

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS

**SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL Y SUS
FACTORES DE RIESGO EN VACUNOS DE LA CUENCA DE SAN
MIGUEL DEL DISTRITO VILCABAMBA - LA CONVENCION - CUSCO**

PRESENTADO POR:

Br. MAGALY ROMAN CCANSAYA

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO VETERINARIO**

ASESORES:

M.SC.M.V. SANTOS WILTON CALDERÓN RUIZ
ING. FIORELA GUZMÁN FIGUEROA

**FINANCIADO POR EL PROGRAMA:
YACHAYNINCHIS WIÑARINAMPAQ**

CUSCO – PERÚ

2024



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

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

El que suscribe, el Asesor M.S.C. M.V. SANTOS WILTON CALDERON RUIZ quien aplica el software de detección de similitud al trabajo de investigación/tesis titulada: SEROPREVALENZA DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL Y SUS FACTORES DE RIESGO EN VAQUINOS DE LA CUENCA DE SAN MIGUEL DEL DISTRITO VILCABAMBA - LA CONVENCIÓN - CUSCO.

Presentado por: BACH. MAGDALY ROMAN CANSPAYA DNI N° 73529537 ; presentado por: DNI N°: Para optar el título Profesional/Grado Académico de MÉDICO VETERINARIO

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6º del *Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC* y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 3 %.

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

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 14 de NOVIEMBRE de 2025

Firma

Firma

Post firma: SANTOS WILTON CALDERON RUIZ

Nro. de DNI: 26960866

ORCID del Asesor: 0000-0001-8091-5814

Post firma: FIORELA GUZMAN FIGUEROA

Nro. de DNI: 40991650

ORCID del Asesor: 0000-0002-9913-5831

Se adjunta:

- Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
- Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 272591527090458

MAGALY ROMAN CCANSAYA

SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL Y SUS FACTORES DE RIESGO EN VACUNOS DE LA CUENCA DE SAN ...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:527090458

115 páginas

Fecha de entrega

12 nov 2025, 6:19 p.m. GMT-5

21.615 palabras

Fecha de descarga

12 nov 2025, 6:44 p.m. GMT-5

117.781 caracteres

Nombre del archivo

TESIS MAGALY REPOSITORIO EDITADO.docx

Tamaño del archivo

4.1 MB

3% Similitud general

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

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

3%	 Fuentes de Internet
0%	 Publicaciones
1%	 Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

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

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

DEDICATORIA

A Dios:

Este trabajo va dedicado primeramente a Dios, por nunca desampararme y por darme la fuerza necesaria para poder terminar este proyecto en mi vida personal.

A mis queridos padres:

Samuel Roman e Ysabel Ccansaya, por su amor incondicional, por la confianza y el apoyo brindado para lograr este objetivo y en todo momento de mi vida.

A mi hijo:

Yaret Stivent, quien fue mi mayor motivación para lograr este anhelado sueño.

A mis hermanos:

Narda, Yoselin, Dyeter, Amir y Diomedes, por su apoyo absoluto en todo momento de mi vida.

Magaly Roman Ccansaya

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento va dirigido a todas las personas e instituciones que me ayudaron en el proceso y culminación de esta investigación:

- *Al M.Sc.M.V. Wilton Calderón Ruiz, a la ING. Fiorela Guzmán Figueroa por su dirección como asesores en la ejecución del presente trabajo de investigación.*
- *Al Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco - UNSAAC”, por haberme acogido para el procesamiento de mis muestras.*
- *Mis agradecimientos infinitos a la universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), por el apoyo brindado a través del esquema financiero N° 014-2021 en el marco del programa Yachayninchis Wiñarinampaq, que permitió la realización del proyecto “Detección molecular y serológica de cepas emergentes del virus lengua azul en rumiantes domésticos, alpacas y llamas del Departamento del Cusco”.*
- *A mis docentes de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria Filial Espinar, quienes compartieron sus sabios conocimientos durante mi formación profesional.*
- *A los productores de ganado vacuno de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba por las facilidades brindadas en la colección de las muestras objeto de estudio.*
- *Al Tec. Alessandro Oriehuela Teran, por todo su apoyo en la estadía y la colección de muestras allí en la cuenca San Miguel.*
- *A mis amigos: Humberto Calapuja, Silvia Ccapa, Yenny Caceres, Eloy Huacarpuma, Yuri Orosco, Roger Llasa, Alex Taipe, Percy Carlos, Lister Quispe por haber hecho que la vida universitaria sea una experiencia inolvidable y por todo su apoyo cuando claudicaba.*
- *A Marynes Tupayachi, Yari Zarate, Rosselli Bedregal, Beli Usca, Williams Mamani por todos los buenos momentos vividos en la ejecución del proyecto.*

Magaly Roman Ccansaya

INDICE

1.	INTRODUCCION	1
2.	PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN	3
2.1.	Identificación del Problema Objeto de Investigación	3
2.2.	Planteamiento del problema	5
3.	JUSTIFICACION	7
4.	OBJETIVOS.....	9
4.1.	Objetivo general.....	9
4.2.	Objetivos específicos	9
5.	MARCO TEORICO	10
5.1.	Antecedentes De La Investigación	10
5.2.	Marco Conceptual de la Infección por virus de la lengua azul.....	12
5.2.1.	Etiología y estructura del virus	12
5.2.2.	Historia de la Lengua Azul (LA)	15
5.2.3.	Distribución mundial del virus de la lengua azul.....	16
5.2.4.	Patogenia de la infección por el VLA	18
5.2.5.	Signos y síntomas del VLA	19
5.2.6.	Inmunidad.....	22
5.2.7.	Transmisión	24
5.2.8.	Diagnóstico	26
5.2.9.	Prevención y control	29
5.2.10.	Vacunas.....	30
5.2.11.	Factores de riesgo asociados a la enfermedad.....	31
5.3.	Prevalencia “P”	35

6. HIPOTESIS Y VARIABLES.....	37
6.1. Hipótesis.....	37
Hipótesis alterna	37
Hipótesis nula	37
6.2. Variables.....	37
Variable dependiente:	37
Variables independientes:.....	37
7. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN	39
7.1. Tipo, diseño y nivel de investigación	39
7.2. Ubicación espacial y temporal de la investigación	39
7.3. Población en estudio.....	39
7.4. Diseño del tamaño muestral	39
7.5. Selección de la muestra.....	40
7.6. Criterios de inclusión.....	42
7.7. Criterios de exclusión.....	42
7.8. Unidad de análisis.....	43
7.9. Técnicas e instrumentos para la recopilación de datos	43
7.10. Materiales para el análisis e interpretación de la información	43
7.11. Materiales de laboratorio	44
7.12. Equipos	44
7.13. Metodología de campo	45
Metodología de laboratorio	45
7.16. Procedimiento de la prueba ELISA competitiva	46
7.20. Determinación de la prevalencia del virus de la lengua azul.....	49
7.21. Metodología para determinar la asociación de la prevalencia del Virus de la Lengua Azul con el sector, raza, sexo, edad, altitud, humedad y sistema de pastoreo.....	49

