



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
Facultad de Ciencias Veterinarias
Instituto de Microbiología
Facultad de Ciencias

Validación de un Enzimo Inmunoensayo indirecto y ensayo de fluorescencia polarizada para la detección de anticuerpos *ANTI-BRUCELLA ABORTUS* en leche

Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de **LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA.**

Esteban Andrés Wojciechowski Alvarez
Valdivia Chile 1999

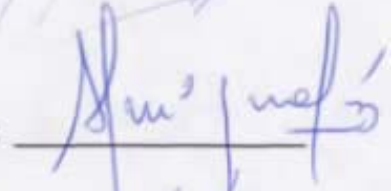
PROFESOR PATROCINANTE

Dra. Ximena Rojas



PROFESOR COPATROCINANTE

Dra. Benigna Pérez

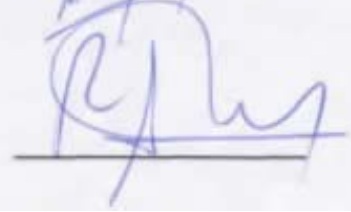


PROFESORES CALIFICADORES

Dr. Nestor Tadich



Dr. Rafael Tamayo



FECHA DE APROBACION

21 de Octubre de 1999

INDICE

Contenido	Página
Resumen	1
Summary	2
Introducción	3
Materiales y métodos	7
Resultados	17
Discusión	24
Bibliografía	28
Anexos	30

1. RESUMEN

Validación de un Enzimo Inmunoensayo Indirecto y Fluorescencia Polarizada para la detección de anticuerpos *anti-Brucella abortus* en leche.

En Chile, como en muchos países de Latinoamérica, la brucelosis bovina es una enfermedad enzootica que provoca grandes pérdidas a la ganadería y además genera problemas en salud pública por tratarse de una zoonosis.

Los pilares del control requieren de un diagnóstico oficial. Hasta la fecha en leche se tenía como único método de diagnóstico el Ring Test, el cual presenta el inconveniente de presentar animales falsos positivos cuando en el muestreo se incluyen leches de tipo mastíticas o calostrales.

Así, el objetivo de este trabajo fue validar un Enzimo Inmunoensayo Indirecto y Fluorescencia Polarizada para detectar anticuerpos anti-*Brucella abortus* en leche.

Las muestras de leche provenían de tres estratos: animales negativos (313), animales negativos vacunados con RB-51 (316) y animales infectados (339).

El I-ELISA usado en leche se realizó con lipopolisacárido de *Brucella* como antígeno (LPS); anticuerpo monoclonal para IgG. 1 de bovino conjugado con peroxidasa de rábano picante (M 23), como sustrato agua oxigenada y cromógeno ABTS.

Para Fluorescencia Polarizada se utilizó antígeno cadena O conjugado con fluoresceína.

Los resultados señalan que el umbral de positividad para I-ELISA en leche se ubicó en el 14%, en tanto que para FP se ubicó en un 85 mP. La sensibilidad de I-ELISA es de un 100% al igual que la especificidad; FP tuvo una sensibilidad de un 97% y una especificidad de un 99%.

Como conclusión se puede decir que tanto I-ELISA como FP son dos buenas alternativas para tener en cuenta para el diagnóstico brucelosis en leche debido a sus buenas sensibilidades y especificidades diagnósticas.

2. SUMMARY

Validation of an Indirect Enzyme Immunosorbent Assay and Fluorescence Polarization for detection of *Brucella abortus* antibodies in milk.

In Chile, as in several other Latin American countries, bovine brucellosis is an enzootic disease which produce big losses to the livestock and in public health because it is a zoonosis.

The pillars of control requieres an official diagnosis. Until date in milk we had as the only method of diagnosis the Ring Test, which has the inconvenient of display false positive animals when in the sample are included mastitics or calostrals milks.

The aim of this study was to validate an Indirect Immunosorbent Assay and Fluorescence Polarization Assay for detection of *Brucella abortus* antibodies in milk.

Milk samples were divided into three groups: negative animals (313), negative animals vaccinated with strain RB 51 (316) and infected animals (339).

The I-Elisa used in milk was carried out with Brucella lipopolysacharide (LPS) as antigen, mouse monoclonal antibody to bovine Ig G1 conjugated with horseradish peroxidase (M23), an the chromogen was ABTS.

For Fluorescence Polarization the O-chain from *B. abortus* LPS fluorescein conjugated was used as antigen.

Results showed a cut-off of 14% for I-Elisa in milk, meanwhile that for FP was 85 mP.

The I-Elisa specrficity and sensitivity were 100%. The FP sensibility and specificity were 97% and 99% respectively.

As a conclusion we can say that I-ELISA as FP are two good choises to considered for the diagnosis of brucelosis in milk due to their good diagnosis sensibilities and specifities.

3. INTRODUCCIÓN

La brucelosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa, zoonótica, ampliamente distribuida en el mundo, causada principalmente por *Brucella abortus* (B. abortus) (Blood y col., 1988). Desde el punto de vista económico, produce grandes pérdidas a la ganadería, las cuales se pueden resumir en abortos, nacimiento de crías débiles, retenciones placentarias, mayores lapsos interparto, y reducción del período de lactancia. Tampoco se puede dejar de mencionar las limitaciones al comercio internacional que provoca esta enfermedad. Por ejemplo, en el marco del Mercosur, se han establecido restricciones entre los países, que establecen que los bovinos que se intercambien sean seronegativos a *Brucella abortus* (Argentina, 1998). La estimación de pérdidas en explotaciones bovinas señalan un 20% en leche; un 18% en carne a raíz de los abortos y un 10% por eliminación y reposición de hembras (Chile, 1997).

Por estas razones, en muchos países se han implantado acciones de profilaxis y control basados principalmente en el diagnóstico, eliminación de reactores positivos y vacunación. El diagnóstico es uno de los pilares fundamentales en la lucha contra la brucelosis. Para entender el diagnóstico es necesario conocer el agente en sí y la respuesta que desencadena.

Además, esta enfermedad tiene importancia en Salud Pública ya que el hombre se puede contagiar accidentalmente y contraer el cuadro clínico conocido como fiebre ondulante (Corbel, 1984).

La *B. abortus* es una bacteria de forma cocobacilar, aeróbica, gram negativa, inmóvil, que se caracteriza por ser un parásito intracelular, capaz de multiplicarse y sobrevivir en una variedad de células del huésped, en particular las células fagocíticas o macrófagos, lo cual induce una respuesta inmune cuyos efectores son de tipo humoral y celular. Su envoltura celular consta de una membrana citoplasmática y también de una membrana externa que contiene lipopolisacáridos (LPS), proteínas y lípidos. El antígeno inmunodominante en su superficie es el LPS, siendo de gran ayuda en pruebas diagnósticas como suspensiones celulares o sus extractos (Corbel y Brinley-Morgan, 1984).

El LPS se compone de tres fracciones, un lípido A, una cadena corta de azúcares (KDO) y una cadena larga (cadena O). Este induce, en el animal que infecta, producción de anticuerpos especialmente dirigidos contra la cadena O. Esta respuesta humoral depende de los linfocitos B siendo sus efectores las inmunoglobulinas. En consecuencia, el LPS, al ser usado como antígeno en pruebas de diagnóstico, ya sea como suspensiones de la bacteria entera o en fracciones,

como lo son sólo el LPS o la fracción cadena O del LPS, permite pesquisar dichos anticuerpos. Si bien es cierto que la respuesta humoral no juega un rol de importancia en la protección del animal pues la respuesta protectora está mediada celularmente, la importancia de ellos radica entonces en que permiten detectar los animales infectados (Smith y Fitzgeorge, 1964).

El diagnóstico serológico se inició hace un siglo atrás, implementándose muchos cambios en el tiempo, siempre tendientes a mejorar la sensibilidad y especificidad de ellos. Así, los procedimientos de control para brucelosis están siendo continuamente evaluados, dándose especial énfasis a identificar el problema en rebaños (Nielsen y Duncan, 1995).

Si bien es cierto, las observaciones clínicas y epidemiológicas sobre la presencia de *Brucella* sp. idealmente se confirman por el aislamiento bacteriológico del agente. Sin embargo, dicho aislamiento puede ser dificultoso, consumir tiempo, tiene un alto costo y reviste peligro para los laboratoristas. Además, el mayor índice de aislamiento se obtiene de los fetos abortados, en consecuencia no puede realizarse en cualquier momento de la vida del animal. Por ello, el diagnóstico serológico tiene fundamental importancia.

Las pruebas serológicas convencionales como pruebas de aglutinación, fijación de complemento y pruebas de precipitación con todas sus modificaciones, presentan algunos problemas relacionados con su especificidad y sensibilidad y por años diferentes investigadores han buscado la fórmula de subsanar estos inconvenientes. Se ha hecho evidente que estas pruebas serán reemplazadas por los ensayos de unión primaria. Entre los diferentes ensayos de unión primaria, está el enzimo inmunoensayo el cual, con todos sus formatos, es de elección favorita debido a los peligros inherentes a los radioisótopos utilizados en radioinmunoensayos y por la falta de amplificación otorgada por los fluorocromos en las pruebas de anticuerpos fluorescentes (Sin embargo, los ensayos de fluorescencia polarizada originalmente utilizados en detección de drogas, son factibles de usar para igual fin (Nielsen y col, 1996).

El enzimoimmuno ensayo se define como un procedimiento de prueba que utiliza reactivos inmunológicos que pueden ser utilizados para la detección de antígenos mediante el uso de anticuerpos específicos o, para la detección de anticuerpos por su reconocimiento de antígeno (Nielsen y col., 1996)

Estos ensayos son ventajosos porque para que los anticuerpos sean medidos sólo deben realizar su función primaria, es decir, unirse al antígeno. Además, ellos pueden estandarizarse rápidamente a gran escala, son altamente precisos y relativamente fáciles de realizar en un corto tiempo. Dentro de las desventajas estaban su alto precio, el requerir de personal entrenado, equipamiento y reactivos biológicos especiales, incluyendo algunos que no se expendían comercialmente. Específicamente en los enzimo inmunoensayos para la detección de anticuerpos

antibrucella, estas limitaciones se han ido paulatinamente superando. En Chile y en Latinoamérica existe personal adiestrado gracias a cursos financiados, entre otras, por la Universidad de las Naciones Unidas (UNU) y la Agencia Internacional de Energía Nuclear (IAEA). Respecto de los reactivos biológicos, ellos han sido proporcionados por la IAEA y el Animal Diseases Research Institute de Canadá (ADRI). Actualmente ya se encuentran en el mercado internacional algunos kits comerciales.

Por otra parte, la masificación del uso de ELISA para el diagnóstico de diferentes enfermedades disminuyó los costos, por ejemplo, porque permite la utilización de toda la placa y a su vez por compra de insumos en grandes cantidades.

Posterior al montaje de enzimo inmunoensayos para diagnóstico de brucelosis, se experimentó en el uso de ensayos de fluorescencia polarizada. Estos ensayos permiten la detección de anticuerpos mediante el uso de antígenos marcados con fluoresceína. Cuando este antígeno marcado es excitado con luz polarizada plana, emite luz en el mismo plano del rayo de excitación. En la rotación posterior de estas moléculas vuelven a ser activadas por un rayo de diferente ángulo al primero. Si la molécula medida es el antígeno sólo, su movilidad es mayor que si se ha unido al anticuerpo correspondiente lo que es pesquisado por un analizador de fluorescencia polarizada (Lakowicz, 1986). En otros términos, si el suero problema no contiene anticuerpos para ese antígeno, su eje de rotación es mayor que si la muestra tiene el anticuerpo específico para ese antígeno. Ello se debe a que el peso del antígeno aumenta notablemente porque a él se suma el peso del anticuerpo que se le unió.

Comparativamente su ejecución es más simple y mucho más rápida por la menor cantidad de pasos, reduciendo con ello el costo. A modo de ejemplo, dentro de las técnicas con alta sensibilidad y especificidad Fijación de Complemento demora aproximadamente 2 días, Elisa Indirecto aproximadamente 15 horas (considerando la incubación del antígeno) y Fluorescencia Polarizada 3 minutos.

Si bien es cierto que al igual que ELISA requiere un equipo analizador, los costos de este resultarán amortizados mediante uso masivo el que podría incluir diagnóstico de otras enfermedades, detección de drogas, antibióticos, etc.

A la fecha, para brucelosis esta es una técnica que ha sido reportada por Nielsen y col. (1996) y que al igual que ELISA requiere su validación en cada país que quiera introducirla, conforme a cual sea su realidad epidemiológica.

La epidemiología de la brucelosis es muy compleja dependiendo de factores como ser: área geográfica, técnicas de manejo, relación hospedador-parásito, afectando de este modo el control en las poblaciones, pues como es sabido esta enfermedad es de difícil control.

Así, en el año 1975 el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) inició el Programa de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina, el cual se basó en la vacunación de terneras entre los tres y ocho meses de edad con Cepa 19, diagnóstico serológico periódico del rebaño, y manejo que sugería la eliminación de todos los animales reaccionantes positivos del predio. El impacto de este programa se evidenció, con la disminución de la prevalencia de la Brucelosis bovina de 7% (1975) a 2.9% (1987). No obstante, la estabilización de la prevalencia (2.4% en 1991) preocupó a las autoridades del SAG razón por la cual en 1991 se inició un Programa de Erradicación de Brucelosis bovina en el país (SAG, 1997). Este programa contempla como técnicas de diagnóstico oficiales en suero sanguíneo, Rosa de Bengala (RB), Fijación del Complemento (FC) y recientemente (1998) fue aceptada ELISA de Competencia (C-ELISA). La primera se usa como prueba tamiz, pues posee alta sensibilidad y aunque presenta falsos positivos, ha logrado buenos resultados. Como prueba definitiva se emplea FC, que pese a su alta sensibilidad y especificidad, tiene dificultades de ejecución y estandarización. Es por esta razón que está siendo reemplazada por C-ELISA.

En la leche se utiliza en forma oficial la prueba del anillo (RT), la cual presenta el inconveniente de presentar animales falsos positivos cuando el muestreo incluye leches calostrales o mastíticas. Por esto se han continuado los estudios en busca de una prueba de gran sensibilidad y especificidad que detecte a los rebaños infectados.

Este trabajo pretende entregar nuevas alternativas a la tradicional Prueba del Anillo o Ring Test (RT) para el diagnóstico de brucelosis en leche. Para ello se quieren validar las pruebas de un Enzimo inmunoensayo Indirecto y Fluorescencia Polarizada para la detección de anticuerpos *anti-Brucella abortus* en leche. Se establecerá para cada prueba un valores umbrales (cut-off) tendientes a obtener resultados que se ajusten a la realidad ganadera nacional.

Con ello el objetivo de este estudio fue determinar la factibilidad de reemplazar el método de diagnóstico actualmente en uso por I-ELISA O FP si es que la sensibilidad y especificidad son mejores.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 MATERIALES.

4.1.1 MUESTRAS.

Las muestras de leche fueron tomadas de los siguientes grupos de estudio.

a) Trescientas trece (313) muestras de leche de hembras bovinas pertenecientes a distintos rebaños de áreas libres de Chiloé donde históricamente no se ha presentado la enfermedad, siendo corroborado por exámenes serológicos seriados.

b) Trescientas dieciséis (316) muestras de leche de hembras bovinas vacunadas entre los 3-10 meses con vacuna RB-51 en concentración de 10 a 34 billones de bacterias por dosis, pertenecientes a rebaños negativos.

c) Trescientas treinta y nueve (339) muestras de leche de hembras bovinas positivas a *Brucella abortus*, de las cuales en ciento dieciséis (116) se logró aislar a *Brucella abortus*.

4.1.2 EQUIPOS DE LABORATORIO.

a) Ring Test. (RT)

- Estufa 37° C.
- Tubos de ensayo de 14 x 100 mm.
- Pipeta calibrada para 30-1000 ul.
- Puntillas.

b) Elisa Indirecta. (I-ELISA)

- Fotómetro lector de Elisa, con filtro de 414 nm (modelo Multiskan Plus MKII).
- Agitador de microplacas.

- Lavador manual de microplacas.
- Pipetas simples y multicanales de 5-1000 ul.
- Puntilla de pipetas.
- Microplacas de poliestireno NUNC polisorb N° 2- 69620.
- Sistema purificador de agua Multi-Q (tipo 1.18 meg/nm).
- Impresora Epson FX-850.
- Computador compatible.
- Software de Elisa versión 2.20.

c) Fluorescencia Polarizada. (FP)

- Tubos de ensayo de borosilicato de 75 mm de largo por 10 mm de ancho.
- Pipeta para 2 ml.
- Pipeta para 20-100 ul.
- Puntillas.
- Analizador de Fluorescencia Polarizada.

4.1.3 REACTIVOS BIOLÓGICOS.

a) Ring Test : Antígeno, producido por Universidad Austral de Chile - Instituto de Microbiología, Facultad de Ciencias.

b) Elisa Indirecto:

- Antígeno s-LPS, producido por el Animal Diseases Research Institute de Canadá (ADRI- CANADÁ).
- Anticuerpo monoclonal anti IgG1 bovina (M23) hecho en ratón y conjugado con la enzima peroxidasa (ADRI-CANADA).

