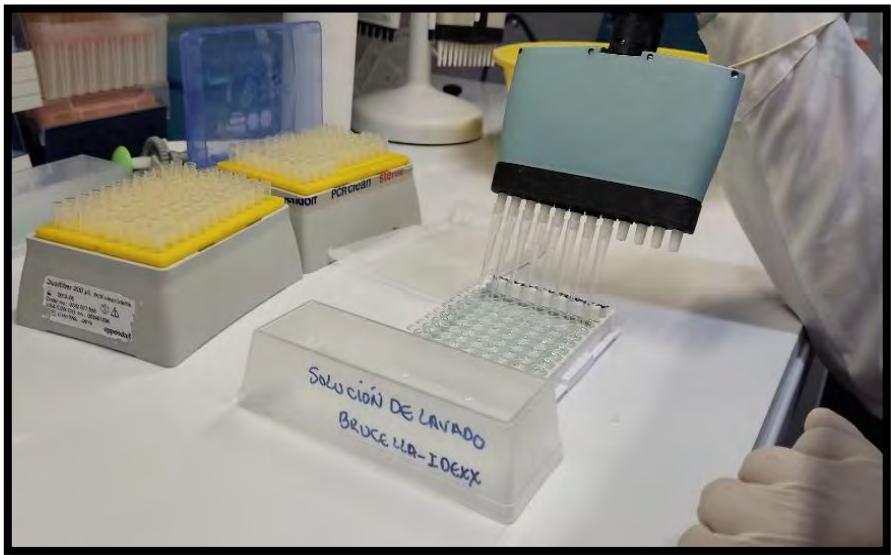


Figura 17. Adición de 100 μ L de sustrato TMB a los pocillos de la placa ELISA.



Figura 18. Adición de 100 μ L de solución de frenado a los pocillos de la placa ELISA.

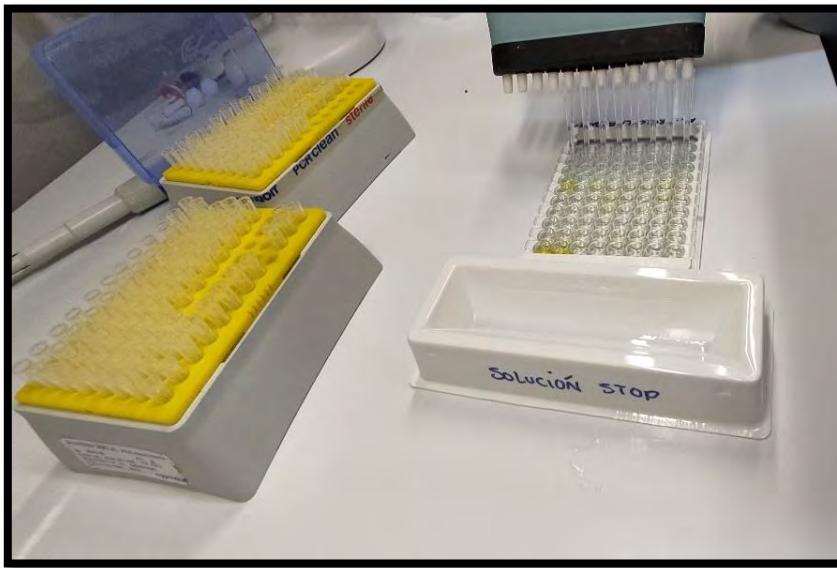
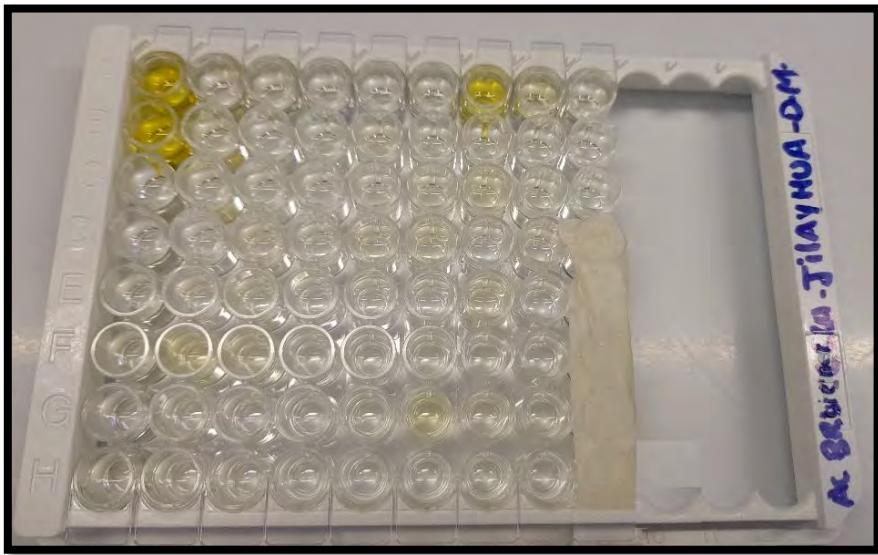