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
8.1. Seroprevalencia.....	51
8.1. Factores de Riesgo.....	53
IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	69
9.1. Conclusiones	69
9.2. Recomendaciones	69
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
10. ANEXOS	86

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Placa de ELISA.....	47
Tabla 2. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, mediante la prueba de ELISA de competición.....	52
Tabla 3. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, por sectores, mediante la prueba de ELISA competitiva.	54
Tabla 4. Seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, por raza, según prueba de ELISA de competición.	
.....	56
Tabla 5. Seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, por sexo, según prueba de ELISA competitivo.	59
Tabla 6. Relación entre la edad y la seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba.....	61
Tabla 7. Relación entre la altitud y la seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba.....	62
Tabla 8. Relación entre la humedad y la seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca de san miguel del distrito de Vilcabamba.....	65
Tabla 9. Relación entre el sistema de pastoreo y la seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba.	67

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la partícula del VLA	14
Figura 2. Mapa de la distribución del VLA basado en las condiciones climáticas.	17
Figura 3. Lesiones macroscópicas de lengua azul en bovinos.....	21

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Ficha de encuesta al productor	86
Anexo 2. Ficha para la colección de muestras	87
Anexo 3. Colección de muestras sanguíneas, por punción de vena caudal.....	88
Anexo 4. Centrifugación (imagen 5), colocación del suero sanguíneo en viales y rotulado (imagen 6).	88
Anexo 5. Preparación de la solución de lavado (imágenes 7 y 8).	89
Anexo 6. Descongelamiento (imagen 9) y homogenización en vortex (imagen 10) de las muestras.....	89
Anexo 7. Adición de los controles (imagen 11), adición de las muestras (imagen 12) en los pocillos de la placa ELISA.	90
Anexo 8. Se cubrió la placa con parafilm (imagen 13), incubación de la placa (imagen14),	90
Anexo 9. Lectura de las densidades ópticas con el lector de microplacas ELISA (imágenes 17 y 18).....	91
Anexo 10. Valores de la densidad óptica (DO) reportadas por el lector de microplacas ELISA, de los controles y las muestras de suero.	91
Anexo 11. Resultados del porcentaje de competición	92
Anexo 12. Interpretación de los resultados.	92
Anexo 13. Ficha de registro de animales muestreados y resultados de la prueba ELISA competitivo.	93
Anexo 14. Asociación del virus de la lengua azul y el sector.	94
Anexo 15. Asociación del virus de la lengua azul y la raza.	96
Anexo 16. Asociación del virus de la lengua azul y el sexo.....	97
Anexo 17. Asociación del virus de la lengua azul y la edad.	99
Anexo 18. Asociación del virus de la lengua azul y la altitud.....	100
Anexo 19. Asociación del virus de la lengua azul y la humedad.	102
Anexo 20. Asociación del virus de la lengua azul y el sistema de pastoreo.	103

RESUMEN

La lengua azul (LA) es una enfermedad viral que afecta a rumiantes domésticos y silvestres, causada por el virus de la lengua azul (VLA). Este virus se transmite principalmente a través de la picadura de mosquitos del género *Culicoides*. El calentamiento global y el cambio climático han propiciado la expansión de estos vectores a regiones anteriormente inadecuadas para su desarrollo y reproducción, aumentando el riesgo de propagación de la

enfermedad. El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia del Virus Lengua Azul y sus factores de riesgo en vacunos de la cuenca de san miguel del distrito de Vilcabamba - La Convención - Cusco. Se analizaron 88 muestras de suero vacuno de los sectores de Esmeralda, Koshireni, Espíritu Pampa y Arma, que incluyeron diversas razas (criolla, híbrida y otras puras), ambos sexos y edades determinadas por cronología dentaria. Las altitudes de estas zonas oscilaron entre 1,346 y 2,110 metros, con humedades relativas del 50 al 69%. Los sistemas de crianza fueron extensivo y mixto. La prueba de ELISA competitivo detectó anticuerpos contra el virus de la lengua azul (VLA), revelando una seroprevalencia del 92%: de las 88 muestras, 81 resultaron positivas, con un nivel de confianza del 91%. El análisis de Chi cuadrado mostró que el sector de origen, la raza, la altitud y el sistema de crianza se asociaron significativamente con la seropositividad al VLA.

Palabras clave: Factores de riesgo, Seroprevalencia, Vacunos, Virus de la lengua azul.

SUMMARY

Bluetongue (BT) is a viral disease affecting domestic and wild ruminants caused by the bluetongue virus (BTV). This virus is transmitted mainly through the bite of mosquitoes of the genus Culicoides. Global warming and climate change have led to the expansion of these vectors to regions previously unsuitable for their development and reproduction, increasing the risk of spreading the disease. The objective of the present study was to determine the seroprevalence of Bluetongue virus and its risk factors in cattle in the San Miguel basin of the district of Vilcabamba - La Convencion - Cusco. Eighty-eight samples of bovine serum were analyzed from the Esmeralda, Koshireni, Espiritu Pampa and Arma sectors, which included different breeds (Creole, hybrid and other pure breeds), both sexes and ages determined by dental chronology. The altitudes in these areas ranged from 1,346 to 2,110 meters, with relative humidity ranging from 50 to 69%. The rearing systems were extensive and mixed. The competitive ELISA test detected antibodies against BTV, revealing a seroprevalence of 92%: of the 88 samples, 81 were positive, with a confidence level of 91%. Chi-square analysis showed that sector of origin, breed, altitude and husbandry system were significantly associated with BTV seropositivity.

Key words: Risk factors, Seroprevalence, Cattle, Bluetongue virus.

1. INTRODUCCION

La ganadería bovina en el Perú está ampliamente distribuida a lo largo de sus diversas regiones geográficas: costa, Sierra y selva. La región Cusco cuenta con una cifra considerable de ganado vacuno, lo cual asciende a 407 267 cabezas, de tal manera que en la provincia de La Convención existe una población de 17781 cabezas de ganado vacuno, dentro de ello el Distrito de Vilcabamba cuenta con un número de 5 983 cabezas de ganado vacuno (INEI, 2012).

La enfermedad de la lengua azul (LA) es considerada como una enfermedad infecciosa, causada por el virus de la lengua azul (VLA), un virus que es transmitido principalmente a los rumiantes domésticos y salvajes por la picadura de mosquitos del género *Culicoides spp*, esta enfermedad afecta a todos los rumiantes domésticos como: ovinos, caprinos y también bovinos, y salvajes como: búfalos, ciervos y otros (MacLachlan et al., 2009).