- Leches control
 - M++ leche positiva.
 - M- leche negativa.

c) Fluorescencia Polarizada:

- Antígeno cadena O conjugado con fluoresceína (ADRI Nepean Canadá).

4.1.4 REACTIVOS QUIMICOS.

a) Elisa Indirecto.

- Buffer de adsorción: tampón carbonato/ bicarbonato 0.05M, Ph 9.6+/- 0.05.

NaHCO ₃	2.93 g/l.
--------------------	-----------

Na ₂ CO ₃	1.59 g/l.
---------------------------------	-----------

- Buffer de lavado: tampón fosfato salino 0.01 M, Ph 7.4+/- 0.2.

Na ₂ HP0 ₄	1.10 g/l.
----------------------------------	-----------

NaH ₂ P0 ₄ x2H ₂ 0	0.41 g/l.
---	-----------

NaCl	8.55 g/l.
------	-----------

Twen20 0.05%	0.50 ml.
--------------	----------

- Buffer de dilución: es el buffer de lavado adicionado con EDTA y EGTA

- Buffer sustrato : tampón citrato / ácido cítrico 0.05M, Ph 4.5 +/- 0.05.

Citrato de Sodio	6.70 g/l.
------------------	-----------

Acido Cítrico	4.52 g/l.
---------------	-----------

- Solución sustrato (para una placa):

Buffer sustrato	12 ml.
Peróxido de hidrógeno 3%	0.06 ml.
ABTS 40mM	0.30 ml.

b) Fluorescencia Polarizada:

Buffer fosfato adicionado con Litiododecyl sulfato.

Buffer fosfato 0,01 M , pH 7,4.

NaCl 0,15M.

Na 0,1%.

Litiododecyl Sulfato (PBS/A/L) 0,05%.

4.2 METODOS.

4.2.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.

Las muestras de leche se obtuvieron individualmente de cada vaca por ordeño manual con eliminación del primer chorro, mezclando alícuotas de los cuatro cuartos. A cada muestra, de aproximadamente 20 ml, se le adicionó como preservante Bronopol (una tableta) y se homogenizó en vortex alicuotándose posteriormente en viales de 2 ml. Uno de los viales se utilizó de inmediato para la ejecución de la prueba del Ring Test, en tanto que las muestras restantes se mantuvieron en congelación a -20° C hasta completar la totalidad del muestreo y proceder a realizar las pruebas de Elisa Indirecta y Fluorescencia Polarizada.

4.2.2 EXAMENES REALIZADOS A LAS MUESTRAS.

a) Prueba del Anillo o Ring Test (Alton y col., 1988). En forma resumida la prueba se realiza como sigue:

Las muestras de leche y antígeno se sacan del refrigerador y se dejan a temperatura ambiente por lo menos una hora antes de realizar el test. Luego se siguen los pasos:

- (a) Homogeneizar la leche en el vial, con el fin de distribuir la crema.
- (b) Colocar 1.0 ml de la leche en un tubo de plástico o de vidrio de 14 x 100 mm.
- (c) Adicionar 0.3 ml. del antígeno Ring Test previamente agitado.
- (d) Mezclar el contenido por inversión varias veces, cuidando que se mantenga homogéneo.
- (e) Incubar a 37° C por una hora.
- (f) Leer con una fuente de luz uniforme de acuerdo al siguiente esquema:

Color de la crema	Columna de la leche	Lectura RT
Azul	Blanco	++++
Azul	Celeste	+++
Azul	Deb. azul	++
Azul	Azul	+
Blanco	Azul	-

b) Prueba de Elisa Indirecta (Nielsen y col, 1996):

i. Inmovilización del antígeno y periodo de incubación: Se utiliza como antígeno una preparación de lipopolisacárido (LPS) liofilizado (producido por el Animal Diseases Research Institute Nepean Ontario Canadá) reconstituido a una concentración de 1.0 mg/ml. De este LPS diluido 1:1000 en buffer de adsorción se dispensan 100 ul en cada pocillo de una placa de poliestireno las que posteriormente se sellan con un plástico adhesivo y se incuban a 4° C por 18 hrs.

ii. Procedimiento de lavado: posterior a la incubación y para remover antígeno no absorbido o deficientemente unido, se lava 4 veces con tampón de lavado eliminando cada vez el tampón por inversión de la placa en forma enérgica completando el proceso con golpes enjuagatorios en papel absorbente.

iii. Adición de la muestra de prueba e incubación: después de la última etapa de lavado, a cada pocillo se le adiciona 50 ul de Buffer EDTA-EGTA (buffer PBS E+E) y 50 ul de cada muestra de leche. Luego de este procedimiento la placa se agita por 5 minutos y posteriormente se incuba a 25° C por 30 minutos. Es importante mencionar que los controles se deben diluir en una concentración 1:50, para ello se toman 20 ul de cada control por separado y se mezclan con 980 ul de buffer de dilución.

iv. Etapas de lavado: se realiza en forma similar al procedimiento descrito en ii.

v. Adición del conjugado antioglobulina: se utiliza un anticuerpo monoclonal murino (M23) específico para la cadena pesada de la IgG1 bovina conjugada con peroxidasa de rábano picante (ADRI CANADÁ), el que se diluye en el tampón de lavado inmediatamente antes de ser utilizado. Este M23 se titula por diluciones en buffer de lavado hasta que los controles alcancen los límites en la concentración, los límites de especificidad para este ensayo son los siguientes:

CONTROL	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
C++	0.777	1.220
C+	0.466	0.810
C-	0.051	0.266
M+	0.822	1.450
M-	-0.036	0.129

El conjugado antiglobulina diluido determinado en la titulación se agrega en volúmenes de 100 ul a cada pocillo, se agita por 5 minutos y luego se incuba por 55 minutos a 25° C.

vi. Etapa de lavado: semejantes a las anteriores.

vii. Adición del sustrato/cromógeno: se mezclan 12 ml de buffer Citrato junto con 300 ul de ABTS y 60 ul de Peróxido de Hidrógeno y se agitan en forma manual, a continuación se deposita en cada pocillo de la placa 100 ul del sustrato/cromógeno. Posteriormente la placa se agita por 10 minutos en un agitador de placa a temperatura ambiente y se lleva al espectrofotómetro para leer su DO 414 nm.

El protocolo utilizado para la distribución de las muestras y controles en las microplacas de poliestireno, es el siguiente:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C++	M+	7	15	23	31	39	47	55	63	71	79
B	C++	M-	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80
C	C+	1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81
D	C+	2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82
E	C-	3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83
F	C-	4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84
G	CC	5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85
H	CC	6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86

Donde:

- C++ : Control del suero fuertemente positivo. (TG)
- C+ : Control del suero moderadamente positivo.(Q1)
- C- : Control del suero negativo. (Q2)
- Ce : Control del conjugado. (Q3).
- M+ : Control de leche positivo
- M- : Control de leche negativo
- 1-86 : muestras

- c) Fluorescencia Polarizada (Nielsen y col., 1996): En cada tubo de ensayo se depositan 2 ml. de buffer fosfato Litiododecyl sulfato y a cada uno se le adiciona 80 ul de leche homogeneizada por agitación en un vortex. Como controles se utiliza suero sanguíneo de animales: infectado (++) ; infectado (+) ; vacunado con cepa 19 (cv) y negativo (-) diluído 1:100 en tampón Litiododecyl sulfato en cantidad de 20 ul de suero en 1980 ul de tampón. Posteriormente los tubos controles como los de muestras se agitan en el vortex y se leen en el analizador de fluorescencia polarizada, encendido por 15 minutos antes de usarlo. Completado el ciclo de lectura, a cada tubo se le adiciona el antígeno en cantidad preestablecida por titulación de los controles, se espera un tiempo de incubación de 2.40 minutos, se agita individualmente en el vortex cada tubo y se somete a la lectura. En este ensayo la cantidad utilizada fue de 20 ul. por tubo que fue la indicada para obtener valores entre 210 a 287 mP para el (++) ; 97 a 162 para (+) ; 62 a 87 para (cv) y 66 a 84 para (-).
- d) Aislamiento bacteriano: Esta parte de la tesis fue realizada por personal del Servicio Agrícola y Ganadero (S.A.G.) del laboratorio Regional de Osorno, Décima Región. Es importante mencionar que del total de muestras de leches positivas (339) se logró aislar a *brucella abortus* en ciento dieciséis (116) de ellas, esto debido al hecho de que la *brucella* se elimina en forma intermitente por la leche y además cuando las muestras contienen una cantidad muy alta del agente dificulta su cultivo y posterior aislamiento.

4.3 ANALISIS ESTADISTICO

Para la validación del ELISA Indirecto y Fluorescencia Polarizada en leche, se usó análisis de las Características del Operador Receptor (R.O.C.), para determinar el valor umbral (cut-off) asociado directamente con sensibilidad y especificidad diagnóstica. Además se calcularon valores predictivo, estadística Kappa y distribución de frecuencias.

4.3.1 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ESTADÍSTICOS DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD.

Para la determinación de los parámetros estadísticos, sensibilidad y especificidad, para cada uno de los test se utilizó las tablas de 2x2, en donde el sistema de referencia (gold Estándar) fue el aislamiento de *B. abortus*.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el programa de computación MedCalc97.

En la figura 1 se presenta la plantilla de las tablas de 2x2 con la respectiva fórmula para cada parámetro estadístico.

Figura 1.

		Infectados	No infectados
Resultados Del Ensayo	Positivos	A	B
	Negativos	C	D

Donde: Sensibilidad (S) =
$$\frac{A}{A + C}$$

Especificidad (E) =
$$\frac{D}{B + D}$$

4.3.2 DETERMINACIÓN DEL VALOR UMBRAL.

Se utilizó R.O.C análisis (Análisis de las Características del Operador Receptor) para determinar los parámetros de rendimiento de un ensayo.

4.3.3 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS.

Mediante este parámetro estadístico se logró obtener las distintas distribuciones de los datos obtenidos en el estudio.

4.3.4 ESTADÍSTICA KAPPA (K).

Se usó para determinar la concordancia estadística entre las técnicas diagnósticas que se pretenden validar y el sistema de referencia (Cultivo bacteriológico).

Los resultados se obtuvieron mediante el siguiente esquema de trabajo:

		Cultivo Bacteriológico	
		+	-
Elisa Indirecto	+		
	-		
Fluorescencia Polarizada	+		
	-		

4.3.5 VALORES PREDICTIVOS.

Este parámetro estadístico se usó para determinar la posibilidad (%) de que una muestra positiva o negativa lo sea realmente.

5. RESULTADOS

5.1 RESULTADOS DE LA APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.

El resultado de la aplicación de la totalidad de los métodos de diagnósticos utilizados se presenta en los anexos.

El análisis estadístico dio los resultados que se presentan a continuación.

5.2 DETERMINACIÓN DEL VALOR UMBRAL MEDIANTE CURVA R.O.C.

Se estableció un valor umbral para I-Elisa y FP a partir de ambos grupos en estudio.

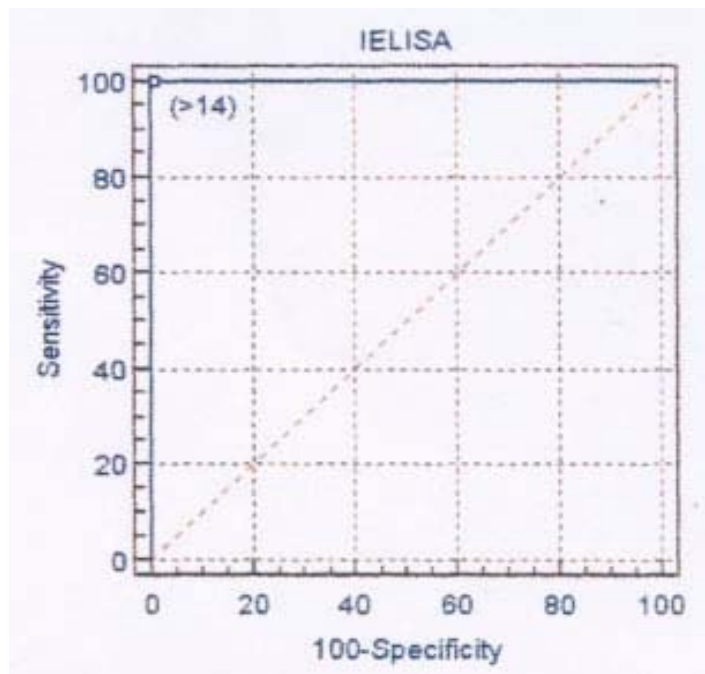


Gráfico 1: Curva R.O.C. para la determinación del valor umbral de I-Elisa en leche de animales negativos.

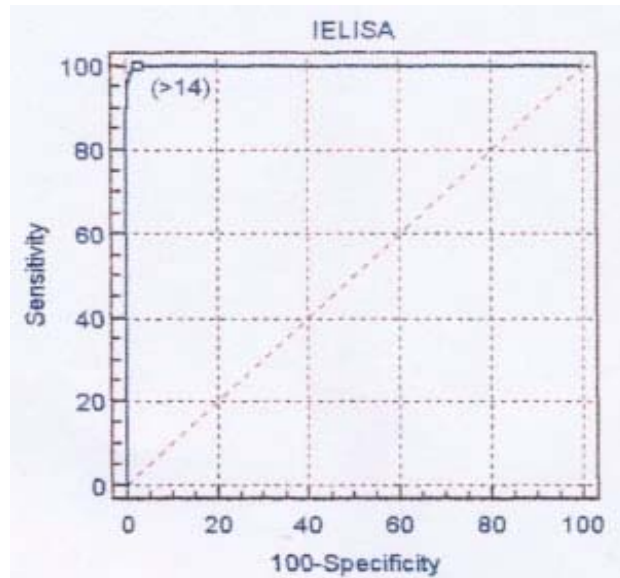


Gráfico 2: Curva R.O.C. para la determinación del valor umbral de I-Elisa en leche de animales negativos vacunados.

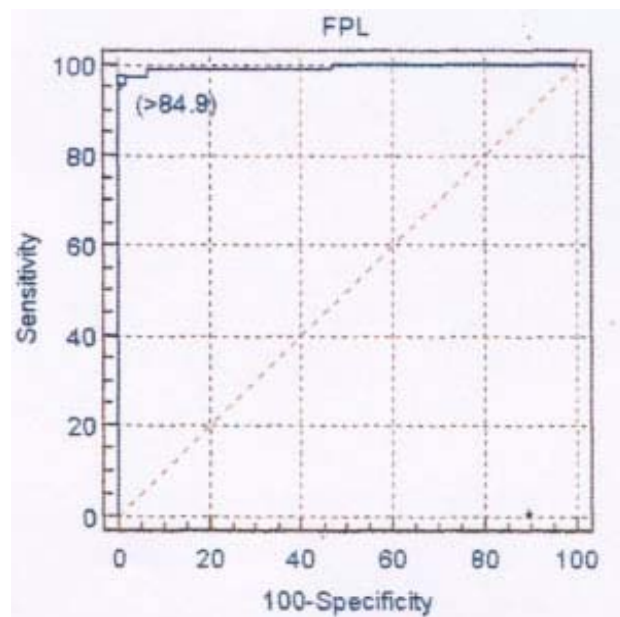


Gráfico 3: Curva R.O.C. para la determinación del valor umbral de FP en leche de animales negativos.

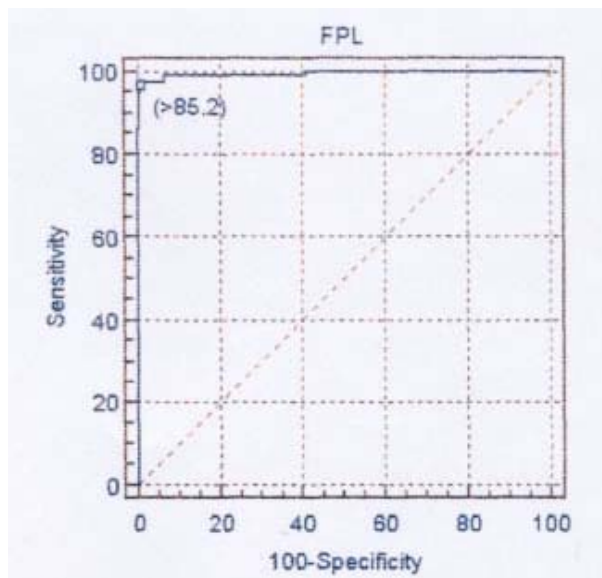


Gráfico 4: Curva R.O.C. para la determinación del valor umbral de FP en leche de animales negativos vacunados.

5.3 DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS PARA LOS UMBRALES ESTABLECIDOS.

Con el valor umbral dado por la técnica de I-Elisa en leche (14%) y FP (84,9%), además de los nuevos umbrales desarrollados por R.O.C. se establecieron los valores de Sensibilidad y Especificidad de I-Elisa y FP en leche para ambos grupos. Estos resultados se pueden apreciar en la Tabla 1.