Figura 19. Lectura de las absorbancias de las muestras por espectrofotometría.



Anexo 5. Fotografia de la placa correspondiente a la comunidad de Jilayhua.



Anexo 6. Fotografia de la placa correspondiente a la comunidad de Tungasuca.



Anexo 7. Densidades ópticas de las muestras evaluadas, comunidad de Jilayhua.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	1,948	0,058	0,053	0,063	0,049	0,062	0,756	0,2	0,055
B	1,865	0,134	0,061	0,061	0,095	0,065	0,091	0,058	0,162
C	0,049	0,082	0,062	0,141	0,095	0,095	0,217	0,092	0,069
D	0,048	0,067	0,081	0,07	0,198	0,196	0,059	0,072	
E	0,054	0,116	0,074	0,057	0,059	0,051	0,152	0,055	
F	0,083	0,058	0,078	0,055	0,103	0,07	0,109	0,073	
G	0,068	0,059	0,054	0,058	0,089	0,194	0,17	0,084	
H	0,127	0,081	0,068	0,061	0,061	0,063	0,083	0,067	

Dónde:

A1 y B1 : Densidades ópticas de controles positivos.

C1 y D1 : Densidades ópticas de controles negativos.

E1 a C9 : Densidades ópticas de las muestras evaluadas.

Anexo 8. Densidades ópticas de las muestras evaluadas, comunidad de Tungasuca.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	1,706	0,092	0,054	0,07	0,058	0,068	0,057	0,062	0,678
B	1,574	0,064	0,059	0,133	0,052	0,074	0,059	0,063	0,088
C	0,049	0,05	0,083	0,091	0,092	0,072	0,055	0,082	0,076
D	0,046	0,118	0,059	0,055	0,075	0,07	0,061	0,059	0,097
E	0,071	0,065	0,087	0,089	0,122	0,058	0,18	0,06	
F	0,126	0,054	0,066	0,057	0,168	0,066	0,068	0,054	
G	0,08	0,068	0,113	0,054	0,076	0,053	0,059	0,071	
H	0,072	0,08	0,062	0,082	0,056	0,078	0,16	0,111	

Dónde:

A1 y B1 : Densidades ópticas de controles positivos.

C1 y D1 : Densidades ópticas de controles negativos.

E1 a D9 : Densidades ópticas de las muestras evaluadas.