Los cambios climáticos junto al calentamiento global estarían fomentando la migración de los *Culicoides spp* fuera de su hábitat natural conocido (45° Norte y 35° Sur) a altitudes más elevadas donde antes no contaban con las condiciones óptimas para su sobrevivencia, la sensación térmica que requiere el *Culicoides* para sobrevivir y reproducirse oscila entre 13 - 35° C, esta temperatura ayuda en el rápido desarrollo y aumenta la supervivencia del vector favoreciendo la proliferación (Navarro, 2017), una humedad por encima de 25% (Lucientes, 2019). La gravedad de la enfermedad varía entre las especies de rumiantes con los signos más visibles en las ovejas, lo que resulta

en una reducción de la productividad, muertes y una manifestación asintomática en bovinos (Goto et al., 2004; Susmitha et al., 2012).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) considera que la lengua azul es una enfermedad de declaración obligatoria, lo que significa que el comercio de animales estaría restringido cuando se presente la enfermedad, esto afectaría grandemente la economía de las familias, ya que esta contribuye en la seguridad alimentaria y en su mayoría es el principal sustento económico (OMSA, 2019).

El virus de la lengua azul (VLA) se presenta en la mayoría de las regiones tropicales y templadas del mundo (Maan et al., 2007; Osburn, 1994). En general, esta diseminación puede reflejar la distribución de sus vectores Culicoides y la temperatura requerida para la replicación y transmisión del VLA por vectores (Yeh et al., 2018).

Actualmente, la serología se ha aplicado para monitorear la propagación del virus de la lengua azul en ciervos, bovinos, camélidos sudamericanos, cabras y ovejas en diferentes países (Di Ventura et al., 2004; Graham et al., 2017; Noaman et al., 2013; Yeh et al., 2018; Zanolari et al., 2010).

2. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

2.1. Identificación del Problema Objeto de Investigación

La lengua azul (LA) se trata de una enfermedad viral infecciosa, afecta a rumiantes domésticos y salvajes. El insecto vector de unas pocas especies del género Culicoides spp transmite el virus de la lengua azul (VLA) entre los rumiantes susceptibles, que se han infectado al alimentarse de animales virémicos. El virus no se transmite a través del contacto directo con animales, o mediante la leche (OMSA, 2019). Entre los años 2006 y 2008, brotes reportados en Bélgica ocasionaron pérdidas económicas estimadas en 180 millones de euros, afectando a más de 800,000 ovejas y generando restricciones comerciales significativas para los productos de origen animal (A. J. Wilson & Mellor, 2009). Este impacto económico se relaciona con el aumento de la morbilidad, mortalidad, gastos en diagnóstico y control, así como pérdidas en la producción y reproducción.

En el Perú, si bien no se han reportado pérdidas económicas de esa magnitud, la circulación del VLA representa un riesgo emergente para la ganadería, especialmente en regiones con baja vigilancia epidemiológica. Estudios recientes han detectado seroprevalencia del virus en regiones como San Martín, Huánuco, Junín y Cusco, con tasas que varían según altitud y especie, lo cual sugiere una distribución más amplia de lo que se creía (Rodríguez et al., 2023). La falta de diagnóstico específico y monitoreo continuo podría estar encubriendo el impacto real del virus en los sistemas de producción.

El Culicoides spp, requiere de condiciones ambientales específicas, puede sobrevivir en el rango de temperatura de 13 – 35°C y para reproducirse temperatura de 28 – 35°C, humedad que supera los 25% (Lucientes, 2019).

En el Perú, la seroprevalencia del virus de la lengua azul (VLA) es de 19.01%, liderada por las regiones de la selva con mayor porcentaje (78.83%) distribuidos de la siguiente manera Ucayali 100%, Madre de Dios 100%, San Martín 96.35%, Loreto 88.71% y Amazonas 11.25%, seguido por el norte (35.52%), representado por las siguientes regiones Tumbes 85.29%, Piura 73.72%, Lambayeque 41.38% y Cajamarca con 25.68%, en el centro del Perú presentaron una seroprevalencia de (20.92%), siendo evaluados las siguientes regiones: Pasco 56.82%, Huánuco 43.85%, seguido por Junín 11.19% y para Lima y Callao 2.48%, a nivel de las regiones del sur del país la seroprevalencia del VLA se encuentra distribuida de la siguiente manera: Apurímac 0%, Arequipa 0%, Ayacucho 0%, Cusco 1.75%, Huancavelica 4.41%, Moquegua 0% y Puno 0.29% (Incidil, 2023), lo que es reforzado por los hallazgos de (Trinidad et al., 2024), quienes reportaron una seroprevalencia del 100 % en un estudio realizado en Madre de Dios, en los distritos de Tambopata 100% (108/108) , Las Piedras 100%, (28/28) Peninsula Iberica 100% (19/19) e Iñapari 100% (7/7), en el Perú también existen estudios serológicos reportados en ovinos por, (Navarro M et al., 2019; Rosadio et al., 1984), los cuales confirman la circulación del virus en el país.

La cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba es una zona predominantemente ganadera, donde la actividad pecuaria representa una de las principales fuentes de ingreso económico y cumple un rol clave en la seguridad alimentaria y el sustento de la población local. Sin embargo, los productores manifiestan que la ganadería se ve afectada por diversos problemas sanitarios cuya causa aún no logran identificar. Por su parte, los profesionales veterinarios que laboran en la zona han observado en los bovinos signos clínicos como celo silencioso, prolongados intervalos entre partos,

afecciones respiratorias recurrentes y escasa respuesta a tratamientos con antibióticos. Estos signos podrían estar relacionados con infecciones virales, entre ellas el Virus de la Lengua Azul (VLA), el cual puede afectar múltiples sistemas del organismo en los animales, presentándose con manifestaciones clínicas en los aparatos respiratorio, reproductivo, conjuntival, dérmico, entre otros. La posible circulación del VLA en esta zona representa un riesgo sanitario que podría estar incidiendo negativamente en la productividad y el bienestar del ganado, lo que justifica la necesidad de estudios epidemiológicos para su detección y control.

En ese sentido, el presente estudio tuvo como finalidad determinar la seroprevalencia del virus de la lengua azul y los factores de riesgo asociados a la presentación del virus.

2.2. Planteamiento del problema

A nivel de todo el Perú existe un reporte de seroprevalencia del virus de la lengua azul en bovinos de los diversos ecosistemas en zonas tropicales, como los valles interandinos y andinos, así mismo en zonas que representan a la serranía peruana donde reportan seroprevalencias muy bajas o nulas en zonas alto andinas, mientras que en zonas de menor altitud o con microclimas más cálidos, la presencia del virus ha sido confirmada en animales seropositivos, tal como se reporta en el centro del Perú, donde indica que la seroprevalencia es de 19.1% (Incil, 2023).

En la cuenca de San Miguel del distrito de Vilcabamba, no se tiene trabajos de investigación relacionados a infecciones virales en bovinos, mucho menos estudios sobre la prevalencia del VLA, los resultados obtenidos aportaran datos actualizados sobre la prevalencia de esta enfermedad en dicha zona, así mismo servirá como fuente

de información para realizar futuras investigaciones de la misma línea de investigación, es por ello la necesidad de realizar la presente investigación planteándose la siguiente pregunta.