Tabla 1. Sensibilidad y Especificidad para Elisa Indirecto y Fluorescencia Polarizada en leche.

Prueba	Grupo	Cut-Off	Sensibilidad	Especificidad
IE	Neg	14%	100%	100%
	Neg Vac	14%	100%	98%
FP	Neg	84,9%	97%	99%
	Neg Vac	85,2%	97%	99%

Donde: IE= Elisa Indirecto.

FP= Fluorescencia Polarizada.

Neg= Grupo de animales negativos.

Neg Vac= Grupo de animales negativos vacunados.

Como se aprecia en el gráfico 5 para el grupo de animales negativos en I-Elisa, los valores de PP de los animales positivos se distribuyeron entre 15 y 125 %, lo mismo ocurre en el grupo de animales negativos vacunados (gráfico 6).

Para Fluorescencia Polarizada, la distribución de frecuencias en el grupo de animales negativos fluctúa entre 55 y 300 mP (gráfico 7), situación que se repite para el grupo de negativos vacunados (gráfico 8).

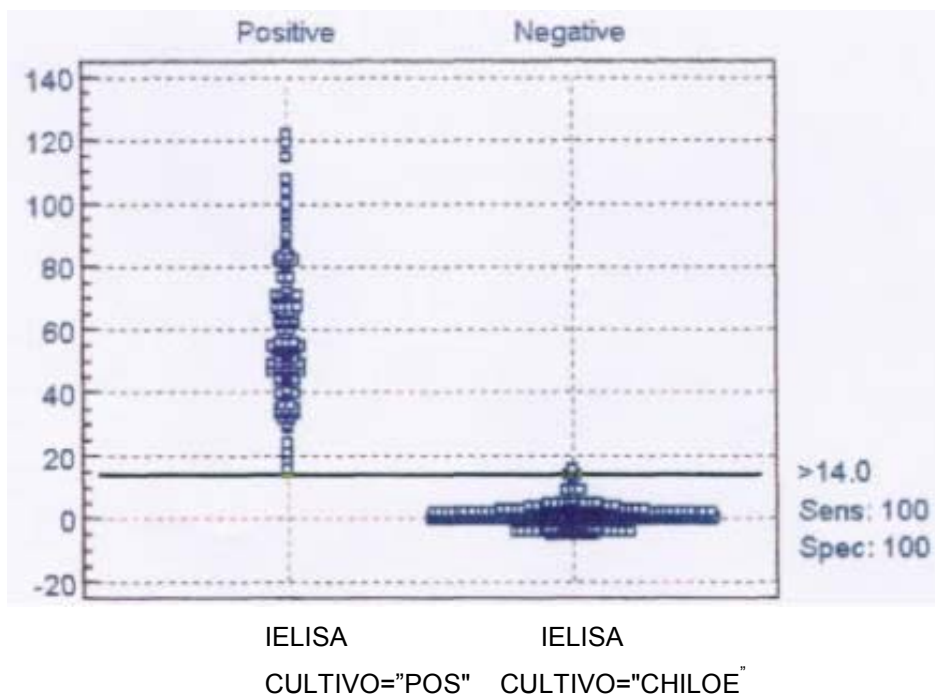


Gráfico 5: Distribución de frecuencias de I-Elisa en leche del grupo de animales negativos

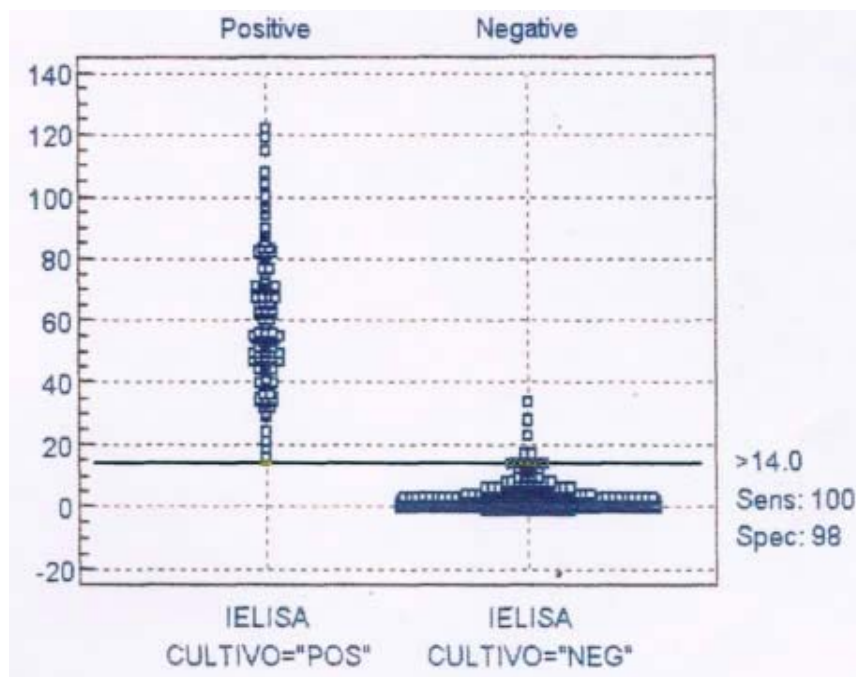


Gráfico 6: Distribución de frecuencias de I-Elisa en leche del grupo de animales negativos vacunados.

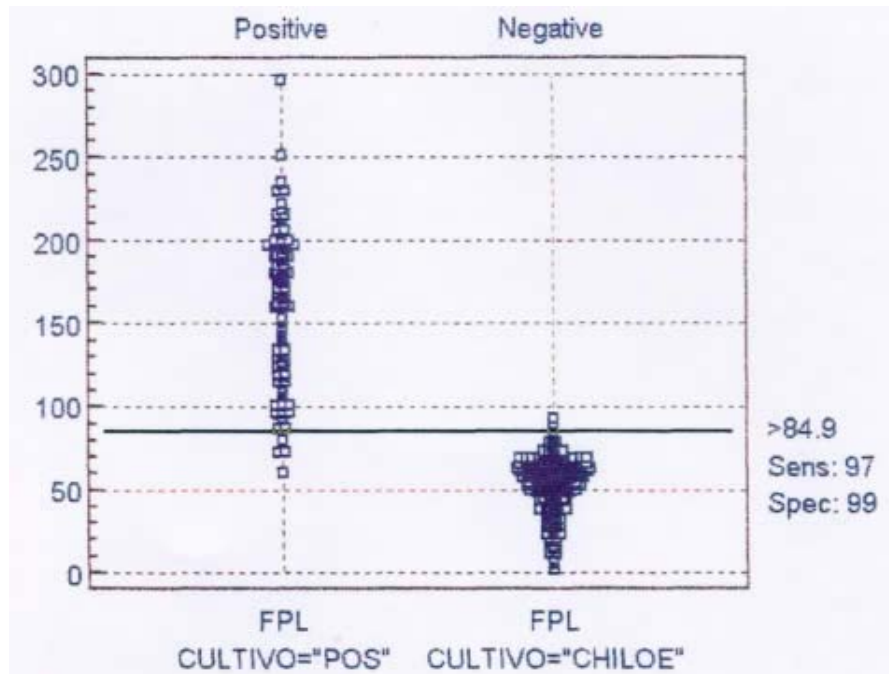


Gráfico 7: Distribución de frecuencias de FP en leche del grupo de animales negativos.

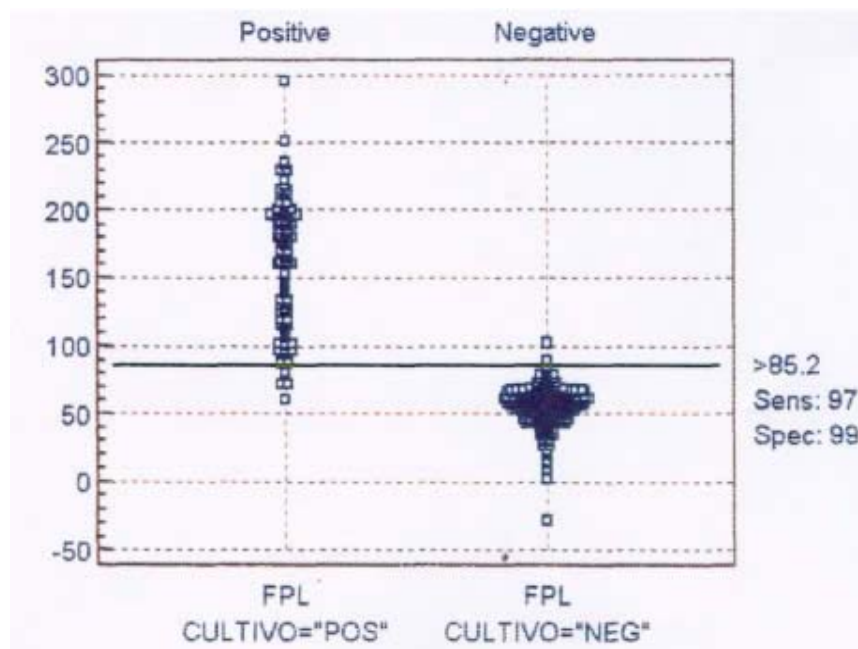


Gráfico 8: Distribución de frecuencias de FP en leche del grupo de animales negativos vacunados.

5.4 ESTADÍSTICA KAPPA (K).

Los resultados obtenidos son los que se expresan en los cuadros 1 y 2.

Cuadro 1. Estadística Kappa en grupo de animales negativos.

	Cultivo	I-Elisa	FP
Cultivo	-	1	0,97
I-Elisa	1	-	0,97
FP	0,97	0,97	-

Cuadro 2. Estadística Kappa en grupos de animales negativos vacunados.

	Cultivo	I-Elisa	FP
Cultivo	-	0.977	0,965
I-Elisa	0.977	-	0,965
FP	0.965	0.965	-

5.5 VALORES PREDICTIVOS.

Estos valores se expresan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Valores predictivos para las pruebas de I-Elisa y FP en leche.

Prueba	Grupo	VP(+) %	VP(-) %
I-Elisa	Neg	100	100
	Neg Vac	59,22	100
FP	Neg	73,644	73,644
	Neg Vac	99,91	99,913

En el caso del Ring Test la sensibilidad y especificidad diagnóstica fue de un 100%, en consecuencia la estadística Kappa tiene un valor de 1 y los valores predictivos tanto positivos como negativos un 100 %.

6. DISCUSIÓN

El análisis de la tabla 1 permite observar que tanto I-ELISA como FP tienen un alto grado de sensibilidad y especificidad diagnóstica, por lo cual son una buena alternativa para tener en cuenta en la detección de anticuerpos *anti-brucella abortus* en leche.

El Ring Test, ampliamente usado para el control en plantas lecheras, muestra una sensibilidad del 89,9% y una especificidad del 57,7% según Huber y Nicoletti.(1986). La baja especificidad de la prueba podría ser influenciada por factores físicos, como por ejemplo pH de la muestra o sanidad alterada de la glándula mamaria como sería mastitis o estado funcional, como período calostrual (Alton y col., 1988). En el caso de este trabajo, el Ring Test tuvo una sensibilidad y especificidad de un 100%, pero estos resultados no reflejan la situación en terreno pues los animales presentaban la enfermedad confirmada por el aislamiento y no otra patología que hubiera interferido en el diagnóstico del Ring Test (Anexos 1, 2 y 3).

Por estas razones se desprende, como consecuencia lógica, que en la vigilancia de la enfermedad a partir de leche, por ejemplo en áreas libres, debe utilizarse como screening métodos de mejor sensibilidad y especificidad, siendo I-ELISA y FP una alternativa ventajosa para este importante grupo de animales, como lo demuestra la sensibilidad y especificidad presentada en la tabla 1.

Para establecer la validez de ambos ensayos es necesario determinar el valor que separa a los animales positivos de los negativos y por otro lado si el ensayo puede o no reemplazar a la prueba que esta en uso. Para el logro de los objetivos antes mencionados se precisa el valor umbral o cut-off (Jacobson, 1998).

El valor umbral se define como el nivel de anticuerpos que determina el estado negativo o positivo de un animal (Wright y col., 1993). Involucra directamente la sensibilidad y especificidad de la prueba, por lo cual es necesario determinar el destino del ensayo, adquiriendo de esta forma mucha importancia su elección y por supuesto el método estadístico que se emplee para calcularlo (Cargill y col., 1985).

Aunque para tal propósito se han descrito muchos métodos, la elaboración de una curva de características operador-receptor, o curva R.O.C. (receiver-operator characteristics) es un método de gran utilidad para determinar los parámetros de rendimiento de un ensayo. Este sistema representa la fracción de falsos positivos para varios valores de descarte en forma simultánea y así produce un gráfico que presenta la sensibilidad y especificidad en distintos puntos de descarte como se presenta en los gráficos 1, 2, 3 y 4.

Cuando se trata de determinar un valor umbral de utilidad diagnóstica, como se utilizó en este estudio con la estadística R.O.C., es posible sugerir un valor de descarte de tal modo que represente a la población estudiada, y por otro lado, ajustar la sensibilidad y especificidad a niveles adecuados (Nielsen y col., 1996 b).

Sin duda este método, aparte de ser muy exacto al considerar los parámetros de sensibilidad y especificidad, es muy práctico, pues elimina los factores que pudieran depender del rebaño, haciendo el cálculo del valor umbral más homogéneo para una población de animales.

Para las pruebas de I-ELISA y FP se determinó un valor umbral de 14% de positividad y 84,9 mP respectivamente en el grupo de animales negativos.

En forma complementaria se determinó el valor umbral para el grupo de animales negativos vacunados con RB 51 obteniendo un 14% de positividad para I-ELISA y 85,2 mP para FP.

Para determinar los parámetros estadísticos de sensibilidad y especificidad para I-ELISA y FP, fue necesario considerar un sistema de referencia que permitiera clasificar animales positivos de negativos. Lo ideal para la clasificación sería que la prueba de referencia o gold standart sea biológicamente independiente de los ensayos que están siendo evaluados como es el aislamiento bacteriológico (Nielsen y col., 1996 b). Las pruebas diagnósticas que se usaron en leche, tanto el I-ELISA como FP miden IgG1. Se sabe que las IgG en la leche están correlacionadas con los niveles presentes en el suero sanguíneo (Caflin y Poutrel, 1987), aún cuando se ha reportado que la presencia de anticuerpos contra *B. abortus* se detecta más tardíamente (Nicoletti, 1969), resultando razonable asumir que la leche refleja el cuadro serológico del animal (Nielsen y col., 1996 b).

De las trescientas treinta y nueve (339) muestras de leches de animales reaccionantes a las pruebas serológicas tradicionales, se logró aislar *B. abortus* de un total de ciento dieciséis (116) de ellas. Complementariamente, en el grupo de animales positivos también se pesquizaron signos clínicos de la enfermedad, como abortos, partos prematuros o animales no viables.

En los gráficos 5, 6, 7 y 8 se representa la distribución de frecuencias de los grupos en estudio en relación a la respectiva prueba diagnóstica. Generalmente las respectivas distribuciones de frecuencias correspondientes a los grupos de animales infectados y no infectados ponen de manifiesto una región donde se sobreponen los resultados. La zona donde ambas curvas se interceptan, o también llamada "punto final", se puede desplazar hacia la izquierda para minimizar los falsos resultados negativos, o hacia la derecha, con lo cual se minimizan los resultados falsos positivos (Jacobson, 1998).

Es importante mencionar que en este estudio la zona donde se sobreponen ambos grupos es muy reducida o inexistente, según el método diagnóstico en cuestión, esto debido a la alta sensibilidad y especificidad diagnóstica de las pruebas que fueron validadas.

En los cuadros 1 y 2 se presenta la estadística Kappa para ambos grupos, aquí se refleja que existe una concordancia muy alta entre los sistemas de clasificación puesto que los valores menores que 0,20 son bajos llegando hasta valores de muy alta concordancia estadística cuando ellos están entre 0.81 y 1.0.

El cuadro 3 presenta los valores predictivos para las pruebas de I-ELISA y FP en leche, se puede observar que los valores tanto positivos como negativos son 100% para I-ELISA en el grupo de animales negativos. En cambio en el grupo de animales negativos vacunados el valor predictivo positivo es bastante bajo, esto dado por el hecho de que el valor predictivo positivo no guarda relación directa con la especificidad diagnóstica sino más bien con la prevalencia (Jacobson, 1998), la cual fue estimada en forma individual en un 3%.

En relación al uso práctico de la prueba de I-ELISA en leche se puede señalar como ventajas sobre la prueba del Ring Test lo siguiente: uso de reactivos en pequeñas cantidades, se puede utilizar tanto en forma individual como para el rebaño, los resultados son registrados de manera fácil mediante programas computacionales definidos y el sistema de lectura de resultados es automático, de modo que su aplicación resulta objetiva.