Anexo 9. Muestra porcentual (%M/P) de las muestras evaluadas, comunidad de Jilayhua.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	102,234	0,511	0,242	0,780	0,027	0,727	38,079	8,154	0,350
B	97,766	4,602	0,673	0,673	2,503	0,888	2,287	0,511	6,109
C	0,027	1,803	0,727	4,978	2,503	2,503	9,069	2,341	1,103
D	-0,027	0,996	1,749	1,157	8,046	7,939	0,565	1,265	
E	0,296	3,633	1,372	0,457	0,565	0,135	5,571	0,350	
F	1,857	0,511	1,588	0,350	2,933	1,157	3,256	1,319	
G	1,050	0,565	0,296	0,511	2,180	7,831	6,539	1,911	
H	4,225	1,749	1,050	0,673	0,673	0,780	1,857	0,996	

Dónde:

A1 y B1 : % M/P de controles positivos.

C1 y D1 : % M/P de controles negativos.

E1 a C9 : % M/P de las muestras evaluadas.

Anexo 10. Muestra porcentual (%M/P) de las muestras evaluadas, Comunidad de Tungasuca.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	104,144	2,794	0,408	1,413	0,659	1,287	0,597	0,911	39,592
B	95,856	1,036	0,722	5,369	0,283	1,664	0,722	0,973	2,543
C	0,094	0,157	2,229	2,732	2,794	1,538	0,471	2,166	1,790
D	-0,094	4,427	0,722	0,471	1,727	1,413	0,848	0,722	3,108
E	1,476	1,099	2,480	2,606	4,678	0,659	8,320	0,785	
F	4,929	0,408	1,162	0,597	7,567	1,162	1,287	0,408	
G	2,041	1,287	4,113	0,408	1,790	0,345	0,722	1,476	
H	1,538	2,041	0,911	2,166	0,534	1,915	7,064	3,987	

Dónde:

A1 y B1 : % M/P de controles positivos.

C1 y D1 : % M/P de controles negativos.

E1 a D9 : % M/P de las muestras evaluadas.