- Formulación del problema de investigación

¿Cuál será la seroprevalencia del Virus de la Lengua Azul y sus factores de riesgo en vacunos de la cuenca de San Miguel del distrito de Vilcabamba - La Convención - Cusco?

3. JUSTIFICACION

Este estudio es relevante para la sanidad animal, ya que permite conocer la situación epidemiológica del VLA en bovinos y sus factores asociados. La identificación de variables de riesgo contribuirá a diseñar estrategias de prevención y control, favoreciendo la productividad ganadera y evitando restricciones sanitarias en el comercio de animales y productos derivados. Desde un enfoque de salud pública veterinaria, la presencia del VLA representa una preocupación significativa, ya que su diseminación puede afectar a diversas especies y alterar la dinámica de enfermedades emergentes en la región. Conocer la seroprevalencia del virus es fundamental para implementar medidas sanitarias y de bioseguridad en los sistemas de producción bovina. Además, los resultados podrán guiar a instituciones de salud animal, veterinarios y productores en la toma de decisiones para mitigar el impacto de la enfermedad. Este estudio permitirá analizar la influencia de factores climáticos como la altitud y la humedad en la propagación del virus. Es conocido que los vectores del género Culicoides, responsables de la transmisión del VLA, tienen una distribución influenciada por las condiciones ecológicas. Comprender cómo estos factores afectan la presencia del virus podrá contribuir a la formulación de políticas de control adaptadas a las condiciones locales y a la planificación de medidas preventivas según las características del entorno.

A nivel productivo, este estudio generará información valiosa para los ganaderos en la toma de decisiones relacionadas con la selección de razas, prácticas de manejo y estrategias de prevención de enfermedades.

La lengua azul (LA) es una infección causada por un virus del género Orbivirus de la familia Reoviridae, que causa cianosis de la lengua, fiebre, inflamación y hemorragia en la mucosa oral y nasal y en todo el tracto digestivo, pérdida de la condición corporal, inflamación en las bandas coronarias y placas de pezuñas sensibles, y malformaciones fetales en infecciones durante el primer tercio de la gestación; en rumiantes domésticos y salvajes, el virus es transmitido por artrópodos del género Culicoides infectados por picadura de animales con viremia, lo que hace que su prevalencia sea mayor en zonas con clima favorable para el desarrollo del vector (Trinidad et al., 2024). Aunque los bovinos suelen actuar como hospedadores secundarios o reservorios del virus y en la mayoría de los casos no presentan signos clínicos evidentes, su rol en la epidemiología del VLA es fundamental, ya que pueden mantener el ciclo de transmisión en el ecosistema ganadero. En contraste, especies como los ovinos presentan una alta susceptibilidad clínica, con tasas de morbilidad que pueden superar el 80% durante brotes y tasas de mortalidad que oscilan entre el 10% y el 50%, dependiendo de la cepa viral, la edad del animal y las condiciones del entorno_ (Roy, 2017; MacLachan et al., 2019).

El presente estudio permitirá conocer cuál es el estado actual de la seroprevalencia del virus de la Lengua Azul en la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba, La Convención, por lo mismo que no se desarrollaron estudios de la enfermedad en esta localidad, así mismo servirá como fuente de información de la enfermedad para los profesionales que se desempeñan en dicha zona, este trabajo de investigación también, permitirá a la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria – Espinar, y a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco reforzar su nivel de producción académica.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Determinar la Seroprevalencia del Virus Lengua Azul y sus factores de riesgo en vacunos de la cuenca de san miguel del distrito de Vilcabamba - La Convención - Cusco.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia del virus de la Lengua Azul en muestras de suero mediante la prueba de ELISA competitiva en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba de acuerdo a su sector de origen, raza, sexo, edad, altitud, humedad y sistema de pastoreo.
- Determinar la asociación de las variables evaluadas al virus de la Lengua Azul en vacunos del distrito de Vilcabamba considerando los siguientes factores

5. MARCO TEORICO

5.1. Antecedentes De La Investigación

5.1.1. Antecedentes internacionales:

Coetzee et al., (2012) y Erasmus (1975), describen que la enfermedad fue detectada en Europa en los años 1998, algunos serotipos fueron encontrados al sur de Europa y podrían ser enzoóticos en la zona. El serotipo 8 proveniente de África, en el año 2006 causó brotes en Alemania, Bélgica y en países bajos. Debido a que su vector, Culicoides dewulfi se adaptó a las condiciones climáticas europeas, que posteriormente se expandió por el norte de Europa. En cuanto a su distribución geográfica el virus fue encontrado en muchas partes del mundo, como África, Europa, Medio Oriente, Australia, el Sur del Pacífico, América del Norte y del Sur y Asia. En Estados Unidos, el vector se encuentra solo en el Sur y el Oeste. Canadá es un país que está casi libre de la enfermedad.

(Qin et al., 2020), realizaron un estudio para estimar la seropositividad y los posibles factores de riesgo para la infección por el VLA en Guangxi (China) encontraron que la seroprevalencia es de 44.5% (244/548) en bovinos, además que la edad, las especies y la zona climática son los posibles factores de riesgo de infección por el virus de la lengua azul, así mismo (Hwang et al., 2019) en un estudio efectuado en Corea del sur determinaron que la seroprevalencia de anticuerpos del VLA es de 18,8 % (85/466), otro estudio realizado por (Maan et al., 2017) en el estado de Haryana (India) indica que la seroprevalencia del VLA fue de 75,49%, en São Paulo (Brasil), (da Silva et al., 2018) sugieren que los riesgos asociados a la enfermedad vienen a ser “bovinos nuevos que

ingresan al rebaño". En Ecuador (Verdezoto et al., 2018), indican que existe una alta seroprevalencia del virus de la lengua azul 98.9%.

5.1.2. Antecedentes nacionales:

En el Perú, (Navarro M et al., 2019; Rosadio et al., 1984) detectaron serológicamente el virus de la lengua azul en ovinos y en Guanganas (*Tayassu pecari*) por (Rivera et al., 2013) en el departamento de Madre de Dios. En un estudio para detectar el ARN del VLA en ovinos seropositivos realizado por (Navarro et al., 2018) demostraron que *Culicoides insignis* fue la especie con mayor frecuencia, seguido por *Culicoides foxi*, *Culicoides ocumarensis* y *Culicoides pseudodiabolicus*, así mismo (Navarro et al., 2019) detectaron el segmento 7 del virus de la lengua azul en ovinos y mosquitos del genero *Culicoides insignis* en Pucallpa, Ucayali. Otro estudio realizado por (Incil, 2023) tuvo como finalidad determinar la prevalencia del VLA a nivel de todo el Perú su reporte fue de 19.1%; además que conforme se incrementa la altitud, la seroprevalencia disminuye, sus hallazgos fueron de 0 - 1,500 msnm prevalencia de 57.9%, de 1,501 – 3,000 msnm prevalencia de 23.5 % y en el rango de 3,001 – 4,700 prevalencia de 1.5 %, lo propio la humedad indica que a mayor humedad es mayor la seroprevalencia, sus resultados son: en rango de 30 – 55% prevalencia de 3%, de 56 - 75% una prevalencia de 13.3 % y en el rango de 76 – 95% hallo una prevalencia de 40.4 %, así mismo la precipitación y temperatura son los factores de riesgo relacionados a la enfermedad. otro estudio realizado en vacunos de áreas tropicales (departamento de Madre de Dios) indica un prevalencia de 100% (Trinidad et al., 2024).