Aunque es una prueba más compleja, su uso rutinario la hace más manejable y la sensibilidad y especificidad encontradas en el presente trabajo muestran altos valores de diagnóstico.

Sus desventajas radican en que requiere de material de laboratorio bastante específico y personal especializado para su aplicación.

Otro aspecto importante de señalar son los costos. Sin duda el valor por muestra individual de I-ELISA es mas alto, pero se debe considerar que al reaccionar positiva a la prueba de Ring Test se debe realizar un muestreo serológico de todas las hembras del rebaño. Este costo se obviaría puesto que el I-ELISA *per se* sería definitivo. Además por la baja especificidad del Ring Test, se deberían esperar un alto número de animales falsos positivos que tendrían que ser chequeados inútilmente. Por esta razón resulta más conveniente realizar la prueba de I-ELISA.

Las ventajas de FP se pueden resumir en el corto tiempo que lleva el análisis de cada muestra (aproximadamente 3 minutos), usa reactivos en pequeñas cantidades.

Dentro de las desventajas está principalmente el alto costo del equipo analizador de Fluorescencia Polarizada.

Además de las pruebas descritas en este trabajo, personal del S.A.G. del laboratorio Regional de Osorno, en conjunto con la Dra. Ximena Rojas de la Universidad Austral de Chile, procedieron a realizar en cada muestra de leche un Elisa de Competencia (C-Elisa), y a cada muestra de suero se le realizaron exámenes de Rosa de Bengala (RB), Fijación del complemento (FC), Fluorescencia Polarizada en suero (FPS) y en sangre (FPB). Todas estas técnicas diagnósticas se pueden apreciar en los anexos. Es importante recalcar que se puede ver con claridad que las pruebas validadas en esta tesis tienen una alta concordancia diagnóstica con las pruebas realizadas tanto en suero como en leche.

Este trabajo deja abierta la interrogante acerca de hasta en que dilución de la leche es capaz de detectar anticuerpos I-ELISA y FP al ser usado en estanques.

Como conclusiones de este trabajo se puede decir que:

- La prueba de I-ELISA permite detectar un mayor número de reactores que el Ring Test en rebaños infectados, en virtud de su mayor sensibilidad diagnóstica.
- La correlación cultivo positivo- I-ELISA en grupos negativos vacunados es de un 100%.
- La sensibilidad diagnóstica en grupos negativos es de un 100%.
- Se estableció un valor umbral para I-ELISA que se ubicó en un 14% de los Porcentajes de Positividad tanto para el grupo de animales negativos como para el grupo de negativos vacunados.
- La prueba de FP es otra alternativa de diagnóstico para la detección de anticuerpos anti- *brucella abortus* en leche debido a sus buenos valores de sensibilidad y especificidad diagnóstica.
- El valor umbral para FP se estableció en un 84,9 mP para el grupo de animales negativos y en un 85,2 mP para el grupo de animales negativos vacunados.

7. BIBLIOGRAFÍA

ALTON, G.G.; JONES L.M.; ANGUS, R.D.; VERGER, J.M. 1988.

Techniques for the Brucellosis laboratory. Institute National de la Recherche Agronomique, Paris.

ARGENTINA, MINISTERIO DE AGRICULTURA, 1998. Programa nacional de lucha contra la Brucelosis bovina.

BLOOD, D.C.; J. HENDERSON y O. RADOSTITS. 1988. Medicina Veterinaria. Sexta ed, Edición Español, Nueva Editorial Interamericana, pp. 662-673.

CAFLIN, J.P.; POUTREL, J. 1987. Physiological and Pathological factors influencing bovine immunoglobulin G2 concentration in milk. In: Nielsen, K.; Gall, D.; Kelly, W.; Vigliocco, A.; Henning, M.; García, M. 1996. Desarrollo del inmunoensayo. Aplicaciones del enzimo inmunoensayo para el diagnóstico de brucelosis. Versión español traducido por Andrea Contreras. Valdivia Chile.

CARGILL, C.; LEE, K.; CLARKE, I. 1985. Use of an enzyme linked immunosorbent assay in a bovine brucellosis eradication program. Aust., Vet. J. 62:49-52.

CHILE, MINISTERIO DE AGRICULTURA, SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO, 1997. Proyecto Erradicación de Brucelosis bovina en Chiloé y Palena

CORBEL, M.J. 1984. Brucellosis: An Overview. Emerging infectious Diseases vol. 3. Edit. Whispeare.

CORBEL M. J. y BRINLEY-MORGAN W.J. 1984. Genus Brucella. In Bergey's manual of systematic bacteriology. Krieg.N.R. y Holl. (eds) The Williams and Wilking Co. Ballimore. Pp 377-387.

HUBER, J.D. y NICOLETTI, P. 1986. Comparison of the results of cards, rivanol, complement-fixation, and milk ring test and the isolation rate of Brucella abortus from cattle. Am. J. Vet. Res. 47: 1529-1531.

JACOBSON, R. H. 1998. Validación de Pruebas Serológicas para el diagnóstico de Enfermedades Infecciosas. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 17: 507-526.

LAKOWICZ, R. J. 1986. Applications of Fluorescence Polarization assay. University of Maryland School of Medicine. Baltimore, Maryland. Plenum Press. New York and London.

NIELSEN, K. and DUNCAN, J. 1995. Animal Brucellosis. CRC Press. Inc. Florida. USA. Cap. 2.

NIELSEN, K.; GALL, D.; KELLY, W.; VIGLIOCCO, A.; HENNING, M.; GARCÍA, M. 1996 a. Aplicaciones del Enzimo Inmunoensayo para el diagnóstico de Brucelosis. Versión español traducido por Andrea Contreras. Valdivia Chile.

NIELSEN, K.; GALL, D.; JOLLEY, M.; LEISHMAN, G.; BALSEVICIUS, S.; SMITH, P.; NICOLETTI, P.; THOMAS, F. 1996 b. A homogeneous fluorescence polarization assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. *Journal of Immunological Methods* 195: 161-168.

NICOLETTI, P. 1969. Further evaluation of serologic test procedures used to diagnose brucellosis. *Am. J. Vet. Res.*; 30: 1811.

SMITH, H. y FITZGEORGE, R. B. 1964. The chemical basis of the virulence of intracellular survival and growth in bovine phagocytes. *Br. J. Exp. Pathol.* 45: 174-177.

WRIGHT, P. F.; NILSSON, E.; VAN ROOIJ, E.; LELENTA, M.; JEGGO, M. 1993. Standardisation and validation of enzyme linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious diagnosis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 12: 435-450.

ANEXOS

Anexo N°1. Detalle de los resultados de los ensayos efectuados a partir del grupo de animales "Negativos Chiloé".

N°del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
1	73	NEG	NEG	69,7	115,5	67,2	-9	NEG	1
2	67	NEG	NEG	78,5	12,3	67,5	7	NEG	1
3	382 az	NEG	NEG	81,4	155,5	70,2	2	NEG	0
4	2a.m	NEG	NEG	79,1	87,4	68,7	-8	NEG	6
5	53 ver	NEG	NEG	83,2	148,7	63,3	23	NEG	2
6	119	NEG	NEG	81,1	166,1	70,8	-12	NEG	1
7	392	NEG	NEG	81,3	131,2	69,9	-22	NEG	1
8	46	NEG	NEG	78,5	133,6	79	-9	NEG	1
9	390	NEG	NEG	82,5	146,8	64	-1	NEG	2
10	115	NEG	NEG	82,6	174,9	43,3	-4	NEG	3
11	109	NEG	NEG	80	56,6	51,1	-12	NEG	0
12	52	NEG	NEG	82,1	54,3	89,6	-13	NEG	12
13	5	NEG	NEG	80,1	98	68,5	-13	NEG	3
14	27	NEG	NEG	79,8	123,7	71,2	15	NEG	1
15	97	NEG	NEG	80,8	112,1	69,2	-1	NEG	2
16	82	NEG	NEG	81,8	115	61,5	3	NEG	5
17	6az	NEG	NEG	80	130,2	49,2	-11	NEG	1
18	102	NEG	NEG	80,9	139,1	71,7	-7	NEG	1
19	61	NEG	NEG	81,5	124,1	66,4	-12	NEG	2
20	90	NEG	NEG	80,2	113,9	60,8	-9	NEG	14
21	13	NEG	NEG	80,6	141,3	76,1	-7	NEG	3
22	87 am	NEG	NEG	81,5	90,4	51,5	-2	NEG	8
23	18	NEG	NEG	80,3	119,8	63,4	16	NEG	2
24	385	NEG	NEG	80,1	80,8	70,7	-18	NEG	1
25	121	NEG	NEG	83	132,6	52,1	-3	NEG	2
26	92	NEG	NEG	79,3	94,9	68,4	1	NEG	2
27	2	NEG	NEG	79,9	126,6	78,1	-12	NEG	2
28	105	NEG	NEG	79,9	136,2	28,3	-19	NEG	2
29	125	NEG	NEG	81,1	70,3	67,4	-16	NEG	9
30	36	NEG	NEG	81,1	116,5	57,9	-9	NEG	1
31	100 am	NEG	NEG	81,1	92	68,6	-14	NEG	1
32	388	NEG	NEG	83	91,8	68,8	-18	NEG	2
33	118	NEG	NEG	79,1	157,4	77,3	-13	NEG	1

N° del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
34	66	NEG	NEG	82,7	164,4	57,6	-17	NEG	4
35	54	NEG	NEG	79,4	170,9	73,1	-31	NEG	5
36	0,25	NEG	NEG	80,8	95,6	40,3	-22	NEG	4
37	30	NEG	NEG	80,2	35,4	80,9	-26	NEG	3
38	15	NEG	NEG	80,2	136,8	49,6	-16	NEG	2
39	94	NEG	NEG	82,3	109	74,7	-11	NEG	3
40	87	NEG	NEG	83,6	110,8	65,9	-26	NEG	1
41	127	NEG	NEG	85,2	117	47,3	-22	NEG	2
42	100 ver	NEG	NEG	81,4	108,5	81,8	-25	NEG	2
43	85	NEG	NEG	79,5	102,5	72,5	-38	NEG	2
44	11	NEG	NEG	83,6	86,5	66,3	-20	NEG	1
45	386	NEG	NEG	80,2	145,5	56,6	-23	NEG	2
46	14 az	NEG	NEG	81,9	120,9	53,9	-20	NEG	1
47	14nar	NEG	NEG	79,6	140,5	60,5	-15	NEG	1
48	96	NEG	NEG	80,7	145,4	70,1	-24	NEG	2
49	8	NEG	NEG	83,3	153,3	69,1	-22	NEG	0
50	29	NEG	NEG	86	119,1	53	-15	NEG	16
51	120	NEG	NEG	79,9	76,4	48,6	-42	NEG	1
52	10	NEG	NEG	81,5	179,4	63	4	NEG	1
53	177	NEG	NEG	83,3	156	68,7	-19	NEG	1
54	107	NEG	NEG	80,7	126	61,6	-17	NEG	0
55	299 ver	NEG	NEG	81,9	97,9	37,6	-14	NEG	0
56	273	NEG	NEG	83,3	173,6	53,5	-19	NEG	1
57	120	NEG	NEG	81,7	149	53,8	-15	NEG	5
58	56	NEG	NEG	82,1	159,8	65,7	-28	NEG	1
59	72 ro	NEG	NEG	81,7	179,1	68,2	-31	NEG	2
60	173	NEG	NEG	83,1	202,2	48,1	4	NEG	0
61	10	NEG	NEG	81,9	196,5	63,1	13	NEG	1
62	2 ver	NEG	NEG	81,4	104,5	18,5	8	NEG	4
63	20	NEG	NEG	78,7	138,6	65,1	15	NEG	1
64	28	NEG	NEG	83,4	145,8	53	10	NEG	1
65	66	NEG	NEG	83,8	163,7	63,6	18	NEG	1
66	18	NEG	NEG	81,2	78,4	68,7	10	NEG	1
67	41 ver	NEG	NEG	82,7	121,1	64,9	-3	NEG	5
68	38	NEG	NEG	81,9	99,7	62,7	-14	NEG	2
69	14	NEG	NEG	83,3	195,8	50,1	-16	NEG	1
70	84 ro	NEG	NEG	80,6	147,6	62,1	-12	NEG	1

N° del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
71	150	NEG	NEG	77,1	177,9	49,2	-13	NEG	2
72	96	NEG	NEG	80,2	169,7	12,1	-8	NEG	1
73	55 ro	NEG	NEG	79,7	152,5	63,3	-18	NEG	1
74	297 ver	NEG	NEG	80,6	118,6	39,5	-15	NEG	1
75	8	NEG	NEG	81,6	150,9	57,5	-21	NEG	0
76	34	NEG	NEG	81,2	145,7	20,6	0	NEG	1
77	142	NEG	NEG	82,2	191,4	72,9	-9	NEG	1
78	127 ro	NEG	NEG	82,6	138,4	61,5	2	NEG	3
79	70	NEG	NEG	80,5	80,6	60,7	-7	NEG	1
80	139	NEG	NEG	78,8	180,1	65,7	7	NEG	3
81	97 ro	NEG	NEG	79,7	180,7	37,8	13	NEG	0
82	119	NEG	NEG	83,4	198,1	62,3	-2	NEG	1
83	3	NEG	NEG	82,2	142,3	67,2	-8	NEG	3
84	6	NEG	NEG	88,1	116,6	62,4	-19	NEG	1
85	9	NEG	NEG	82,3	188,3	55,5	-14	NEG	1
86	27	NEG	NEG	81,7	152,2	62,1	-16	NEG	2
87	79 ro	NEG	NEG	81,3	109,2	59,6	-7	NEG	3
88	64	NEG	NEG	80,8	92,2	55,1	-9	NEG	1
89	Umbral	NEG	NEG	82,1	163,3	73,3	-1	NEG	0
90	140	NEG	NEG	82,2	151,5	66,9	-12	NEG	1
91	46	NEG	NEG	17,8	86,3	57,8	-6	NEG	1
92	151 ro	NEG	NEG	81,2	121,3	23,6	-15	NEG	1
93	166 ro	NEG	NEG	81,9	94,2	69,7	2	NEG	1
94	290 ver	NEG	NEG	81,4	133,5	70,9	6	NEG	1
95	260 ro	NEG	NEG	79,6	136,1	59,2	20	NEG	1
96	72	NEG	NEG	76,6	118	59,9	17	NEG	4
97	298 ver	NEG	NEG	79,1	127,6	73,2	2	NEG	2
98	159	NEG	NEG	80,8	134,3	57,8	11	NEG	1
99	31	NEG	NEG	80,3	157,2	53,3	7	NEG	1
100	052 bl	NEG	NEG	79,9	83,6	62,2	-10	NEG	1
101	102	NEG	NEG	90	122,6	64,7	1	NEG	3
102	42	NEG	NEG	80,3	139,1	62	20	NEG	1
103	295 ver	NEG	NEG	83,2	166,1	53,7	23	NEG	1
104	167 ro	NEG	NEG	81,4	141,7	60,9	19	NEG	2
105	158	NEG	NEG	83,8	179,9	49,7	-1	NEG	2
106	116	NEG	NEG	82,2	153,8	66,9	11	NEG	0
107	17 ver	NEG	NEG	80,9	116,5	64,1	4	NEG	1

Nºdel animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
108	149	NEG	NEG	82,2	150,3	58,2	-6	NEG	2
109	288 ver	NEG	NEG	83,2	126,4	60,8	6	NEG	3
110	187	NEG	NEG	82,6	113,7	63,9	20	NEG	0
111	296 ver	NEG	NEG	80,4	138,3	37,9	27	NEG	0
112	270 ro	NEG	NEG	82,5	158,8	52,8	8	NEG	1
113	063 bl	NEG	NEG	81,8	145,6	63,5	21	NEG	0
114	62	NEG	NEG	80,4	158	48,9	6	NEG	0
115	056 bl	NEG	NEG	81,7	122	63,3 [^]	5	NEG	1
116	147	NEG	NEG	83,8	137,4	50,1	0	NEG	1
117	064 bl	NEG	NEG	84,8	150,7	53,7	15	NEG	1
118	165	NEG	NEG	82,2	124,9	53,8	3	NEG	1
119	33	NEG	NEG	76,5	92,5	43,2	-24	NEG	2
120	68	NEG	NEG	80,5	105,8	67	21	NEG	1
121	155ro	NEG	NEG	81,6	108,7	50,2	14	NEG	1
122	058 bl	NEG	NEG	81,8	151,3	78,6	20	NEG	1
123	105	NEG	NEG	83,4	198,4	60,6	3	NEG	0
124	292 ver	NEG	NEG	83,4	169,3	61,7	-17	NEG	1
125	289 ver	NEG	NEG	82	121,9	68,1	18	NEG	1
126	30	NEG	NEG	81,1	208,4	78,8	24	NEG	0
127	144	NEG	NEG	81,2	201	62,2	2	NEG	3
128	130	NEG	NEG	81,9	170,1	62,5	-9	NEG	1
129	062 bl	NEG	NEG	82,5	163,6	50,8	-18	NEG	4
130	7	NEG	NEG	84,9	180,4	57,4	10	NEG	2
131	71	NEG	NEG	80,5	163,9	58,5	-19	NEG	0
132	065 bl	NEG	NEG	81,2	139,9	53,4	-5	NEG	0
133	171 ro	NEG	NEG	82,3	160,8	63,4	17	NEG	1
134	50	NEG	NEG	81,1	161,9	66,7	26	NEG	1
135	52	NEG	NEG	80,8	194,6	61,3	7	NEG	0
136	178	NEG	NEG	82,4	167,4	64,7	8	NEG	4
137	88 ver	NEG	NEG	82,3	152,3	56,5	-26	NEG	1
138	48	NEG	NEG	78	157,4	65,3	-6	NEG	0
139	061 bl	NEG	NEG	71,2	168,3	79,9	-25	NEG	0
140	12	NEG	NEG	81,4	184,2	57,1	-13	NEG	0
141	88 ro	NEG	NEG	80,4	176,9	64,7	14	NEG	0
142	173ro	NEG	NEG	86,2	192,7	67	25	NEG	9
143	145	NEG	NEG	75,1	208,1	59,9	7	NEG	4
144	81 ro	NEG	NEG	75,6	186,4	53,7	-7	NEG	1