Anexo 11. Resultados para anticuerpos contra *Brucella abortus* correspondiente a vacunos de la comunidad de Jilayhua.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
1	Rebeca Larota	3	19-S/N	BBSS	M	7 meses		-	0,054	0,2960	NEGATIVO
2	Isabel Huilca Larota	15	Pancho	BBSS	M	8 meses		-	0,083	1,8568	NEGATIVO
3	Isabel Huilca Larota	56	Nacho	BBSS	M	8 meses		-	0,068	1,0495	NEGATIVO
4	Isabel Huilca Larota	10	Ostín	BBSS	M	1 año		-	0,127	4,2250	NEGATIVO
5	Isabel Huilca Larota	59	Micaela	BBSS	H	1 año 6 meses		-	0,058	0,5113	NEGATIVO
6	Rebeca Larota	77	Caballo	BBSS	H	1 año 6 meses	1	Celo silencioso	0,134	4,6017	NEGATIVO
7	Rebeca Larota	8	Waldir	BBSS	M	1 año 7 meses		-	0,082	1,8030	NEGATIVO
8	Juan Bautista Apaza Taco	14	Celia	BBSS	H	1 año 7 meses	-	-	0,067	0,9957	NEGATIVO
9	Osvaldo Cuno Dunte	43	Blanca	BBSS	H	2 años	Preñada	-	0,116	3,6329	NEGATIVO
10	Victoriano Coto	61	Flor	BBSS	H	2 años	-	-	0,058	0,5113	NEGATIVO
11	Justina Larota Ccoto	66	589	BBSS	H	2 años	Preñada	-	0,059	0,5651	NEGATIVO
12	Elena Suma Paucar	69	Negra	Criollo	H	2 años		-	0,081	1,7492	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
13	Dino Larota Merma	92	706-Paty	BBSS	H	2 años	-	-	0,053	0,2422	NEGATIVO
14	Dino Larota Merma	94	707	BBSS	H	2 años	-	-	0,061	0,6728	NEGATIVO
15	Tomas Torres Castro	120	713	BBSS	H	2 años	-	-	0,062	0,7266	NEGATIVO
16	Carlos Santos Pauccara Choquehuanca	122	555	BBSS	H	2 años	-	-	0,081	1,7492	NEGATIVO
17	Alejandro Paucara Huanca	125	635	BBSS	H	2 años	Preñada	-	0,074	1,3724	NEGATIVO
18	Alejandro Paucara Huanca	138	633	BBSS	H	2 años	Preñada	-	0,078	1,5877	NEGATIVO
19	Rebeca Larota	9	Flaca	BBSS	H	2 años 6 meses		-	0,054	0,2960	NEGATIVO
20	Rebeca Larota	53	Chata	BBSS	H	2 años 6 meses	1	-	0,068	1,0495	NEGATIVO
21	Rebeca Larota	64	Sulma	BBSS	H	2 años 6 meses	1	Celo silencioso	0,063	0,7804	NEGATIVO
22	Gustavo Cuno Larota	6	Marta	BBSS	H	2 años 6 meses	1 parto	Celo silencioso	0,061	0,6728	NEGATIVO
23	Luis Aurelio Paipe Salinas	19	Frecia linda	BBSS	H	3 años	1	-	0,141	4,9785	NEGATIVO
24	Elena Suma Paucar	20	Blanca	BBSS	H	3 años	1	-	0,07	1,1572	NEGATIVO
25	Florencia Soncco Martínez	40	Masha	BBSS	H	3 años	1	-	0,057	0,4575	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
26	Victoriano Coto	73	656-lola	BBSS	H	3 años	-	-	0,055	0,3498	NEGATIVO
27	Aniceto Larota Huanca	98	537	BBSS	H	3 años	-	-	0,058	0,5113	NEGATIVO
28	Sotero Leónidas Coto Paucara	119	Rus	BBSS	H	3 años	-	-	0,061	0,6728	NEGATIVO
29	Victoriano Coto	129	655	BBSS	H	3 años	-	-	0,049	0,0269	NEGATIVO
30	Moisés Candía Bustamante	1	Tika	Simental	H	4 años	3	-	0,095	2,5027	NEGATIVO
31	Moisés Candía Bustamante	13	Blanca	BBSS	H	4 años	3	-	0,095	2,5027	NEGATIVO
32	Carlos Santos Paucara Choquehuanca	89	551	HB	H	4 años	-	-	0,198	8,0463	NEGATIVO