5.1.3. Antecedentes regionales

Incil, (2023), en Cusco, evaluó anticuerpos del virus de la lengua azul (VLA) en 228 muestras de suero de bovinos mediante la prueba Elisa competitiva; los resultados obtenidos fueron; 224 negativos y 4 positivos lo que indica que la seroprevalencia del virus de la lengua azul en Cusco es de 1.75%.

5.2. Marco Conceptual de la Infección por virus de la lengua azul

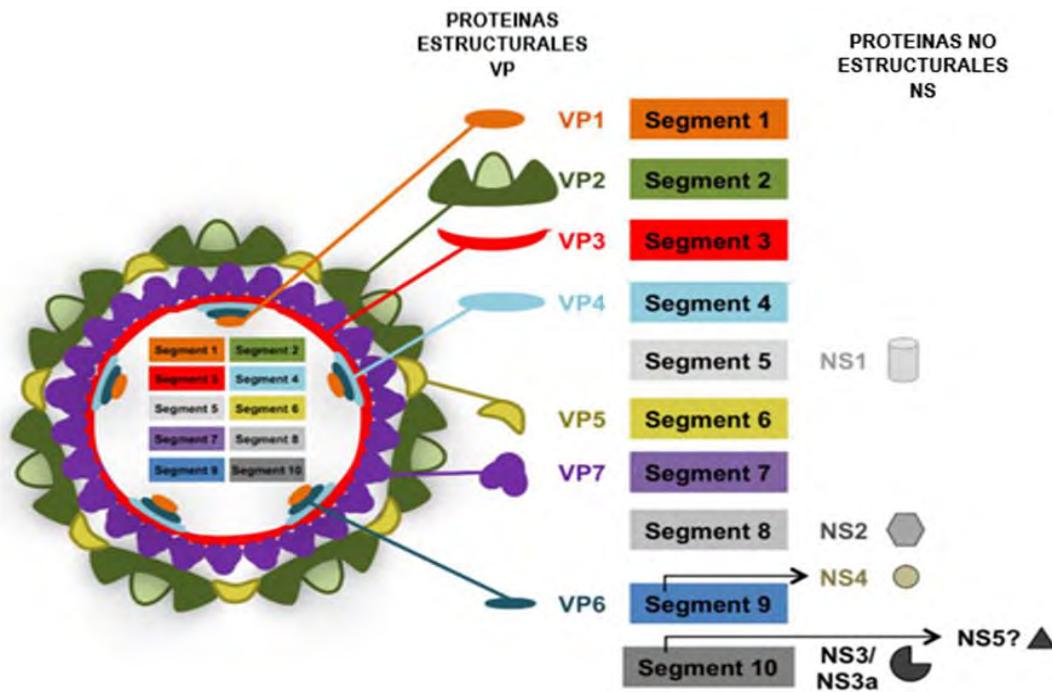
5.2.1. Etiología y estructura del virus

El agente etiológico de la lengua azul (LA), viene a ser el virus de la lengua azul (VLA), se trata de una enfermedad de los rumiantes que se transmite gracias a ciertos mosquitos. El virus de la lengua azul es el virus arquetípico perteneciente al género Orbivirus, familia Reoviridae (Patel & Roy, 2014).

El VLA es un virus dsRNA que posee 10 segmentos que codifican 7 Proteínas estructurales (VP) y 4 Proteínas no estructurales (NS) (Figura 1) (Roy, 2017). El material genético está encapsulado en una cápside proteica de dos capas. La cubierta externa constituida por las proteínas estructurales VP2 y VP5 contiene los principales determinantes antigenicos de los anticuerpos neutralizantes. Como resultado de la alta variabilidad de VP2, se han definido múltiples serotipos de VLA (al menos 27) (Maan et al., 2016; Zientara & Sánchez, 2013). Existe escasa protección conferida en temas de inmunidad esterilizante entre los serotipos, lo que limita la eficacia de las estrategias de vacunación actuales basadas en vacunas inactivadas específicas de serotipo (Breard et al., 2015). Debido a su material genético segmentado, el VLA puede formar reordenamientos (Shaw et al., 2013), lo que complica aún más su control en regiones

donde circulan múltiples serotipos. El patrimonio genético segmentado, El ARN polimerasa de la proteína estructural VP1, la enzima catalizadora limitadora de ARN y la metil transferasa VP4, y la ARN helicasa VP6 están encerradas dentro de la cápside interna constituida por VP7 y VP3 (Roy, 2017). La proteína estructural VP7 es uno de los determinantes antigenicos más conservados entre serotipos y, como resultado, los ensayos de seroconversión a menudo se basan en la detección de anticuerpos contra esta proteína (Rojas et al., 2019). Los que participan en la replicación viral vienen a ser las proteínas estructurales del virus de la lengua azul y en el desorden de la respuesta inmune del hospedador ante la infección. La proteína no estructural NS1 promueve la expresión de proteínas virales (Boyce et al., 2012); NS2 viene a ser una proteína De unión a ARN que viene a ser el integrante principal de los cuerpos de inserción virales (Kar et al., 2007); mientras que NS3 participa en la salida del virión (Celma & Roy, 2009; Labadie et al., 2019; Wirblich et al., 2006). VP3, NS3, NS4 y el supuesto NS5 participan en la alteración de la respuesta celular del huésped al VLA al actuar como antagonistas del interferón y/o promover el cierre celular (Avia et al., 2019; Chauveau et al., 2013; Pourcelot et al., 2021; Ratinier et al., 2016; Rojas et al., 2021; Stewart et al., 2015) .

Figura 1. Esquema de la partícula del VLA.



Fuente: (Roy, 2017).

El virus de la Lengua Azul es un virus dsRNA que tiene 10 segmentos, su material genético codifica 7 proteínas estructurales (VP) y 4 a 5 proteínas no estructurales (NS).

- El segmento 1: codifica el ARN polimerasa VP1.
- El segmento 2: codifica la proteína VP2 de la cubierta externa, altamente variable.
- El segmento 3: codifica la proteína del núcleo interno VP3.
- El segmento 4: codifica la enzima bloqueadora de ARN y la metil-transferasa VP4.
- El segmento 5: codifica la proteína no estructural NS1 que forma los túbulos citoplasmáticos en el curso de la infección.
- El segmento 6: codifica la proteína de la cubierta externa VP5.
- El segmento 7: codifica la proteína del núcleo interno VP7.