N° del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
145	154	NEG	NEG	84	158,2	62,3	4	NEG	1
146	143	NEG	NEG	80,6	131,8	46,6	-14	NEG	0
147	98	NEG	NEG	78,9	160,4	60,4	-22	NEG	1
148	36	NEG	NEG	80,7	134,6	43,7	-8	NEG	2
149	1	NEG	NEG	81,4	167,7	67,8	15	NEG	5
150	175	NEG	NEG	83,8	130,8	57,8	-4	NEG	0
151	2	NEG	NEG	72,6	137,1	31,4	7	NEG	0
152	60	NEG	NEG	80,2	202,6	52,3	-11	NEG	3
153	112	NEG	NEG	83,3	139,2	68,9	-16	NEG	2
154	21	NEG	NEG	80,4	149,7	41,1	-4	NEG	-1
155	125	NEG	NEG	79,1	152,7	61,8	-12	NEG	4
156	54	NEG	NEG	73,5	143,7	61,1	-14	NEG	0
157	44	NEG	NEG	95,4	136,1	56,8	-9	NEG	0
158	61	NEG	NEG	83,9	151,4	64,9	-6	NEG	0
159	67	NEG	NEG	82,4	158,5	65,6	19	NEG	0
160	109	NEG	NEG	82,8	150,1	61,8	-8	NEG	2
161	106	NEG	NEG	83,2	154,3	52,8	-17	NEG	0
162	59	NEG	NEG	79	142,1	51,7	-7	NEG	0
163	162	NEG	NEG	76,2	146,6	65,5	-5	NEG	2
164	300 ve	NEG	NEG	79,7	147,6	60,7	-12	NEG	0
165	254	NEG	NEG	78,4	121,2	50	11	NEG	1
166	11	NEG	NEG	83,3	123,7	60,7	-2	NEG	0
167	293 ver	NEG	NEG	78,7	142,2	43,3	8	NEG	0
168	057 bl	NEG	NEG	78	133,6	68,1	-17	NEG	0
169	050 bl	NEG	NEG	79,2	135,9	59,1	-20	NEG	1
170	175ro	NEG	NEG	83,9	153,7	57,9	-10	NEG	1
171	122	NEG	NEG	77,9	131,1	56,7	-15	NEG	0
172	72	NEG	NEG	78,7	154,8	27,8	-15	NEG	1
173	62	NEG	NEG	80,7	145,6	51,2	-12	NEG	1
174	2	NEG	NEG	83,5	140,4	49,4	4	NEG	4
175	5	NEG	NEG	79,3	152	35,9	16	NEG	0
176	76	NEG	NEG	78,4	135,7	31,7	-22	NEG	2
177	52	NEG	NEG	74,1	121,8	14,2	-21	NEG	1
178	68	NEG	NEG	82,7	124,9	27,8	-27	NEG	1
179	73	NEG	NEG	78,7	129,1	61,9	-13	NEG	1
180	71	NEG	NEG	82,1	163,8	44,4	2	NEG	1
181	142	NEG	NEG	76	151,9	34,5	2	NEG	0

N° del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
182	3	NEG	NEG	82,9	147	49,5	11	NEG	3
183	106	NEG	NEG	78,1	148,1	55,9	-1	NEG	0
184	3	NEG	NEG	83	146,7	22,8	-13	NEG	2
185	10	NEG	NEG	80,1	149,1	2,4	-1	NEG	3
186	2	NEG	NEG	82,7	120,7	31,2	-7	NEG	3
187	13	NEG	NEG	77,3	135,3	27	-7	NEG	3
188	78	NEG	NEG	78,3	148,1	60,5	23	NEG	9
189	81	NEG	NEG	81,6	146,2	55,8	10	NEG	1
190	45	NEG	NEG	80,5	161,3	26	5	NEG	0
191	79	NEG	NEG	82,6	143,8	19,4	-8	NEG	1
192	64	NEG	NEG	78,6	162,8	52,4	-8	NEG	1
193	70	NEG	NEG	81,1	137,6	44,3	-5	NEG	1
194	74	NEG	NEG	81,9	143	54,9	4	NEG	0
195	4	NEG	NEG	81,4	155,2	23,1	-9	NEG	1
196	17	NEG	NEG	78,5	183,4	58,5	11	NEG	1
197	527	NEG	NEG	83,6	59,7	30,3	27	NEG	2
198	65	NEG	NEG	82,3	125,8	34,3	7	NEG	0
199	7	NEG	NEG	81,9	142,3	52,3	33	NEG	5
200	88	NEG	NEG	80,2	121	45,8	-2	NEG	2
201	María	NEG	NEG	81,9	171,4	16,2	11	NEG	1
202	9	NEG	NEG	81,6	166,4	44,2	3	NEG	1
203	15	NEG	NEG	81,3	154,9	41,1	-1	NEG	4
204	69	NEG	NEG	82	140,2	44,6	-3	NEG	1
205	61	NEG	NEG	81,9	112,6	40,4	-17	NEG	2
206	12	NEG	NEG	84	17,9	56,2	-13	NEG	1
207	56	NEG	NEG	78,7	131,6	52,8	11	NEG	2
208	A12299	NEG	NEG	82,5	99,5	7,7	-10	NEG	1
209	11	NEG	NEG	77,7	149,8	27,3	-10	NEG	3
210	65	NEG	NEG	82,8	112,1	32,9	-15	NEG	1
211	609	NEG	NEG	78,6	162,5	83,1	-9	NEG	3
212	10	NEG	NEG	79	152,7	52,9	-3	NEG	1
213	60	NEG	NEG	82,2	132,3	32,6	-22	NEG	0
214	58	NEG	NEG	82,6	164,5	24,8	-16	NEG	0
215	76	NEG	NEG	81,8	164,2	57,4	-17	NEG	1
216	90	NEG	NEG	81,3	160,1	46,6	-19	NEG	0
217	55	NEG	NEG	81,6	168,4	55,4	-16	NEG	0
218	12	NEG	NEG	82,6	153,9	23,3	13	P2	1

N° del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
219	66	NEG	NEG	80,8	121,9	5,4	-30	NEG	0
220	57	NEG	NEG	83,6	171,6	54,3	19	NEG	0
221	4	NEG	NEG	84	165,2	33,8	-22	NEG	0
222	1	NEG	NEG	81,3	155,5	6,2	-3	NEG	1
223	16	NEG	NEG	82,6	183,5	63,9	0	NEG	14
224	53	NEG	NEG	80,3	176,4	52,2	3	NEG	0
225	38	NEG	NEG	82,4	173,6	63,3	-19	NEG	0
226	77	NEG	NEG	80,2	139,3	52,7	-20	NEG	1
227	13	NEG	NEG	83,1	189,7	45,1	-25	NEG	1
228	32	NEG	NEG	84,1	146,6	57,3	6	NEG	0
229	59	NEG	NEG	83,8	142,3	58,2	-10	NEG	0
230	130	NEG	NEG	82,6	173,2	53,1	-10	NEG	2
231	78	NEG	NEG	82,8	162,8	84,9	-15	NEG	1
232	81	NEG	NEG	78,4	175,5	69	-27	NEG	NA
233	3 ver	NEG	NEG	84,6	181,6	72,5	-8	NEG	0
234	4ro	NEG	NEG	85,7	161,6	52,5	-21	NEG	-1
235	92 bl	NEG	NEG	80,8	169,1	54,6	-37	NEG	0
236	101 ver	NEG	NEG	85	170,3	59,1	85	NEG	-1
237	70 bl	NEG	NEG	79,5	177,4	66,9	-14	NEG	0
238	88 bl	NEG	NEG	80,7	177,8	NA	-23	NEG	4
239	4az	NEG	NEG	81,5	164,5	65,4	-19	NEG	1
240	215am	NEG	NEG	76,6	179,3	36,9	-17	NEG	0
241	1 az	NEG	NEG	82,1	170,5	65,8	-23	NEG	0
242	13az	NEG	NEG	80,7	151,5	45,5	-13	NEG	-1
243	208 am	NEG	NEG	79,2	162,3	60,5	-25	NEG	-1
244	11 bl	NEG	NEG	82,8	194,1	61,2	0	NEG	5
245	71 bl	NEG	NEG	82,2	177,2	55,5	1	NEG	1
246	206 am	NEG	NEG	81	157,8	60	-9	NEG	1
247	110 ver	NEG	NEG	80,8	165,4	59,6	-19	NEG	1
248	10az	NEG	NEG	75,4	169,4	42,1	-8	NEG	-1
249	105 ver	NEG	NEG	79,9	180,6	29,9	-17	NEG	0
250	203 am	NEG	NEG	80,9	150,2	60,6	-14	NEG	1
251	221 am	NEG	NEG	77,9	146,2	43,8	-18	NEG	-1
252	7az	NEG	NEG	81,6	161,7	63,5	-9	NEG	-1
253	212am	NEG	NEG	82,9	146,6	60	-14	NEG	0
254	75 bl	NEG	NEG	81,9	181,1	58,5	-15	NEG	0
255	2az	NEG	NEG	79,8	134,6	29,7	-17	NEG	0

N° del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
256	19 bl	NEG	NEG	81,1	159,7	35,6	-22	NEG	0
257	201 am	NEG	NEG	83	197,4	49,1	-21	NEG	3
258	8ro	NEG	NEG	84,5	169,2	65,4	-19	NEG	1
259	Saz	NEG	NEG	80,8	170,1	61,7	-21	NEG	2
260	7bl	NEG	NEG	81,7	135,7	60,5	-10	NEG	2
261	216 am	NEG	NEG	80,7	171,1	57,5	-19	NEG	5
262	213am	NEG	NEG	83,1	177,9	54,7	-5	NEG	2
263	214am	NEG	NEG	84,3	174	70,1	-31	NEG	2
264	12az	NEG	NEG	81,6	170	65,2	-30	NEG	1
265	10 bl	NEG	NEG	53,3	181,2	63,3	-19	NEG	0
266	104 mor	NEG	NEG	82,4	131,7	51,7	-33	NEG	0
267	93 bl	NEG	NEG	82,4	195,7	58,5	-11	NEG	1
268	108M	NEG	NEG	84	190	44,1	-23	NEG	4
269	211 am	NEG	NEG	80,9	195,8	64,6	-12	NEG	3
270	S/A	NEG	NEG	84	176,8	59,2	-11	NEG	2
271	218am	NEG	NEG	82	153,6	55,7	-16	NEG	2
272	205 am	NEG	NEG	79,3	176,8	61,1	12	NEG	-5
273	108 ver	NEG	NEG	81,9	162,3	49,8	-13	NEG	-5
274	14az	NEG	NEG	75,8	188,5	92,3	-6	NEG	-4
275	89 ro	NEG	NEG	81,7	176,8	56,8	8	NEG	-2
276	S/Aneg	NEG	NEG	79,6	151,4	31,9	5	NEG	-4
277	15az	NEG	NEG	81,2	145,2	67,6	3	NEG	-4
278	14 bl	NEG	NEG	80,9	173,6	64	-16	NEG	-3
279	6az	NEG	NEG	79,4	187,6	51,1	-27	NEG	-4
280	60 ro	NEG	NEG	81,1	182	58,5	6	NEG	-3
281	16 bl	NEG	NEG	82,7	181,1	51,5	-10	NEG	0
282	13 bl	NEG	NEG	86,4	175,2	48,6	-10	NEG	-4
283	2ro	NEG	NEG	83,9	176,9	63	21	NEG	-3
284	15 bl	NEG	NEG	81,6	195,6	68,7	-1	NEG	-4
285	20 bl	NEG	NEG	84,6	189,2	61,6	-30	NEG	-2
286	2bl	NEG	NEG	83,1	166,5	37,6	-26	NEG	-4
287	207 am	NEG	NEG	81,3	190,3	53,5	-29	NEG	-3
288	53 ver	NEG	NEG	81,6	183,7	53,8	5	NEG	-4
289	204 am	NEG	NEG	78,2	201,9	65,7	2	NEG	4
290	109 mor	NEG	NEG	83,9	173,9	68,2	-1	NEG	-4
291	86 ro	NEG	NEG	77,2	161,7	48,1	12	NEG	-4
292	209 am	NEG	NEG	69,5	190	63,1	7	NEG	-1

Nº del animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
293	Saz	NEG	NEG	83,7	169,9	18,5	-8	NEG	-5
294	8bl	NEG	NEG	82,1	189,1	65,1	-17	NEG	-5
295	11 az	NEQ	NEG	82,3	159,2	53	-17	NEG	-5
296	94 ver	NEG	NEG	82,9	170,8	63,6	9	NEG	-1
297	102 mor	NEG	NEG	82,7	182,5	68,7	-5	NEG	-4
298	116 mor	NEG	NEG	81	162,7	64,9	-7	NEG	-3
299	90 bl	NEG	NEG	84,6	167,9	62,7	15	NEG	-3
300	S/A	NEG	NEG	79,1	171,9	50,1	7	NEG	-4
301	87 ver	NEG	NEG	88,6	143,3	62,1	-15	NEG	-5
302	100 ver	NEG	NEG	70,2	173	49,2	-16	NEG	-4
303	207 bl	NEG	NEG	83,4	180	12,1	-20	NEG	0
304	3bl	NEG	NEG	76,6	179,9	63,3	4	NEG	-4
305	96 ver	NEG	NEG	85,2	208,3	39,5	-5	NEG	13
306	104 ver	NEG	NEG	82,3	159,6	57,5	3	NEG	-3
307	223 am	NEG	NEG	81,4	178,6	20,6	9	NEG	-4
308	83 bl	NEG	NEG	82,4	160,9	72,9	10	NEG	0
309	17 bl	NEG	NEG	84,1	183,8	65,5	-4	NEG	-4
310	99 ver	NEG	NEG	80,7	159,7	60,7	-4	NEG	-2
311	1 14	NEG	NEG	83,8	168,8	65,7	-29	NEG	-3
312	107 bl	NEG	NEG	81,7	160,7	37,8	0	NEG	-1
313	6bl	NEG	NEG	88,6	162	66,3	6	NEG	-4
314	222 am	NEG	NEG	80,3	135,6	67,2	9	NEG	0
315	217am	NEG	NEG	81,5	NA	NA	25	NEG	-5

DONDE

ID = IDENTIFICACION.

RB = ROSA DE BENGALA.

FC = FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO.

FPS = FLUORESCENCIA POLARIZADA EN SUERO.

FPB= FLUORESCENCIA POLARIZADA EN SANGRE.

FPL= FLUORESCENCIA POLARIZADA EN LECHE.

CELISA= ELISA DE COMPETENCIA EN LECHE.

RT= RING TEST

EELISA= ELISA INDIRECTO EN LECHE.

NA=NO APTA.

Anexo N°2. Detalle de los resultados en los ensayos efectuados a partir del grupo "Negativos Vacunados".