33	Rebeca Larota	52	Princesa	BBSS	H	4 años	3	Celo silencioso	0,059	0,5651	NEGATIVO
34	Salomón Abad Merma	76	628	BBSS	H	4 años	-	-	0,103	2,9333	NEGATIVO
35	Ana María Larota Catunta	99	546-Savi	BBSS	H	4 años	-	-	0,089	2,1798	NEGATIVO
36	Victoria Juliana Larota Ccoto	107	584	BBSS	H	4 años	-	-	0,061	0,6728	NEGATIVO
37	Victoria Juliana Larota Ccoto	114	581	BBSS	H	4 años	Preñada	-	0,062	0,7266	NEGATIVO
38	Alejandro Paucara Huanca	117	634	BBSS	H	4 años	Preñada	-	0,065	0,8881	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
39	Tomas Torres Castro	124	711	BBSS	H	4 años	-	-	0,095	25,027	NEGATIVO
40	Florencia Soncco Martínez	16	Romina	BBSS	H	5 años	3	Celo silencioso	0,196	79,386	NEGATIVO
41	Juan Bautista Apaza Taco	38	Dunia	BBSS	H	5 años	3	-	0,051	0,1346	NEGATIVO
42	Miguel Ángel Ccoto Huallpa	47	560-Katy	BBSS	H	5 años	-	-	0,07	11,572	NEGATIVO
43	Sotero Leónidas Coto Paucara	71	624	BBSS	H	5 años	-	-	0,194	78,310	NEGATIVO
44	Leoncio Paucara Merma	106	620	BBSS	H	5 años	Preñada	-	0,063	0,7804	NEGATIVO
45	Leoncio Paucara Merma	108	615-Dora	BBSS	H	5 años	-	-	0,756	380,78 6	NEGATIVO
46	Osvaldo Cuno Dunte	123	690	BBSS	H	5 años	-	-	0,091	22,874	NEGATIVO
47	Osvaldo Cuno Dunte	128	688	BBSS	H	5 años	Preñada	-	0,217	90,689	NEGATIVO
48	Luis Aurelio Paipe Salinas	97	Juana	BBSS	H	5 años	3	-	0,059	0,5651	NEGATIVO
49	Reinaldo Larota Ccoto	141	578	BBSS	H	5 años	-	-	0,152	55,705	NEGATIVO
50	Rebeca Larota	11	Negra	BBSS	H	6 años	4	-	0,109	32,562	NEGATIVO
51	Isabel Huilca Larota	18	Blanca Pequeña	BBSS	H	6 años	2	-	0,17	65,393	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
52	Elena Suma Paucar	51	Gorda	BBSS	H	6 años	4	Celo silencioso	0,083	18,568	NEGATIVO
53	Juan Basilides Tacusi Calloquispe	68	607-Lila	BBSS	H	6 años	-	-	0,2	81,539	NEGATIVO
54	Victoria Juliana Larota Ccoto	102	582	BBSS	H	6 años	Preñada	-	0,058	0,5113	NEGATIVO
55	Sotero L. Coto Paucara	111	621-Blanca	BBSS	H	6 años	Preñada	-	0,092	23,412	NEGATIVO
56	Carlos Santos Paucara Choquehuanca	116	552	BBSS	H	6 años	-	-	0,072	12,648	NEGATIVO
57	Simón Larota Quispe	118	579	BBSS	H	6 años	3	-	0,055	0,3498	NEGATIVO
58	Leoncio Paucara Merma	131	618	BBSS	H	6 años	Preñada	-	0,073	13,186	NEGATIVO
59	Miguel Ángel Ccoto Huallpa	137	559	BBSS	H	6 años	-	-	0,084	19,107	NEGATIVO
60	Dionisia G. Huayllapuma de Cuno	142	Nicolasa	BBSS	H	6 años	5	-	0,067	0,9957	NEGATIVO
61	Victoriano Coto	60	Bety	BBSS	H	7 años	-	-	0,055	0,3498	NEGATIVO
62	Aniceto Larota Huanca	96	540-Flor	BBSS	H	7 años	-	-	0,162	61,087	NEGATIVO
63	Sotero Leónidas Coto Paucara	112	623	BBSS	H	7 años	Preñada	-	0,069	11,033	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Anexo 12. Resultados para anticuerpos contra *Brucella abortus* correspondiente a vacunos de la comunidad de Tungasuca.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
