

## RESUMEN

*Brucella abortus* es una bacteria Gram negativa del género *Brucella* que afecta a diferentes especies animales así como a humanos, considerada como el agente infeccioso principal de la brucelosis bovina. El control de la enfermedad en Ecuador se basa en el sacrificio de los animales enfermos y la vacunación. El uso de la vacuna Cepa 19 presenta un reto en el diagnóstico por la presencia de falsos positivos, impidiendo una discriminación adecuada entre animales sanos vacunados y enfermos, generando pérdidas económicas importantes en la industria pecuaria. El presente trabajo de investigación busca la optimización del ensayo inmunoenzimático competitivo (cELISA) como una alternativa confiable para el diagnóstico de brucelosis en el ganado bovino, discriminando los falsos positivos y facilitando el control de la enfermedad. Las muestras de suero bovino del estudio fueron obtenidas de otras investigaciones realizados en el Laboratorio de Biotecnología Animal de la Universidad de las Fuerzas Armadas–ESPE, recolectando un total de 141 muestras procedentes de la parroquia San Pedro de Suma (El Carmen, Manabí) y la Isla Santa Cruz (Galápagos), además de 25 muestras de suero bovino procedentes de AGROCALIDAD. La prueba cELISA se optimizó a una concentración de antígeno lipopolisacárido (LPS) de 1 µg/mL, dilución de suero 1/50, dilución del anticuerpo monoclonal 7F9 1/320, conjugado HRP IgG anti-ratón (Kit comercial) 1/2; con un punto de corte de 26.88% de inhibición. La aplicación de la prueba cELISA determinó la prevalencia aparente de 42.86%, 1.18% y 16% para las muestras del cantón El Carmen, Isla Santa Cruz y AGROCALIDAD, respectivamente. La validación de la prueba estableció una sensibilidad y especificidad del 83.33%, coeficiente de variación del 10.67% y coeficiente de correlación intra-clase del 83.62% (Kappa=0.727, p<0.05). Los resultados obtenidos indican la necesidad de mejorar las técnicas de diagnóstico para el control y prevención de la brucelosis en el país.

### **PALABRAS CLAVES:**

- **BRUCELOSIS**
- ***Brucella* spp.**
- **ELISA COMPETITIVO**
- **ELISA INDIRECTO**
- **ANTICUERPO MONOCLONAL 7F9**

## ABSTRACT

*Brucella abortus* is a Gram-negative bacterium of the genus *Brucella* that affects different animal species as well as humans, considered as the main infectious agent of bovine brucellosis. The control of the disease in Ecuador is based on the sacrifice of sick animals and vaccination. The use of the Strain 19 vaccine presents a diagnostic challenge due to the presence of false positives, preventing adequate discrimination between healthy vaccinated and sick animals, generating significant economic losses in the livestock industry. The aim of this research was the optimization of the competitive immunoenzymatic assay (cELISA) as a reliable alternative for the diagnosis of brucellosis in cattle, discriminating false positives and helping the control of the disease. The bovine serum samples from the study were obtained from other research projects carried out in the Animal Biotechnology Laboratory of Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, collecting a total of 141 samples from San Pedro de Suma (El Carmen, Manabí), and Santa Cruz Island (Galápagos). In addition, 25 samples of bovine serum from AGROCALIDAD were obtained. The cELISA test was optimized at a concentration of lipopolysaccharide antigen (LPS) of 1 µg/mL, dilution of serum 1/50, dilution of monoclonal antibody 7F9 1/320, HRP conjugate goat anti-mouse IgG (commercial kit) 1/2; with a cutoff point of 26.88% of inhibition. The application of the cELISA test determined the apparent prevalence of 42.86%, 1.18% and 16% for the samples from El Carmen, Santa Cruz Island and AGROCALIDAD, respectively. The validation of the test established a sensitivity and specificity of 83.33%, a coefficient of variation of 10.67% and an intra-class correlation coefficient of 83.62% (Kappa=0.727, p<0.05). The results obtained indicate the need to improve the diagnostic techniques for the control and prevention of brucellosis in the country.

### KEYWORDS:

- **BRUCELLOSIS**
- *Brucella* spp.
- **COMPETITIVE ELISA**
- **INDIRECT ELISA**
- **MONOCLONAL ANTIBODY 7F9**