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
1	878	NEG	NEG	82,9	167,8	76,2	0	NEG	0
2	993	NEG	NEG	92,8	161,1	51,4	-2	NEG	0
3	32	NEG	NEG	90,2	78,2	53,9	-3	NEG	0
4	97	NEG	NEG	89,6	71,7	56	2	NEG	6
5	991	NEG	NEG	79,7	76,8	56,3	-1	NEG	1
6	91	NEG	NEG	88,1	83,9	57,8	0	NEG	2
7	977	NEG	NEG	85,7	78,5	60,9	0	NEG	1
8	979	NEG	NEG	83,9	70,8	46,6	-2	NEG	1
9	918	NEG	NEG	83,7	116,8	57,6	5	NEG	2
10	906	NEG	NEG	84,1	74,6	29,2	-2	NEG	2
11	19	NEG	NEG	87,1	65	45,5	6	NEG	10
12	116	NEG	NEG	81	70,4	1,8	-7	NEG	1
13	1003	NEG	NEG	91,6	122,2	60,4	0	NEG	1
14	275	NEG	NEG	82,8	77,9	66,1	4	NEG	4
15	961	NEG	NEG	85,9	166	58,9	1	P1	1
16	218	NEG	NEG	83,6	84,6	48,6	-2	NEG	0
17	124	NEG	NEG	87,2	68,3	62,4	2	NEG	1
18	31	NEG	NEG	89	78,1	58,9	29	NEG	3
19	100	NEG	NEG	87,9	76	53,3	-1	NEG	1
20	247	NEG	NEG	81,8	51,2	66,5	-3	NEG	1
21	1001	NEG	NEG	87,9	86,3	51,2	2	NEG	3
22	65	NEG	NEG	81,2	71,7	42,3	7	NEG	7
23	989	NEG	NEG	83,9	88	58,3	5	NEG	2
24	971	NEG	NEG	82,6	92,2	43,3	4	NEG	1
25	128	NEG	NEG	85,7	88,4	63,1	-2	NEG	4
26	134	NEG	NEG	85,8	88	68	-3	NEG	1
27	228	NEG	NEG	86,8	87,3	61,3	2	NEG	3
28	255	NEG	NEG	70,1	73,4	56 ^e	0	NEG	1
29	212	NEG	NEG	81,2	76,1	44,6	1	NEG	2
30	270	NEG	NEG	89,3	74,7	58,8	6	NEG	14
31	188	NEG	NEG	82	85,3	57,4	3	NEG	12
32	253	NEG	NEG	86,3	102,4	61	3	NEG	0
33	973	NEG	NEG	87	173,7	61,4	2	NEG	10
34	214	NEG	NEG	79,8	93,8	48,9	-2	NEG	2

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
35	913	NEG	NEG	86,4	71,5	61	9	NEG	7
36	964	NEG	NEG	86,9	61,6	64,6	3	NEG	0
37	225	NEG	NEG	77,7	84,6	55,4	8	NEG	1
38	243	NEG	NEG	71	62	58,9	5	NEG	3
39	15	NEG	NEG	88,2	85	65,9	11	NEG	1
40	2691	NEG	NEG	81,8	86,8	58,7	12	NEG	3
41	976	NEG	NEG	86,7	71,7	29	3	NEG	1
42	970	NEG	NEG	83,8	69,7	42,2	3	NEG	0
43	55	NEG	NEG	87,8	76,9	50,1	13	NEG	28
44	26	NEG	NEG	89,7	71	64,7	3	P2	2
45	76	NEG	NEG	84,8^	76,2	26,7	11	NEG	1
46	2686	NEG	NEG	90,9	68,9	59,7	11	NEG	0
47	927	NEG	NEG	76,9	106,7	62,1	13	NEG	1
48	984	NEG	NEG	83,1	30,1	59,3	11	NEG	1
49	951	NEG	NEG	88,4	75,7	57,3	4	NEG	1
50	34	NEG	NEG	84,1	117,3	67,6	1	NEG	0
51	2679	NEG	NEG	87	103,6	63,6	9	NEG	1
52	994	NEG	NEG	88,4	82,7	43,5	4	NEG	1
53	129	NEG	NEG	44,6	59,3	56,8	11	NEG	3
54	915	NEG	NEG	48,6	73,7	54,5	15	P3	1
55	27	NEG	NEG	77	95	57,8	8	NEG	0
56	920	NEG	NEG	76,9	59,3	53,1	10	NEG	1
57	2673	NEG	NEG	84	93,6	38,6	4	NEG	0
58	923	NEG	NEG	71,5	144,3	72,5	15	NEG	1
59	25	NEG	NEG	80,5	423,6	58,6	7	NEG	1
60	877	NEG	NEG	72,8	87,9	62	8	NEG	3
61	210	NEG	NEG	96,1	60,8	53,3	44	NEG	1
62	221	NEG	NEG	68,9	82,4	57,2	10	NEG	0
63	910	NEG	NEG	65,9	89,9	70,5	14	NEG	1
64	21	NEG	NEG	82,4	101,1	46,2	21	P1	4
65	108	NEG	NEG	81,7	96,8	52,5	9	NEG	0
66	1004	NEG	NEG	70,8	65,6	52,1	9	NEG	0
67	258	NEG	NEG	65,3	80,8	49,6	9	NEG	1
68	1005	NEG	NEG	73,2	97,7	48,5	5	NEG	3
69	990	NEG	NEG	76,1	93,8	72,4	8	NEG	0
70	64	NEG	NEG	78,3	89,9	68,7	11	NEG	0
71	29	NEG	NEG	54,8	75,6	68,5	24	NEG	1

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
72	78	NEG	NEG	75,3	86,3	69,6	12	NEG	4
73	205	NEG	NEG	62,7	107,4	36,1	10	NEG	1
74	193	NEG	NEG	63,2	94	79,9	27	NEG	2
75	975	NEG	NEG	86,6	92,7	50	9	NEG	3
76	1000	NEG	NEG	91,2	100,4	61,9	12	NEG	-1
77	260	NEG	NEG	85,5	85,2	61,2	-14	NEG	1
78	242	NEG	NEG	83,7	84,9	53,1	-6	NEG	0
79	901	NEG	NEG	84,1	106,3	65,9	-A	NEG	6
80	72	NEG	NEG	82,6	91,5	49,1	-1	NEG	1
81	998	NEG	NEG	56,2	120,5	50,4	6	NEG	0
82	992	NEG	NEG	87,4	213,3	46,1	-7	NEG	1
83	986	NEG	NEG	91,1	97,7	43,5	3	NEG	3
84	241	NEG	NEG	75,4	91,8	51,2	-1	NEG	1
85	120	NEG	NEG	81,1	97,9	52	-9	NEG	1
86	217	NEG	NEG	79,2	94	15,3	-13	NEG	0
87	74	NEG	NEG	88,4	91,8	41,8	-14	NEG	2
88	57	NEG	NEG	87,3	109,6	75,9	-3	NEG	3
89	988	NEG	NEG	81,2	102,2	45,2	-7	NEG	1
90	66	NEG	NEG	88,5	112,1	50,3	-5	NEG	1
91	3	NEG	NEG	87,9	96,7	68,5	-1	NEG	1
92	1002	NEG	NEG	88,1	104,1	55,4	-4	NEG	2
93	88	NEG	NEG	84,5	125,8	62,4	-13	NEG	0
94	48	NEG	NEG	89,8	127	46	1	NEG	1
95	92	NEG	NEG	89,8	97,1	72,5	-11	NEG	1
96	238	NEG	NEG	86,2	94	72,5	-9	NEG	3
97	972	NEG	NEG	83	107,1	65	-10	NEG	1
98	966	NEG	NEG	87,4	129,2	83,3	-8	NEG	6
99	980	NEG	NEG	82,4	76,1	89,3	-6	NEG	1
100	43	NEG	NEG	84,9	109,5	56,6	2	NEG	3
101	909	NEG	NEG	90,8	102,5	73,3,	-16	NEG	4
102	58	NEG	NEG	90,6	113,7	651	-9	NEG	2
103	213	NEG	NEG	78,2	89,3	56,7	-11	NEG	0
104	916	NEG	NEG	78,8	85,3	64,9	-8	NEG	2
105	81	NEG	NEG	95,9	116,5	66,4	8	NEG	1
106	99	NEG	NEG	81,6	99,8	65,1	-9	NEG	0
107	884	NEG	NEG	86,5	91,8	48,2	1	NEG	3
108	35	NEG	NEG	85,1	97,5	68,1	-2	NEG	3

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
109	54	NEG	NEG	82,1	142,5	58,1	10	NEG	0
110	967	NEG	NEG	87,9	112,8	60,8	17	NEG	6
111	265	NEG	NEG	86,2	94,5	36,7	23	NEG	2
112	969	NEG	NEG	91,9	78,9	41,9	21	NEG	0
113	905	NEG	NEG	83,3	63,6	68,9	16	NEG	1
114	51	NEG	NEG	58,3	123	69	-5	NEG	12
115	997	NEG	NEG	71,6	93,9	67,4	13	NEG	0
116	80	NEG	NEG	85,4	93,4	40	21	NEG	3
117	189	NEG	NEG	85,3	82,1	66,2	20	NEG	3
118	985	NEG	NEG	103,2	122,1	63,8	17	NEG	0
119	28	NEG	NEG	110,6	79,8	43	18	NEG	1
120	24	NEG	NEG	113	104,3	53,2	11	NEG	0
121	40	NEG	NEG	111,7	104,6	62,5	14	NEG	1
122	931	NEG	NEG	98,5	87,5	52,2	13	NEG	0
123	924	NEG	NEG	103,2	93,7	63,4	19	NEG	1
124	46	NEG	NEG	93,4	126,1	78,9	14	NEG	1
125	956	NEG	NEG	95,1	59,3	42,7	5	NEG	0
126	10	NEG	NEG	86,6	90,1	50,8	24	NEG	1
127	999	NEG	NEG	76,9	92,8	49,1	21	NEG	0
128	985	NEG	NEG	77,2	93,1	37,4	37	NEG	3
129	995	NEG	NEG	91,3	78,6	22,5	26	NEG	0
130	2	NEG	NEG	99,1	93,1	44,3	11	NEG	1
131	90	NEG	NEG	61,5	85,8	21,8	13	NEG	8
132	959	NEG	NEG	80,2	88,7	59,8	-3	NEG	1
133	94	NEG	NEG	98,9	101,3	58,2	21	NEG	0
134	912	NEG	NEG	85,2	105,1	79,2	16	NEG	6
135	13	NEG	NEG	89,8	91,2	14,9	12	NEG	34
136	196	NEG	NEG	86	67,3	30,4	18	NEG	4
137	6695	NEG	NEG	84,4	121,7	67,9	24	NEG	2
138	5671	NEG	NEG	80,5	71	71,5	13	NEG	0
139	7776	NEG	NEG	94,8	96,4	35,6	3	NEG	2
140	7878	NEG	NEG	82,3	104,4	56,1	8	NEG	1
141	7814	NEG	NEG	85,6	112,1	68,7	16	NEG	3
142	5762	NEG	NEG	88	113,8	44	20	NEG	0
143	7002	NEG	NEG	72,7	98,1	37,9	28	NEG	-1
144	6868	NEG	NEG	89,5	1366,1	50,7	13	NEG	1
145	O169	NEG	NEG	56,7	131,5	58,8	9	NEG	5

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
146	7843	NEG	NEG	84,6	105,5	43,2	13	NEG	1
147	7861	NEG	NEG	85,9	127,1	65,1	-17	NEG	9
148	7835	NEG	NEG	59,6	121,5	30,5	8	NEG	2
149	7773	NEG	NEG	93,9	220,7	55,2	21	NEG	2
150	O133	NEG	NEG	90,9	112,7	70,5	8	NEG	6
151	7751	NEG	NEG	84	128,1	203,8	-5	NEG	0
152	7702	NEG	NEG	79	127,1	50,6	9	NEG	1
153	7203	NEG	NEG	83,8	121,3	75,9	14	NEG	1
154	7119	NEG	NEG	88,7	99,1	47,9	-3	NEG	1
155	7623	NEG	NEG	74,8	120,6	63,5	-20	NEG	0
156	7701	NEG	NEG	65,1	95,6	51,4	10	NEG	1
157	6903	NEG	NEG	95	115,7	38,3	14	NEG	6
158	O147	NEG	NEG	62,8	103,3	71,7	16	NEG	3
159	6447	NEG	NEG	94,1	105,4	50,1	15	NEG	0
160	7792	NEG	NEG	82,5	114	59,4	3	NEG	1
161	6540	NEG	NEG	91,3	126,1	19,6	13	NEG	3
162	7620	NEG	NEG	74,5	122,6	62,3	14	NEG	0
163	5699	NEG	NEG	70,3	96,1	65,5	2	NEG	1
164	7614	NEG	NEG	87,1	115,4	33,3	3	NEG	1
165	7461	NEG	NEG	95,3	102,4	65,8	48	NEG	2
166	7336	NEG	NEG	88,6	109,5	NA	7	NEG	3
167	7889	NEG	NEG	62,6	103,7	65,2	32	NEG	2
168	O227	NEG	NEG	85	101,7	52,7	-9	NEG	17
169	6993	NEG	NEG	78,3	133	62,5	7	NEG	NA
170	7558	NEG	NEG	76,5	114,5	67,5	3	NEG	-1
171	6500	NEG	NEG	86,2	123,3	NA	-11	NEG	NA
172	6965	NEG	NEG	87,4	117,8	NA	11	NEG	2
173	O193	NEG	NEG	82,1	108	80,9	5	NEG	5
174	7341	NEG	NEG	85,3	102,3	36,7	22	NEG	2
175	7108	NEG	NEG	85,5	100,5	48,6	8	NEG	0
176	7806	NEG	NEG	86,1	104,7	65,6	0	NEG	2
177	7220	NEG	NEG	79,7	104,5	43,3	8	NEG	7
178	7576	NEG	NEG	85,8	121,8	39,1	-11	NEG	1
179	7857	NEG	NEG	92,2	114,5	85,2	-30	NEG	3
180	7571	NEG	NEG	73,7	109,5	60,7	5	NEG	0
181	7430	NEG	NEG	81,9	118,7	74	1	NEG	3
182	6627	NEG	NEG	89,3	109,3	67,5	13	NEG	3

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
183	O217	NEG	NEG	80,9	89,2	79,4	1	NEG	4
184	7755	NEG	NEG	76,9	110,7	9,2	4	NEG	-1
185	O117	NEG	NEG	95,7	128,5	59,8	-7	NEG	4
186	6652	NEG	NEG	89,2	124	68,1	-29	NEG	0
187	7789	NEG	NEG	84,6	125,9	63,6	-29	NEG	2
188	7706	NEG	NEG	97,5	105,1	102,1	-5	NEG	NA
189	7116	NEG	NEG	79,8	96,8	35,2	-7	NEG	0
190	O1 43	NEG	NEG	85,5	98,7	34,8	22	NEG	-1
191	7794	NEG	NEG	87	127,4	74,4	-8	NEG	4
192	O177	NEG	NEG	90	96,7	46,3	-14	NEG	3
193	O152	NEG	NEG	59,5	102,6	78,3	1	NEG	-1
194	7791	NEG	NEG	87,9	135,5	46,9	-19	NEG	14
195	7868	NEG	NEG	86,1	102,9	NA	-31	NEG	2
196	O172	NEG	NEG	84,4	110,6	54,7	-2	NEG	4
197	6926	NEG	NEG	83,7	120,8	51,7	4	NEG	2
198	6539	NEG	NEG	85,5	106,6	64,9	14	NEG	0
199	7786	NEG	NEG	85,6	104,1	59,6	24	NEG	0
200	7723	NEG	NEG	85,3	100,6	64,1	-13	NEG	-1
201	6870	NEG	NEG	83,1	91,3	68,3	-8	NEG	1
202	6692	NEG	NEG	84,9	110,7	40,8	9	NEG	0
203	6841	NEG	NEG	88,8	104,4	58,4	1	NEG	0
204	7765	NEG	NEG	87,5	110,7	NA	10	NEG	NA
205	7873	NEG	NEG	83,2	100,1	52,6	-6	NEG	2
206	6337	NEG	NEG	75,7	108,7	NA	5	NEG	NA
207	6622	NEG	NEG	83,2	108,2	54,9	-5	NEG	3
208	O211	NEG	NEG	71,7	107,4	64,3	-30	NEG	0
209	O181	NEG	NEG	82,9	108,7	64	-14	NEG	11
210	O142	NEG	NEG	83,3	113,3	60,5	-22	NEG	1
211	7763	NEG	NEG	83,1	107,2	60,8	-9	NEG	5
212	6386	NEG	NEG	84	135,7	66,7,	-5	NEG	3
213	7860	NEG	NEG	82,2	116,6	65,8	19	NEG	8
214	O216	NEG	NEG	82,5	107	64,4	1	NEG	3
215	7582	NEG	NEG	61,1	118,4	NA	8	NEG	NA
216	6177	NEG	NEG	82,9	98,4	NA	-11	NEG	NA
217	7577	NEG	NEG	92,7	112,2	52,3	10	NEG	15
218	6308	NEG	NEG	83,9	119,7	62,9	-9	NEG	0
219	6518	NEG	NEG	80,9	117,2	59,5	-26	NEG	-1