1	Natividad Mamani Yana	22	Urpi	BBSS	H	1 año	-	-	0,071	1,4757	NEGATIVO
2	Margarita Mamani	29	207-SN-1	BBSS	M	1 año	-	-	0,126	4,9294	NEGATIVO
3	Jacinto Sarca	135	1774	hibrido	H	1 año	-	-	0,08	2,0408	NEGATIVO
4	Victoriano Phura Molina	62	Lucero	BBSS	H	1 año	Preñada	-	0,072	1,5385	NEGATIVO
5	Margarita Mamani	78	210-5	Simental	M	1 año	-	-	0,092	2,7943	NEGATIVO
6	Margarita Mamani	31	Miel	BBSS	H	1 año 3 meses	-	Verruga	0,064	1,0361	NEGATIVO
7	Victoriano Phura Molina	17	Abejita	BBSS	H	1 año 6 meses	-	-	0,05	0,1570	NEGATIVO
8	Gladis Apaza	84	Rosa-4594	hibrido	H	1 año 6 meses	1	-	0,118	4,4270	NEGATIVO
9	Diocelina Montalvo Zapata	85	11055	BBSS	H	1 año 6 meses	-	-	0,065	1,0989	NEGATIVO
10	Alvina Corrales Holgado	21	Dino	BBSS	M	2 años	-		0,054	0,4082	NEGATIVO
11	Juliana Huayllas Yana	58	Mefertari-011084	BBSS	H	2 años	-	-	0,068	1,2873	NEGATIVO
12	Lucia Layme Puchó	127	5468	hibrido	H	2 años	-	-	0,08	2,0408	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
13	Basilia Layme Conde	139	Justino	BBSS	M	2 años	-	-	0,054	0,4082	NEGATIVO
14	Diocelina Montalvo Zapata	79	Pilar	BBSS	H	3 años	1	-	0,059	0,7221	NEGATIVO
15	Victoriano Phura molina	83	Chola	BBSS	H	3 años	1	-	0,083	2,2292	NEGATIVO
16	Margarita Mamani	26	Luna	BBSS	H	4 años	0	Celo silencioso	0,059	0,7221	NEGATIVO
17	Margarita Mamani	30	Flaca	BBSS	H	4 años	1	-	0,087	2,4804	NEGATIVO
18	Hilaria Úrsula Zapata Meléndez	45	Cachuda	BBSS	H	4 años	Preñada	-	0,066	1,1617	NEGATIVO
19	Leoncio Ticle Quehue	80	Viki	BBSS	H	4 años	-	-	0,113	4,1130	NEGATIVO
20	Macario Juli Nina Condeño	100	Blanca	hibrido	H	4 años	1	-	0,062	0,9105	NEGATIVO
21	Basilia Layme Conde	105	Dominga	BBSS	H	4 años	3	-	0,07	1,4129	NEGATIVO
22	Crispín Tomayconsa Flores	33	11062	BBSS	H	5 años	Preñada	-	0,133	5,3689	NEGATIVO
23	Telesforo Sarabia Nina	36	Perfidia	BBSS	H	5 años	2	-	0,091	2,7316	NEGATIVO
24	Macario Juli Nina Condeño	48	Aceituna	hibrido	H	5 años	2	-	0,055	0,4710	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
25	Victoriano Phura Molina	63	Vicky	BBSS	H	5 años	Preñada	-	0,089	2,6060	NEGATIVO
26	Juliana Huayllas Yana	72	Luna-011087	BBSS	H	5 años	2	-	0,057	0,5965	NEGATIVO
27	Hilaria Úrsula Zapata Meléndez	82	Rosa	BBSS	H	5 años	Preñada	-	0,054	0,4082	NEGATIVO
28	Diocelina Montalvo Zapata	88	11051	BBSS	H	5 años	Preñada	-	0,082	2,1664	NEGATIVO
29	Margarita Mamani	23	Blanca	BBSS	H	6 años	3	-	0,058	0,6593	NEGATIVO
30	Maritza Aguilar	50	Blanca	BBSS	H	6 años	5	-	0,052	0,2826	NEGATIVO
31	Macario Juli Nina Condeño	86	Bety	hibrido	H	6 años	3	-	0,092	2,7943	NEGATIVO
32	Crispín Tomayconsa Flores	87	11064	BBSS	H	7 años	4	-	0,075	1,7268	NEGATIVO
33	Hilaria Úrsula Zapata Meléndez	90	180	BBSS	H	7 años	4	-	0,122	4,6782	NEGATIVO