- El segmento 8: codifica la proteína no estructural NS2 que forma parte de los cuerpos de inclusión viral.
- El segmento 9: codifica el ARN helicasa VP6 y la proteína no estructural NS4 que interfiere con la respuesta inmune del huésped.
- El segmento 10: codifica la proteína no estructural NS3 también su isoforma NS3a, que participa en la salida o ida del virión, pero también actúa como antagonista de INF. Este segmento También codifica una quinta proteína no estructural NS5 que podría estar implicada en el cierre de la célula huésped.

5.2.2. Historia de la Lengua Azul (LA)

Fue descrita por primera vez a principios de 1900 en Sudáfrica, esto al importarse las primeras ovejas merinas, pero se cree que desde la antigüedad la infección era endémica en todos los rumiantes silvestres africanos. Sin embargo, en 1943 se describió en Chipre y posteriormente se fue hallando en Israel, España, Portugal, Pakistán e India, aunque los reportes más resientes son en los Estados Unidos, noreste de Australia, América del sur, así como Indonesia y Malasia. En la actualidad, la infección ha sido detectada en Bulgaria (VLA-9), en Grecia (VLA-4 y 9), Argelia y Túnez (VLA-2). Así mismo los descubrimientos posteriores de la enfermedad datan al año 2000, en Sicilia, Calabria y Cerdeña, al año siguiente la enfermedad se prolifero al norte de Italia (Toscana), los serotipos reportados en este país son 2 y 9. Puede que la enfermedad haya llegado a otros países, pero no lo hayan diagnosticado o reportado por miedo a las restricciones comerciales (Erasmus, 1975).

Una de las enfermedades virales más comunes transmitidas por artrópodos en el mundo precisamente viene a ser la lengua azul. Hasta la década de 1940 era endémica en todo el continente africano, pero se extendió con la ayuda del calentamiento global. Se informó de un brote en España en 1960, y después la enfermedad llegó a diferentes países europeos, como Portugal en 1959, Suecia en 1960, Grecia en 1989 y finalmente, España en los años 2000, 2003 y 2004 (Coetzee et al., 2012; Erasmus, 1975).

El repartimiento del virus representa una división importante. La lengua azul está descrita en un rango geográfico entre las latitudes 35° sur y 42° norte en África, Europa, Asia y Australia, y entre las latitudes 30° sur y 50° en América del Norte, con variaciones locales relacionadas con el clima y el medio ambiente (Coetzee et al., 2012; Erasmus, 1975).

5.2.3. Distribución mundial del virus de la lengua azul

Aunque es probable que el VLA haya estado presente durante mucho tiempo en gran parte del mundo, la distribución mundial de la infección por VLA se ha alterado drásticamente muy recientemente (Purse et al., 2008; A. Wilson et al., 2008). Se ha propuesto que el cambio climático es en parte responsable de este profundo cambio en la distribución global de VLA, presumiblemente por su impacto en la capacidad vectorial de las poblaciones de insectos Culicoides residentes en regiones previamente libres de virus como gran parte de la cuenca mediterránea (Gould & Pritchard, 1990; Mullens et al., 2001; Purse et al., 2008a; A. Wilson et al., 2008). El VLA se ha extendido por la mayor parte de Europa, donde, hasta aproximadamente 1998, solo ocurrieron epizootias

esporádicas y transitorias de infección por VLA (Gómez, 2004; Purse et al., 2008; Rodríguez et al., 2008; Saegerman et al., 2008).

La distribución geográfica de los arbovirus ha recibido una atención considerable después de varios eventos de emergencia dramáticos en todo el mundo. La lengua azul está clasificada junto a las enfermedades de la Categoría “A” de declaración obligatoria hacia la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA, 2019), y se transmite entre los rumiantes por picaduras de mosquitos del género Culicoides.

En condiciones climáticas futuras, se predice que la distribución potencial de VLA se ampliaría, especialmente en África central, Estados Unidos y Rusia occidental (Samy & Peterson, 2016).

Figura 2. Mapa de la distribución del VLA basado en las condiciones climáticas.



Las áreas sombreadas en azul son condiciones adecuadas moderadas y las áreas blancas son condiciones inadecuadas

Fuente: (Samy & Peterson, 2016).

5.2.4. Patogenia de la infección por el VLA

Los vacunos suelen ser asintomáticos, presentan leves alteraciones en el conteo de linfocitos y leucocitos. Por lo general el causante de las lesiones no son las mismas en todas las especies. En ovinos y venados los signos visibles son gracias al daño en el endotelio y por la presentación de coagulación intravascular diseminada (MacLachlan et al., 2009). Después de la instalación cutánea de VLA (por inoculación o por la picadura de un vector Culicoides infectado con VLA) el virus viaja al ganglio linfático regional, donde ocurre la replicación inicial (Pini, 1976). El virus luego se disemina por medio de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas a una variedad de tejidos en todo el cuerpo, donde la multiplicación viral se da mayoritariamente en las células mononucleares endoteliales y fagocíticas, linfocitos (Barratt-Boyes & MacLachlan, 1995; Darpel et al., 2007; Ellis et al., 1993; Maclachlan & Osburn, 2008; Mahrt & Osburn, 1986). La viremia está altamente asociada a células y puede ser prolongada pero no persistente en rumiantes domésticos; (Barratt-Boyes & MacLachlan, 1995; Melville et al., 2004; Singer et al., 2001).

El VLA se asocia de manera promiscua con todas las células sanguíneas durante la viremia, por lo que los títulos de virus en cada fracción celular son proporcionales a los números de cada tipo celular; específicamente, el VLA se asocia cuantitativamente más con los eritrocitos y las plaquetas y, como las plaquetas tienen vida útil corta, el virus se agrupa en mayor parte con los eritrocitos en la parte final del desarrollo de la infección por el VLA. El proceso de infección por el virus de la LA de los eritrocitos, ayuda a la permanencia de

la infección por más tiempo en los animales, como también la infección de insectos chupasangres que se alimentan de animales virémicos, y este virus infeccioso podría rondar por varias semanas con altos grados de anticuerpos neutralizantes (Barratt-Boyes & MacLachlan, 1994; Bonneau et al., 2002; Brewer & MacLachlan, 1994; DeMaula et al., 2001).

El ácido nucleico del VLA puede detectarse mediante la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en la sangre del ganado vacuno y ovino infectados después de que el virus infeccioso ya no pueda detectarse mediante el aislamiento del virus en cultivo celular o la inoculación de ovejas susceptibles (Katz et al., 1994; MacLachlan et al., 1990).

Además, la sangre de rumiantes que contiene ácido nucleico de VLA según lo determinado por el ensayo de PCR, pero el VLA no es infeccioso según lo determinado por el aislamiento del virus, no es infeccioso para los insectos vectores, incluso por inoculación intratorácica (Bonneau et al., 2002; MacLachlan, 1994; Tabachnick, 2004). La duración de esta presencia prolongada del ácido nucleico del VLA en la sangre de los rumiantes infectados es similar a la vida media circulante de los eritrocitos de los rumiantes, que es algo más prolongada en el ganado bovino que en el ovino (Barratt-Boyes & MacLachlan, 1995).