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
220	7573	NEG	NEG	82,6	100,3	52,1	1	NEG	0
221	6269	NEG	NEG	74,4	117,2	67,6	-6	NEG	3
222	7573	NEG	NEG	89,4	102,4	NA	10	NEG	NA
223	7122	NEG	NEG	85,3	171,2	51,5	4	NEG	2
224	7608	NEG	NEG	83,7	82,4	66	8	NEG	-1
225	6594	NEG	NEG	82,5	143	54	4	NEG	0
226	6881	NEG	NEG	83,1	110,3	59,8	-23	NEG	0
227	O221	NEG	NEG	84,2	106,9	61,9	-14	NEG	0
228	7013	NEG	NEG	81,7	119,8	52,7	17	NEG	1
229	7575	NEG	NEG	81,7	129,3	50,9	10	NEG	1
230	7798	NEG	NEG	78,2	117,6	59,3	26	NEG	5
231	6793	NEG	NEG	73,6	145,2	56,9	21	NEG	5
232	6688	NEG	NEG	76,1	113,5	NA	25	NEG	NA
233	7422	NEG	NEG	68,1	138,6	64,1	12	NEG	2
234	6585	NEG	NEG	67,9	140,5	58,1	13	NEG	0
235	6727	NEG	NEG	80,1	119,2	60,6	-27	NEG	-1
236	6693	NEG	NEG	88,6	128,8	76,5	26	NEG	1
237	O166	NEG	NEG	97,2	95,3	55,3	23	NEG	5
238	7202	NEG	NEG	84,2	96,3	57,4	6	NEG	1
239	7313	NEG	NEG	80,6	108,7	59,8	25	NEG	2
240	6715	NEG	NEG	86,5	99,8	62,3	-10	NEG	-1
241	O164	NEG	NEG	NA	125,2	57,9	19	NEG	6
242	7714	NEG	NEG	88,6	102,5	62,5	21	NEG	1
243	6709	NEG	NEG	85,9	92,6	58,8	-4	NEG	0
244	5928	NEG	NEG	82,8	106,4	NA	27	NEG	NA
245	7400	NEG	NEG	81,9	116,3	62,5	-3	NEG	0
246	O214	NEG	NEG	81,9	96,8	61,2	27	NEG	-1
247	O1 73	NEG	NEG	83,5	58	35	16	NEG	0
248	7456	NEG	NEG	84,1	91,4	56,2	24	NEG	-1
249	6866	NEG	NEG	81,6	87,7	61,1.	26	NEG	3
250	7295	NEG	NEG	65,2	97,4	62,5	8	NEG	1
251	O219	NEG	NEG	86,2	90	54,9	5	NEG	1
252	7736	NEG	NEG	84,7	94,3	61,4	25	NEG	0
253	7305	NEG	NEG	86,6	123,4	66,7	7	NEG	-1
254	O1 65	NEG	NEG	82,7	120,9	55,5	14	NEG	5
255	7569	NEG	NEG	82,3	97,4	61,5	18	NEG	3
256	OOO6	NEG	NEG	83,3	94,9	57,8	18	NEG	2

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
257	0012	NEG	NEG	82,2	101,9	56	4	NEG	4
258	6821	NEG	NEG	87,5	111	57,8	6	NEG	14
259	7340	NEG	NEG	93,6	86,8	58,6	18	NEG	3
260	O115	NEG	NEG	84,4	103,8	NA	-7	NEG	NA
261	6916	NEG	NEG	79,8	110,1	62,5	-9	NEG	1
262	0194	NEG	NEG	84	89	66,1	-13	NEG	13
263	0799	NEG	NEG	84	97,3	63,3	3	NEG	0
264	7788	NEG	NEG	82,9	127,1	61,4	7	NEG	15
265	7221	NEG	NEG	82	115,3	57,1	-9	NEG	8
266	7619	NEG	NEG	81,7	94	65,8	-14	NEG	4
267	7546	NEG	NEG	80,8	101,6	52,8	-7	NEG	2
268	7790	NEG	NEG	80,4	88,6	60,9	0	NEG	5
269	7114	NEG	NEG	78,7	105,8	67,4	-9	NEG	5
270	6778	NEG	NEG	82,2	106,3	63	-12	NEG	7
271	9616	NEG	NEG	81,3	109,8	63	1	NEG	14
272	O1 78	NEG	NEG	87,9	115,1	69,7	-12	NEG	6
273	7427	NEG	NEG	88,9	111,3	54,4	-11	NEG	11
274	7595	NEG	NEG	81,1	88,9	46,2	-14	NEG	4
275	7147	NEG	NEG	84,7	125,4	NA	-19	NEG	NA
276	7750	NEG	NEG	82,9	132,8	59,9	-7	NEG	14
277	O1 68	NEG	NEG	82,5	105,8	68,3	-6	NEG	9
278	7334	NEG	NEG	89,7	102,4	59	-12	NEG	9
279	0157	NEG	NEG	78,1	117,2	47,5	1	NEG	5
280	7771	NEG	NEG	85,3	122,3	62,5	-12	NEG	6
281	7542	NEG	NEG	81,7	120,5	58,5	-26	NEG	2
282	7292	NEG	NEG	83,3	115,4	69,8	-12	NEG	6
283	7373	NEG	NEG	86,1	92,9	58,3	-20	NEG	0
284	7707	NEG	NEG	87,6	118,5	45,1	-4	NEG	1
285	7749	NEG	NEG	81,5	109,3	60,2	1	NEG	8
286	6928	NEG	NEG	83,2	92,5	59,4,	-13	NEG	1
287	7407	NEG	NEG	67,6	112,1	68	-6	NEG	1
288	7922	NEG	NEG	81,7	147,6	65,9	-15	NEG	8
289	5999	NEG	NEG	90,2	129,7	55,1	-19	NEG	7
290	O146	NEG	NEG	91,9	87,9	57,1	-21	NEG	7
291	7128	NEG	NEG	85,6	110,8	61,4	-23	NEG	2
292	7869	NEG	NEG	88,5	119,3	57,1	-7	NEG	9
293	6799	NEG	NEG	70,3	64,9	56,2	-16	NEG	4

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
294	7448	NEG	NEG	76	101,9	61,9	-1	NEG	14
295	0188	NEG	NEG	85,8	101	56,6	5	NEG	6
296	7717	NEG	NEG	81,2	83,9	66,3	-10	NEG	5
297	7741	NEG	NEG	92,9	105	NA	-8	NEG	NA
298	5676	NEG	NEG	89,2	93,9	71,3	-16	NEG	6
299	6828	NEG	NEG	90,4	113,4	70,1	-8	NEG	5
300	6725	NEG	NEG	81	96,9	58,4	-3	NEG	2
301	O158	NEG	NEG	96,1	88,2	61	3	NEG	4
302	7457	NEG	NEG	85,8	no	54	-8	NEG	2
303	7923	NEG	NEG	88,8	107,7	NA	-14	NEG	NA
304	9604	NEG	NEG	84,7	126,1	65	-15	NEG	8
305	7483	NEG	NEG	83,1	138,4	53,9	-11	NEG	4
306	6198	NEG	NEG	85	109,2	60,5	-14	NEG	4
307	7804	NEG	NEG	82,5	89,2	66,6	-14	NEG	6
308	7908	NEG	NEG	85,3	163,2	50,9	0	NEG	12
309	7019	NEG	NEG	89,5	80,1	77,7	3	NEG	5
310	6924	NEG	NEG	90,1	100,8	52,5	-15	NEG	1
311	7586	NEG	NEG	82,9	83,1	57,6	-20	NEG	3
312	7850	NEG	NEG	74,2	16,6	52,7	-6	NEG	8
313	6952	NEG	NEG	84,5	106,1	55,4	-14	NEG	0
314	7874	NEG	NEG	82	109,3	NA	12	NEG	NA
315	7724	NEG	NEG	82,9	58,3	62,7	-15	NEG	3
316	7572	NEG	NEG	90,2	119	66,7	-4	NEG	13
317	O145	NEG	NEG	92,1	92,5	62,7	9	NEG	7
318	7757	NEG	NEG	90,4	107,2	53,3	4	NEG	17
319	O209	NEG	NEG	88,4	116,7	55,3	21	NEG	23
320	6352	NEG	NEG	92	94,5	65,5	19	NEG	4
321	7805	NEG	NEG	88,1	111,3	55,8	0	NEG	3
322	7704	NEG	NEG	88,2	76,6	59,3	-5	NEG	2
323	7460	NEG	NEG	85,7	117,5	56,4	-7	NEG	1
324	7818	NEG	NEG	92,9	86,4	56,2*	7	NEG	2
325	7698	NEG	NEG	87,6	118,1	66,7	7	NEG	4
326	O179	NEG	NEG	85,6	10,2	52,4	2	NEG	3
327	7593	NEG	NEG	86,8	92,3	67,8	26	NEG	3
328	7359	NEG	NEG	88	108,1	62,5	-6	NEG	8
329	7100	NEG	NEG	99,1	116	56,7	-6	NEG	3
330	6787	NEG	NEG	84	59	NA	6	NEG	NA

N° animal	ID	Prueba en Sangre				Prueba en Leche			
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA
331	6920	NEG	NEG	82,5	107,1	57,4	-6	NEG	2
332	5730	NEG	NEG	82,7	91,1	60,1	-8	NEG	5
333	5931	NEG	NEG	86,3	104,1	69,4	-1	NEG	12
334	6284	NEG	NEG	116,5	90,4	49,9	7	NEG	4
335	7799	NEG	NEG	74,4	94,7	63,3	-5	NEG	2
336	6134	NEG	NEG	78,6	97,6	55,3	34	NEG	2

Anexo N°3. Detalle de los resultados de los ensayos efectuados a partir del grupo "Positivos".

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N°aisl.
1	2920/12392	POS	320	247,1	248,2	205	98	P3	67	POS	2
2	1738	POS	160	225,8	210,3	119	99	P3	70	POS	2
3	16038/773538	POS	160	209,8	205,7	95	98	P3	72	NEG	
4	100181/22	POS	320	276,1	262,2	230	98	P4	60	POS	3
5	5740	POS	160+	245,9	332,5	200	98	P4	41	NEG	
6	96/3338	POS	40	225,4	235	171	97	P3	55	NEG	
7	2072	POS	640	250,2	246	219	99	P4	24	NEG	
8	173	POS	10	155,4	118	150	71	P3	55	NEG	
9	5395/5395	NEG	NEG	64,2	87	73	9	NEG	7	NEG	
10	100255/50467	POS	20+	135,2	137	92	79	P2	35	NEG	
11	4771	POS	640	279,6	280	213	97	P4	29	POS	3
12	6123	POS	40	221,6	184	131	97	P4	80	POS	1
13	5241/475952	POS	160	221,4	204	168	98	P4	72	POS	3
14	5434/5434	POS	640	252,7	235	185	97	P3	66	POS	3
15	390/41043	POS	320	253,4	235	166	99	P4	56	POS	3
16	1601/55	POS	640	270,5	279	234	98	P3	47	POS	1
17	45199/706	POS	160	236,9	216	196	95	P4	54	NEG	
18	1125	POS	160	246,2	232	89	98	P4	47	NEG	
19	100206/6172	POS	640+	267,3	253	60	97	P4	81	POS	3
20	100268/8153	POS	160	245,4	250	114	97	P4	32	NEG	
21	4703/4703	POS	640	248,2	no	119	98	P2	43	POS	4
22	2094/25	POS	80	253,6	no	125	99	P4	32	NEG	
23	4801	POS	160	257,3	no	51	97	P3	56	NEG	
24	8124/8124	POS	40+	261,7	no	95	97	P2	51	POS	2
25	3018/752015	POS	80	224,5	no	197	97	P4	87	POS	2
26	0086/384151	NEG	NEG	249,9	no	19	18	NEG	17	NEG	
27	565/80106	POS	40+	279,2	no	139	99	P2	90	POS	1
28	2119/2119	POS	640	131,1	no	206	100	P3	55	POS	4
29	1199/8732	POS	NEG	85	no	28	73	P3	68	NEG	
30	9088/8657	POS	NEG	219,7	no	48	14	P3	51	NEG	
31	597	POS	640	235,6	no	211	100	P4	49	POS	4
32	874	POS	160	243,4	no	101	99	P4	67	POS	1
33	4002	POS	160	229	no	167	99	P4	60	NEG	
34	1251	POS	80	273,3	no	134	99	P2	58	NEG	
35	1731	POS	320	237,3	no	132	99	P4	62	POS	4
36	4557	POS	80	241,8	no	176	100	P4	55	POS	4
37	2100	POS	320	249,2	no	124	100	P4	49	POS	4
38	93610	POS	320	244,6	no	144	99	P4	62	POS	4
39	70059	POS	320	297	no	251	99	P3	65	POS	3
40	242	POS	320+	238,8	no	165	99	P4	45	POS	3
41	3075	NEG	NEG	89,5	no	60	11	P1	49	NEG	
42	534	POS	40	167,1	no	98	89	P4	52	NEG	

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche					Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N° aisl.	
43	45052	NEG	NEG	87,3	no	56	0	NEG	36	NEG		
44	8774	POS	320	269	no	146	99	P4	96	POS	2	
45	2312	POS	160	256,3	no	170	99	P4	44	POS	2	
46	1766	POS	320	254,1	no	191	99	P3	70	POS	4	
47	2581	POS	20	232,2	no	185	99	P4	71	POS	2	
48	7600	POS	320+	256,6	no	160	99	P4	97	POS	2	
49	8071	POS	320+	245,8	no	113	100	P4	67	POS	1	
50	8176	POS	320	258,9	no	230	99	P4	35	POS	3	
51	25	POS	20	128,8	no	87	91	P1	54	POS	2	
52	17169	POS	40+	207,4	no	91	99	P4	85	NEG		
53	140	POS	80++	237,3	no	174	99	P4	62	POS	1	
54	509	POS	80	225,4	no	71	99	P3	87	NEG		
55	312	POS	320	259,1	248	189	99	P4	34	POS	4	
56	1220	POS	320	249,7	242	180	99	P3	34	POS	4	
57	7600	POS	320+	254	249	141	99	P3	55	POS	1	
58	136	POS	640	251,2	263	181	99	P2	67	POS	3	
59	3641	POS	640	227,3	267	235	98	P2	85	POS	2	
60	1147	POS	20	199	181	158	99	P4	51	NEG		
61	4445	POS	80	129,6	257	215	99	P4	51	POS	2	
62	1025	POS	320	234,7	270	218	99	P4	50	POS	4	
63	4963	POS	80	214	236	140	99	P2	99	POS	1	
64	92092	POS	40	201,9	225	181	99	P3	115	POS	2	
65	22504	NEG	NEG	84,5	12*	65	1	NEG	5	NEG		
66	3074	NEG	NEG	82,8	115	67	-3	NEG	1	NEG		
67	94105	NEG	NEG	84,4	100	77	-5	NEG	-3	NEG		
68	5702	POS	160	264,2	256	198	99	P4	48	POS	2	
69	100243	POS	320	244,1	255	191	99	P2	71	POS	2	
70	93083-605	NEG	NEG	92,1	82	67	8	NEG	14	NEG		
71	3237	POS	320	259,1	267	215	99	P2	119	POS	3	
72	288	POS	10	137,3	153	71	76	P2	97	NEG		
73	1137	POS	20	212,3	231	132	99	P3	67	NEG		
74	694	POS	320	252,8	260	200	100	P4	75	POS	3	
75	93083-	NEG	NEG	85,7	119	71	-3	NEG	5	NEG		
76	37	POS	80	207,5	245	97	98	P3	74	NEG		
77	1350	POS	160	215,1	217	96	98	P3	104	POS	3	
78	22133	NEG	NEG	89,1	106	50	14	P2	66	NEG		
79	435	POS	160	125,1	161	81	96	P4	50	NEG		
80	1790	POS	320	228,5	268	200	99	P4	108	POS	3	
81	70435	POS	320	238,5	269	160	98	P4	39	POS	1	
82	157420	NEG	NEG	116,9	111	55	-4	P4	1	NEG		
83	03	POS	320	221,8	251	190	100	P4	19	POS	4	
84	155	POS	20	126,1	130	60	87	P3	47	NEG		
85	2012	POS	640	271,8	256	197	100	P4	33	POS	3	
86	6805	POS	320	228,9	182	191	99	P3	61	NEG		