34	Telesforo Sarabia Nina	91	Canela	BBSS	H	7 años	4	-	0,168	7,5667	NEGATIVO
35	Leoncio Ticle Quehue	113	Lila-011077	BBSS	H	7 años	4	-	0,076	1,7896	NEGATIVO
36	Margarita Mamani	126	Alinda	BBSS	H	7 años	3	-	0,056	0,5338	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
37	Juliana Huayllas Yana	37	Pansi-011083	BBSS	H	8 años	5	-	0,068	1,2873	NEGATIVO
38	Jacinto Sarca	65	1812	hibrido	H	8 años	5	-	0,074	1,6641	NEGATIVO
39	Margarita Mamani	34	Lola	BBSS	H	9 años	8	-	0,072	1,5385	NEGATIVO
40	Juliana Huayllas Yana	57	Gringa-011086	BBSS	H	10 años	7	-	0,07	1,4129	NEGATIVO
41	Leoncio Ticle Quehue	35	Bertha	BBSS	H	10 años	6	-	0,058	0,6593	NEGATIVO
42	Juliana Huayllas Yana	110	Gloria-011088	BBSS	H	10 años	7	-	0,066	1,1617	NEGATIVO
43	Gloria Apaza Nina	42	Negra	BBSS	H	2 años	-	-	0,053	0,3454	NEGATIVO
44	Gloria Apaza Nina	133	Blanca	BBSS	H	2 años y 6 meses	-	-	0,078	1,9152	NEGATIVO
45	Alvina Corrales Holgado	74	Meleci	BBSS	H	2 años y 6 meses	-	-	0,057	0,5965	NEGATIVO
46	Víctor Huaraya Roque	24	Casandra	BBSS	H	4 años	2	-	0,059	0,7221	NEGATIVO
47	Yeny Quispe Ayma	25	8-Lucero	BBSS	H	4 años	2	-	0,055	0,4710	NEGATIVO
48	Alvina Corrales Holgado	27	María	BBSS	H	4 años	1	-	0,061	0,8477	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
49	Braulio Mamani Nina	28	Bertha	BBSS	H	4 años	2	-	0,18	8,3203	NEGATIVO
50	Yeny Quispe Ayma	32	7-SN	BBSS	H	4 años	1	-	0,068	1,2873	NEGATIVO
51	Fabiana Nina Condeña	44	Tula	BBSS	H	6 años	3	-	0,059	0,7221	NEGATIVO
52	Olger Aguilar	46	5-Margarita	BBSS	H	6 años	3	-	0,16	7,0644	NEGATIVO
53	Alvina Corrales Holgado	70	Yesi	BBSS	H	5 años	2	Celo silencioso	0,062	0,9105	NEGATIVO
54	Gloria Apaza Nina	81	13-SA	BBSS	H	5 años	3	-	0,063	0,9733	NEGATIVO
55	Víctor Aparicio Laso	115	Perla-1534	BBSS	H	8 años	5	-	0,082	2,1664	NEGATIVO
56	Víctor Aparicio Laso	109	Isis	BBSS	H	7 años	4	-	0,059	0,7221	NEGATIVO
57	Natividad Mamani Yana	140	Mary-11017	BBSS	H	5 años	3	-	0,06	0,7849	NEGATIVO
58	Olger Aguilar	93	6-S/A	BBSS	H	6 años	4	-	0,054	0,4082	NEGATIVO
59	Maritza Aguilar	39	Martha	BBSS	H	4 años	2	-	0,071	1,4757	NEGATIVO
60	Leoncio Ticle Quehue	41	Lola	BBSS	H	3 años	1	-	0,111	3,9874	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.

Nº	Nombre del propietario	Nº Muestra	Identificación del vacuno	Raza	Sexo	Edad	Nº de partos	Observación	Resultados para anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>		
									DO	% M/P	Diagnóstico
61	Simón Larota Quispe	103	574	BBSS	H	10 meses	-	-	0,678	39,5918	NEGATIVO
62	Justina Larota Ccoto	104	586	BBSS	H	2 años	Preñada	-	0,088	2,5432	NEGATIVO
63	Luis Aurelio Paipe Salinas	95	Camila	BBSS	H	1 año	-	-	0,076	1,7896	NEGATIVO
64	Miguel Ángel Ccoto Huallpa	49	561	BBSS	H	1 año 5 meses	-	-	0,097	3,1083	NEGATIVO

Fuente: Elaboración propia.