5.2.5. Signos y síntomas del VLA

Los procesos febriles son muy característicos de esta enfermedad, acompañados de inflamación de las mucosas de los canales respiratorios y

digestivos, inflamación de los ligamentos de las bandas coronarias y de las delicadas placas de las pezuñas y degeneración de los músculos (Escandon 2011).

Los animales infectados en las primeras etapas de la enfermedad tienen abundante secreción nasal liquida. Con el tiempo, la secreción se torna mucopurulenta y se seca dentro de las fosas nasales lo cual dificulta en la respiración; el aumento del flujo sanguíneo en la zona del hocico, los labios y las orejas provoca inflamación de la lengua y en algunos casos hace que presenten cianosis, o sea la lengua se torna de color azul. Las ulceraciones en la boca se suele extender a diferentes partes del cuerpo y provocar molestias al ganado al momento de alimentarse (MacLachlan et al., 2009). El ganado bovino al cursar la enfermedad de la LA presenta varias lesiones, estas incluyen ulceraciones graves y extensas del morro, la mucosa bucal y también los pezones; secreción nasal muco-hemorragica y rinitis; inflamación periocular y lagrimo excesivo; también presentan edema en las extremidades (Fig. 3) (Darpel et al., 2007; Elbers et al., 2008; Thiry et al., 2006).

Figura 3. Lesiones macroscópicas de lengua azul en bovinos.



- a) Cabeza con secreción nasal y conjuntivitis, b) Narinas con exudado y rinitis con exudado, c) Piel interdigital con necrosis y ulceración, d) Glándula mamaria y pezones con necrosis superficial y exudación

Fuente: (Darpel et al., 2007; Elbers et al., 2008; Thiry et al., 2006).

5.2.6. Inmunidad

5.2.6.1. Inmunidad Innata

Es considerada como la primera barrera de defensa contra las infecciones de origen viral en los mamíferos y es un paso muy importante en el desarrollo de la inmunidad humoral y mediada por células. La infección causada por el VLA, comienza cuando el Culicoides deposita el virus bajo la piel, este infecta rápidamente las células dendríticas del nódulo linfático dérmico, donde inicia la replicación, así como abundantes células macrófagos, dendríticas y células linfocitos y endoteliales, que son víctimas del agente viral, desencadenando la liberación abundante de interleucinas IL1, IL6,IL12 y por ultimo citoquinas pro – inflamatorias, también moléculas estimuladoras que impulsan a la multiplicación de linfocitos CD4, CD8 anti VLA y causa de necrosis tumoral . Luego, el linaje del virus de la lengua azul fluye hacia el ganglio linfático regional y se propaga a varias células dendríticas, macrófagos y células gama delta, lo que desencadena una respuesta inmune adaptativa (Maclachlan & Mayo, 2013; Schwartz-Cornil et al., 2008).

5.2.6.2. Inmunidad Humoral

Los ganados infectados con el VLA desarrollan respuestas inmunes humorales y celulares. Los antígenos inmuno dominantes que vienen a ser las proteínas estructurales VP3 Y VP7, producen

anticuerpos comunes a los integrantes del serogrupo del VLA, que son detectados mediante análisis serológicos como ELISA de competición (MacLachlan & Mayo, 2013), por otro lado la proteína estructural VP2 induce a los anticuerpos neutralizantes. Estos anticuerpos sólo proporcionan protección contra cepas del VLA que pertenezcan al mismo serotipo mas no contra cepas de serotipos heterologos (Stott & Osburn, 1990).

La proteína estructural VP2 viene a ser un factor determinativo de la capacidad inmune del serotipo y el antígeno primario que impulsa anticuerpos neutralizantes (Stott & Osburn, 1990). Otra proteína de la cápside externa, viene a ser la VP5 (segunda proteína estructural), muestra tener un resultado coordinado en la generación de una respuesta de anticuerpos neutralizantes específicas del serotipo, probablemente mediante interacciones físicas con la proteína estructural VP2 (Mertens et al., 1989). Dado que las células T suplementarios son importantes para el crecimiento de las células B que son productoras de anticuerpos neutralizantes, la proteína estructural VP2 podría contener epítopos detectados por anticuerpos neutralizantes y células T suplementarios (MacLachlan, 1994).

5.2.6.3. Inmunidad Celular

Es fundamental en el desarrollo de infecciones virales ya que limita la propagación del virus en el proceso de replicación viral dentro de

las primeras fases de la enfermedad mediante la lisis de las células infectadas. Se han detectado linfocitos T CD8 + citotóxicos en ratones y ovinos infectados experimentalmente con el VLA, y su papel en la exclusión de la infección por el VLA no se comprende completamente. La proteína no estructural NS1 y, la proteína estructural VP2 vienen a ser proteínas que impulsan respuestas inmunes innatas al VLA (Calvo-Pinilla et al., 2012).

Experimentalmente inocularon ovinos con el virus de la lengua azul tipo 4 y fueron expuestas a varios intervalos después de la inoculación (de siete a 70 días) con el VLA tipo 3. El examen de la respuesta clínica y serológica mostró que los animales estuvieron protegidos de la exposición a un segundo virus de la lengua azul durante hasta a 14 días después de la inoculación del primer tipo de virus. Llevaron a cabo un experimento de transferencia adoptiva en ovejas homocigóticas en el que participaron tanto anticuerpos como linfocitos T, y sólo se observó protección parcial contra la exposición a virus heterólogos, lo que indica que aunque la respuesta de las células T tiene un componente de protección cruzada, los anticuerpos no participan (Jeggo et al., 1986).

5.2.7. Transmisión

Se transmite gracia aun vector del genero Culicoides, un insecto perteneciente al orden Díptera, familia Ceratopogonidae. El cual cuenta con al menos 1400 especies que se clasifican en 31 subgéneros. Estos mosquitos son dípteros que

miden de 1 a 5 mm de longitud; son de zonas tropicales, húmedas y boscosas generalmente se encuentran en zonas ganaderas, en cuanto a altitud se encuentran desde el nivel del mar hasta 4200 msnm (Spinelli et al., 2009), el Culicoides ingiere partículas del virus que circulan en la sangre. En el interior del insecto, son captadas por las células del estómago y transferidas a los órganos internos del insecto, donde se multiplican hasta llegar a las glándulas salivales, de modo que, al picar a otro animal, la infecta con el virus que causa la infección (Lucientes, 2019).

La infección en los bovinos presenta un largo tiempo de viremia; por ende, los animales infectados juegan un papel importante en la transmisión del virus, sirviendo como reservorio por tiempo prolongado (hasta 11 semanas), sin mostrar signos de la enfermedad, que al ser picado por el vector estos se infecten y transmiten el virus al resto de animales que están en la misma zona (Kirkland et al., 2004), el virus de la lengua azul fue encontrado en semen de carneros y toros, lo que significa que la enfermedad puede transmitirse a ovejas y vacas susceptibles (Parsonson, 1990). Otro modo de transmisión vendría ser la transplacentaria, de modo que la enfermedad podría pasar de la madre al feto (OMSA, 2019).