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Prueba en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IEUSA	Status	N° aisl.
87	6513MET	POS	640	251,4	245	195	100	P1	122	POS	4
88	4284MET	POS	40	222,5	160	102	100	P3	98	NEG	
89	636462	POS	640	243,8	239	142	100	P4	47	POS	3
90	142	POS	320	246,3	256	179	100	P4	32	POS	4
91	5134	POS	80	280,1	273	200	98	P4	35	POS	1
92	4053	NEG	NEG	89,1	102	55	11	NEG	7	NEG	
93	4226	POS	160	230,6	225	127	97	P3	83	POS	3
94	8450	POS	320	228,8	240	180	97	P4	59	POS	1
95	90327	POS	640	210,8	232	118	93	P2	88	POS	1
96	2023	POS	320+	217,9	255	203	96	P4	47	POS	3
97	333616	POS	80++	217,6	219	108	93	P3	64	NEG	
98	994769	POS	640	304,3	227	160	96	P3	44	POS	4
99	780	POS	320	269,7	273	152	95	P4	60	POS	2
100	45087	POS	80	228,3	217	124	96	P4	82	POS	2
101	94384	POS	80	253,4	253	167,1	96	P4	36	POS	1
102	2094	POS	40++	230	252	117	97	P4	32	NEG	
103	100212	POS	160	263,3	252	170	91	P4	49	POS	3
104	100236	POS	40++	171,1	170	116	93	P4	28	NEG	
105	7507	POS	160	171,2	171	100	93	P4	48	POS	2
106	0481	POS	160	242	238	222	93	P4	34	POS	2
107	2003	NEG	NEG	NA	129	70	52	P1	36	NEG	
108	88	POS	80+	249,2	263	162	97	P4	30	POS	3
109	4970	NEG	NEG	85,5	105	68	50	NEG	34	NEG	
110	1199	NEG	NEG	108,9	122	75	82	P2	55	NEG	
111	70053	POS	40	243,5	297	126	96	P4	64	NEG	
112	6194	NEG	20+	119,6	117	101	99	P3	37	NEG	
113	100213	POS	40	189,4	197	no	98	P3	90	NEG	
114	481	POS	160+	207,7	115	190	97	P4	24	POS	1
115	1005	POS	20	146,4	149	73	97	P3	53	NEG	
116	8278	POS	80	240,5	239	125	97	P4	53	POS	1
117	2291	NEG	10	115,2	111	83	94	NEG	67	NEG	
118	7100	NEG	10	152	127	111	90	P3	22	NEG	
119	1095	POS	40	167,6	156	82	98	P3	69	NEG	
120	45271	POS	20	NA	163	85	91	P4	52	NEG	
121	70336	POS	80	274,5	219	108	99	P4	82	POS	1
122	70290	POS	NEG	103,5	96	79	-86	P2	53	NEG	
123	45420	NEG	80	136,6	143	96	98	P4	41	POS	1
124	5056	POS	640	248,7	246	199	98	P4	56	POS	4
125	8393	NEG	NEG	115,8	126	72	67	NEG	41	NEG	
126	45149	POS	320	273,7	253	134	97	P4	21	POS	2
127	822	POS	320	268,9	266	196	98	P4	65	POS	2
128	100228	POS	20	240,5	194	118	98	P4	65	NEG	
129	4970	NEG	20	88,4	113	80	8	NEG	15	NEG	
130	45479	NEG	NEG	86	118	57	14	P2	22	NEG	

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N° aisl.
131	4004	POS	20	210,8	230	159	95	P4	39	NEG	
132	100203	POS	40	261,4	249	106	97	P4	56	POS	1
133	6547	POS	160	238,8	260	151	97	P4	53	POS	4
134	5848	POS	320	236,2	234	101	97	P4	40	POS	2
135	70053	POS	640	248,7	249	160	98	P4	55	NEG	
136	100154	POS	40	255,7	273	153	98	P4	71	POS	1
137	100235	POS	160	191,7	210	64	96	P4	73	NEG	
138	45087	POS	40	266,2	265	162	98	P4	77	POS	2
139	94384	POS	160	259	264	197	97	P4	63	POS	2
140	4226	POS	160	251,8	250	168	97	P4	54	POS	2
141	7712	POS	160	239,2	241	100	98	P4	52	NEG	
142	100113	NEG	NEG	101	135	87	39	NEG	50	NEG	
143	8070	NEG	NEG	95,9	136	68	35	NEG	38	NEG	
144	7515	POS	320+	228,5	227	119	100	P4	82	NEG	
145	93336	POS	320	263,6	278	197	100	P4	40	POS	3
146	2001	POS	320	275,6	249	101	96	P4	82	POS	3
147	4688	POS	320	263,7	290	178	99	P4	40	POS	4
148	45240	POS	320	254	260	145	97	P4	52	POS	1
149	100148	POS	640	278,8	272	199	99	P4	36	POS	3
150	1098	POS	40	217	232	187	98	P4	42	NEG	
151	6562	NEG	NEG	96,1	118	65	39	NEG	37	NEG	
152	100224	POS	80	253,7	241	178	98	P4	55	POS	4
153	70328	POS	40	265,2	274	129	100	P4	77	POS	1
154	100204	POS	40	241,1	272	162	95	P4	55	NEG	
155	8116	POS	640	238,7	250	111	99	P2	44	POS	4
156	3-51	POS	20	234,1	225	140	95	P3	44	NS	
157	0-77	POS	640	263,9	244	296	99	P4	46	POS	3
158	1-18	POS	10+	120,2	115	87	91	P3	53	NS	
159	3-86	NEG	NEG	87,3	244	87	20	NEG	32	NS	
160	9-80	POS	160	224,6	105	197	98	P4	32	POS	1
161	32	NEG	NEG	84,1	82	42	6	P1	33	NS	
162	6-31	POS	160+	251,1	192	133	94	P2	98	POS	1
163	3-01	POS	160	256,8	91	129	96	P3	54	POS	2
164	9-81	POS	80	142,9	234	115	97	P3	47	POS	2
185	75	POS	NEG	90,8	212	72	54	P3	8	NS	
166	1-114	POS	320	243,5	243	206	95	P3	35	POS	2
167	334	POS	20	180	157	66	95	P1	73	NS	
168	1032	NEG	NEG	85,9	96	68	2	NEG	34	NS	
169	1-04	POS	320+	252,9	236	134	96	P3	94	POS	1
170	1-85	POS	80	157,8	135	95	94	P3	76	POS	1
171	1-99	POS	320+	206,7	206	115	96	P4	54	POS	1
172	4-01	POS	640	258,9	252	177	95	P3	63	POS	1
173	510	POS	320	258,2	245	150	96	NEG	89	POS	1
174	418	POS	40	228,3	218	143	95	P3	67	NEG	

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N° aisl.
175	0-117	POS	320+	247,4	220	190	96	P2	73	POS	2
176	319	POS	80	234,4	210	93	97	P3	100	POS	1
177	3-91	POS	80	244,3	233	159	96	P3	70	POS	2
178	400	POS	320	271,3	259	169	97	P3	47	POS	3
179	9022	POS	160	252,9	254	80	98	P4	16	POS	2
180	0-42	POS	160	270,5	263	180	98	P4	51	POS	3
181	1-60	POS	40+	162,3	146	164	95	P2	72	NEG	
182	2-01	POS	20	128,7	133	72	82	P2	79	NA	
183	0-157	POS	160	253,3	243	148	96	P3	49	POS	1
184	2-45	POS	20	102	105	172	60	P2	85	NA	
185	0-136	POS	320+	244,8	224	188	96	P4	48	POS	1
186	128	POS	640	244,2	238	196	95	P4	58	POS	3
187	9-02	POS	640	283,1	278	183	98	P4	49	POS	4
188	2-142	POS	640	188,2	189	109	97	P4	65	POS	4
189	9007	POS	640	242,6	255	192	97	P4	63	POS	1
190	702	POS	160	190,4	180	96	99	P4	66	POS	3
191	1-106	POS	80	114,5	141	72	96	P4	83	POS	4
192	4-138	POS	80	256,3	263	212	97	P4	71	POS	4
193	1-122	POS	80	261,1	278	150	98	P4	86	NEG	
194	700	POS	160	136,6	151	72	67	P4	55	POS	3
195	314	NEG	NEG	80,6	132	95	10	NEG	11	NA	
196	336	POS	NEG	196,3	206	61	96	P1	54	NA	
197	1-48	NEG	20	102,5	137	75	48	NEG	41	NA	
198	705	POS	320	158,4	147	87	97	P4	15	POS	4
199	327	NEG	NEG	80	111	76	2	P1	76	NA	
200	601	POS	40	262,7	265	109	98	P4	40	NA	
201	1-16	POS	160	253,5	245	136	98	P4	73	NEG	
202	100197	POS	320	217,5	250	224	95	P4	24		
203	7532	POS	40	236,7	260	210	96	P4	38		
204	6297	POS	640	244,5	262	206	97	P4	60		
205	6932	POS	320	234,3	246	176	94	P4	27		
206	45498	POS	20	81,3	212	65	-8	NEG	9		
207	7017	POS	160	231,2	265	199	94	P4	28		
208	5357	POS	80	262,2	234	202	98	P4	22		
209	3140	POS	40	204,1	197	111	97	P4	71		
210	275	POS	40	233,5	280	156	94	P4	59		
211	6765	POS	20	192,1	266	126	95	P4	47		
212	7562	POS	10	181,2	281	76	95	NEG	55		
213	4151	POS	NEG	87	183	69	18	NEG	21		
214	100244	POS	NEG	170,4	259	85	86	NEG	60		
215	4235	POS	10	248,5	285	113	98	NEG	71		
216	4062	POS	20	233,2	283	112	98	P4	109		
217	6248	POS	80	199,3	246	155	96	P4	61		
218	45057	POS	20	183,2	179	135	97	P4	51		

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N° aisl.
219	100189	POS	640	250,4	302	228	95	P4	29		
220	100269	POS	40	225,9	273	194	99	P4	39		
221	2919	POS	640	252,1	302	195	97	P4	19		
222	4374	POS	20+	215,9	272	100	96	P1	75		
223	70079	POS	10	84,2	190	66	46	NEG	33		
224	4966	POS	160	265,8	322	203	97	P4	64		
225	6193	POS	80	270,4	312	215	91	P2	79		
226	7547	NEG	NEG	80,1	131	66	10	NEG	7		
227	7124	POS	160	169,8	242	119	95	P2	29		
228	405	NEG	NEG	99,8	190	67	14	NEG	50		
229	45163	POS	160	241,9	297	216	83	P3	41		
230	100112	POS	320	251,5	313	230	84	P4	53		
231	90396	POS	80	191,1	255	133	92	P4	45		
232	4349	POS	160	249,3	302	220	91	P4	55		
233	4949	POS	80	161,5	224	98	102	P4	38		
234	5882	POS	320	254,3	291	222	105	P4	43		
235	4701	POS	320	255,1	309	203	104	P4	34		
236	447	POS	40+	227,6	242	104	105	P1	76		
237	100234	NEG	NEG	89,6	199	59	9	NEG	17		
238	92026	POS	10	192,1	201	92	99	P1	56		
239	1267	POS	320+	260	285	212	105	P3	70		
240	200	POS	640	264	299	216	105	P3	90		
241	100270	POS	320	262,2	266	175	104	P1	69		
242	100267	POS	NEG	145,3	219	74	66	P1	65		
243	70320	POS	320	250,2	309	232	105	P4	56		
244	4161	POS	320	262,1	332	215	104	P4	43		
245	45283	POS	640	237,2	273	190	103	P4	32		
246	1180	POS	320	254,4	292	242	105	P4	56		
247	5852	POS	20	117	230	68	99	P3	93		
248	15019	POS	320	262,8	310	223	105	P4	48		
249	100195	POS	640	252,4	291	225	104	P3	67		
250	8025	POS	320	269,6	319	254	104	P4	58		
251	214	POS	80	253,3	282	224	105	P1	68		
252	70198	POS	160	255,6	295	195	102	P3	31		
253	94378	POS	20	231,9	292	168	103	P2	61		
254	9081	POS	20	177	215	91	*105	P1	91		
255	6712	POS	10	157,1	250	79	84	NEG	64		
256	7748	POS	80	255,7	295	228	106	P4	13		
257	7825	POS	320	273,8	338	230	105	P1	71		
258	45109	POS	NEG	146,1	229	77	63	P3	77		
259	8202	POS	640	249,6	308	137	104	P4	78		
260	129	POS	640	232,4	288	106	103	P3	72		
261	117	NEG	NEG	84,7	208	48	4	NEG	24		
262	258	POS	160	155,5	239	71	77	P1	70		

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N° aisl.
263	8219	POS	20	268,6	306	169	105	P2	76		
264	992	POS	640	253,9	312	163	104	P2	49		
265	8506	POS	640	187,9	226	61	103	P1	78		
266	8586	POS	160	270	334	203	105	P4	57		
267	330	POS	640	261,7	313	129	104	P2	62		
268	367	POS	640	253,4	294	103	103	P2	71		
269	69	POS	20	261,5	317	117	104	P4	53		
270	372	POS	320	242,5	278	120	104	P4	67		
271	403	POS	640	250,1	303	106	106	P4	75		
272	8169	POS	20	270,7	323	138	106	P1	46		
273	8589	POS	20	257,6	319	184	104	P4	68		
274	8585	POS	640	246,7	271	131	104	P4	73		
275	8204	POS	640	154,4	228	57	61	P2	67		
276	195	POS	320	257,1	297	140	103	P4	47		
277	8599	POS	640	257,5	297	117	103	P4	59		
278	98	POS	640	267,3	264	164	105	P4	73		
279	111	POS	640	275,5	329	190	105	P3	61		
280	8211	POS	80	252,8	298	137	104	P4	72		
281	8593	POS	160	167,3	232	74	77	P4	67		
282	989	POS	640	197,1	255	88	104	P4	45		
283	8508	POS	640	281,4	344	206	104	P4	64		
284	4027	NEG	NEG	92	234	44	25	NEG	51		
285	8227	POS	40	153,8	199	53	97	P4	70		
286	4014	POS	640	261,9	301	192	106	P4	59		
287	8596	POS	640	260,2	321	169	105	P4	69		
288	224	POS	320	256,4	333	119	106	P4	72		
289	8568	POS	640	265,8	278	187	103	P3	80		
290	8507	POS	640	262,3	303	113	103	P4	72		
291	37	POS	640	282,4	311	230	105	P4	59		
292	8505	POS	80	244,9	257	95	102	P4	69		
293	176	POS	80	253,5	276	98	105	P4	66		
294	107	POS	640	284,5	302	192	105	P4	65		
295	8215	POS	640	262,7	285	172	106	P4	59		
296	8582	POS	NEG	89,3	172	36	2	NEG	26		
297	82	POS	80	252,5	283	126	104	P4	68		
298	908	POS	10	150,5	209	55	56	NEG	58		
299	8189	POS	320	268,5	280	189	104	P4	50		
300	361	POS	320	259,5	297	NA	100	NA	NA		
301	250	NEG	NEG	89,9	J54	62	14	NEG	21		
302	8535	POS	40	240,5	274	105	104	P4	46		
303	390	POS	640	261,2	302	NA	106	NA	NA		
304	401	POS	640	276,4	315	NA	103	NA	NA		
305	773	POS	80	249,8	271	NA	104	NA	NA		
306	399	POS	640	265,8	288	NA	104	NA	NA		

N° animal	ID	Pruebas en Sangre				Pruebas en Leche				Cultivo Bacteriológico	
		RB	FC	FPS	FPB	FPL	CELISA	RT	IELISA	Status	N° aisl.
307	8601	POS	NEG	152,4	178	57	59	P3	56		
308	172	NEG	NEG	84,6	149	50	60	NA	5		
309	8713	NEG	NEG	83,4	NA	52	14	NEG	12		
310	51	POS	160	243,7	328	123	104	P2	88		
311	169	POS	160	243,1	231	121	106	P3	64		
312	183	POS	320	249,7	247	120	106	P4	47		
313	141	POS	160	248,3	242	98	105	P4	83		
314	28	POS	160	251,5	261	136	103	P4	56		
315	277	POS	80	359,9	209	89	104	P4	67		
316	124	POS	320	252,4	249	98	105	P4	43		
317	1	POS	160	235,9	239	65	105	NEG	65		
318	135	POS	80	256,8	252	140	105	P1	80		
319	185	POS	80	235,1	231	191	106	P4	42		
320	62	POS	80	195	222	56	105	P4	52		
321	116	POS	10	134,5	130	45	98	NEG	67		
322	33	POS	640	244,5	257	107	97	P4	83		
323	297	NEG	NEG	84,5	114	66	100	NEG	6		
324	86	POS	320	260	270	91	98	P2	59		
325	265	POS	160	248,7	259	131	98	P4	76		
326	73	POS	640	265,5	NA	NA	98	NA	63		
327	120	POS	640	260,5	269	155	97	P4	36		
328	163	POS	320	230,5	227	132	98	P4	56		
329	114	POS	160	261,5	265	118	98	P4	78		
330	143	POS	80	240,1	228	108	98	P4	79		
331	96	POS	80	234	244	136	98	P4	56		
332	57	POS	640	253,5	322	140	97	P4	47		
333	20	POS	640	255,7	220	97	97	P4	75		
334	27	POS	320	254,5	287	78	97	P4	61		
335	147	POS	160	249,3	315	128	98	P4	57		
336	142	POS	20	119,1	142	57	97	NEG	74		
337	177	POS	160	255,9	NA	111	97	P4	74		
338	240	POS	120	227,3	NA	74	97	NEG	82		
339	149	POS	640	260,3	248	143	97	P3	7		

AGRADECIMIENTOS

Al concluir el presente trabajo, quiero dar a conocer mis agradecimientos a quienes, de alguna u otra manera participaron en la realización de esta Tesis, en especial a:

- Dra. Ximena Rojas, por su amable supervisión, comprensión y ayuda prestada en este trabajo.
- Dra. Benigna Pérez, por su buena disposición y ganas de entregar sus conocimientos.
- A mis padres y hermana, por su gran esfuerzo y apoyo para lograr cumplir esta meta.
- A todas aquellas personas que me ayudaron a llevar a buen término este trabajo, en especial a la Dra. Claudia Ugalde, personal del S.A.G. Osorno, Cristian Salinas y a todos mis amigos.

A todos ellos infinitas gracias.