Los mosquitos machos se alimentan del dulce de las frutas y polen de las flores; mientras tanto, las hembras son hematófagas para poder completar su ciclo vital, su hospedero preferido son los rumiantes domésticos y salvajes. Tienen un sistema olfativo en sus antenas y palpos maxilares que son bastante sensibles, lo que les facilita localizar a los hospedadores (Braverman et al., 2012).

En Pucallpa (Perú), se logró capturar 7,930 ejemplares de Culicoides; dentro de ellos 7,839 fueron hembras y 91 machos, las especies halladas fueron *C. insignis* (94.8%), *C. foxi* (1.3%) y *C. ocumarensis* (1.3%) (Navarro et al., 2018).

5.2.8. Diagnóstico

El diagnóstico diferencial del VLA es importante para la identificación inicial en la cual a simple vista se evidencia la presencia de lesiones epiteliales, ulceraciones y edema. El tipo de la lesión y la diseminación de la misma sobre el ganado infectado podrían orientar a un diagnóstico diferencial de la LA (Rojas et al., 2019).

El diagnóstico consiste en aislar el VLA e identificarlas en muestras de sangre (ya que los hospedadores de VLA presentan una viremia transitoria con un pico antes de la seroconversión, presenciando el aumento de los glóbulos rojos), muestras de semen, muestras de tejido, biopsia de médula ósea de ovejas adultas o hígado y bazo de corderos, hisopado de lesiones producidas durante la enfermedad (tracto digestivo, vascular y respiratorio), muestras de ganglios linfáticos, cerebro, pulmón, bazo, médula ósea e hígado de animales muertos o fetos abortados (Rojas et al., 2019).

El serogrupo VLA contiene al menos 27 serotipos, el genoma VLA consta de 10 moléculas de ARN bicatenario que codifican 7 proteínas estructurales y 4 proteínas no estructurales. La VP2 Y VP5 son 2 proteínas variables que se ubican en la capa externa del virión y definen la variación antigénica del virus y el serotipo. La proteína estructural VP7 es el más importante antígeno inmunodominante de

todo el serogrupo y es utilizada por lo general para identificar el serogrupo VLA a través de exámenes serológicos (Anthony et al., 2007).

Entre las principales pruebas y técnicas para el diagnóstico del VLA se encuentran:

5.2.8.1. Inmunofluorescencia (IF)

Estudios demostraron que al implementar los anticuerpos monoclonales (MAbs) estas se unen a los Orbivirus (Familia VLA), por lo general a través de la proteína estructural VP7, lo que facilita la detección del virus. Estos anticuerpos mononucleares o también llamados sueros anti-VLA son usados como anticuerpos en métodos de inmunofluorescencia para detectar el VLA, con anticuerpos secundarios juntados a distintos fluoróforos (Rojas et al., 2019).

5.2.8.2. ELISA competitivo

Técnica creada para ver anticuerpos o antígenos. Consiste en añadir la muestra de suero a evaluarse a una cantidad bastante del virus que trabaja como antígeno para detectar la presencia del VLA en la muestra evaluada (Rojas et al., 2019). Estudio realizado demuestra que, todos los anticuerpos se unen al sitio amino-terminal de la más importante proteína de la cápside VP7. En la técnica de ELISA competitiva, los anticuerpos de los sueros evaluados compiten con los anticuerpos mononucleares (MAbs) para poder unirse con el antígeno. La precisión diagnostica y la determinación de la prueba se valoran en 87.8 % y

98.2% correspondientemente, hechas en un análisis bayesiano de muestras de suero de campo de ganado con un estado de infección desconocido en la epidemia del VLA – 8 en Bélgica (Vandenbussche et al., 2008)

5.2.8.3. Ensayo de inmunoperoxidasa

Trata en que la respuesta inmune se presenta en las membranas de nitrocelulosa, donde las muestras evaluadas se absorben y se incuban con anticuerpos neutralizantes (NAb) dirigidos al antígeno específico del grupo importante de VLA, detectado con peroxidasa de rábano picante la presencia del virus. Pero, la identificación del VLA directamente en células sanguíneas o suspensiones de tejido de oveja infectadas no funciona (Rojas et al., 2019).

5.2.8.4. Microscopía electrónica

Las partículas del serogrupo de VLA son detectadas por microscopía electrónica de transmisión, y son necesarias técnicas de inmunomicroscopía para identificar VLA (Rojas et al., 2019).

5.2.8.5. Detección del genoma viral

Es utilizada con el fin de detectar el genoma de VLA mediante hibridación con sondas de ADN o ARN de distintos segmentos del genoma viral y los serotipos de VLA. En la actualidad estas técnicas son reemplazadas por la PCR o desarrollo de RT-PCR. Las pruebas de RT-PCR fueron puestas en funcionamiento en distintos ensayos, siendo así

la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real, como un principal instrumento de diagnóstico utilizada para el descubrimiento del VLA y sus múltiples serotipos (Rojas et al., 2019).

5.2.8.6. PCR-RT

Una técnica bastante práctica por qué; junta en uno solo la amplificación con la detección, une el resultado de la PCR con una señal de intensidad de fluorescencia. La PCR tiene caracteres muy significativos, una de ellas es su alta precisión, es rápida y tiene un amplio rango de detección. Los ensayos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son 10,000 y 100,000 veces más sensibles a comparación de otras pruebas usadas para hallar ciertos microorganismos, cabe resaltar que detectan diferencias de una sola copia de ADN o también ARN (Rojas et al., 2019).

5.2.9. Prevención y control

La manera más práctica y considerada la más efectiva de prevenir enfermedades e infecciones en los animales es la vacunación; porque son efectivas, seguras y accesibles debido a la cantidad de ganado que las necesitan (Feenstra & van Rijn, 2017). El agente etiológico tiene diferentes serotipos que se distribuyen a nivel mundial. A lo largo de los años, en Norteamérica se identificaron los serotipos 1,2,3,5,10,11,14,17,18,22 y 23, en Centroamérica y el caribe los serotipos 1,3,4,6,8,12 y 17 (Maclachlan & Guthrie, 2010).

En Sudamérica, es escasa los reportes del VLA, sin embargo, existe evidencia serológica en la república Argentina (Legisa et al., 2013; Puntel et al., 1999), Brasil donde mostraron que es endémico el VLA – 4 y está considerablemente distribuido en todo el Estado de Sao Paulo y confirman indirectamente que en este Estado existen condiciones favorables para la multiplicación de vectores (Hellmeister et al., 2016), asimismo (da Silva et al., 2018) a través de técnicas serológicas determinaron la existencia de los serotipos 4, 6, 14, 17, 19 y 20 en un estudio realizado en Brasil. Del mismo modo en Ecuador el aislamiento viral permitió identificar el serotipo 9, 13 y 18 del VLA, estos hallazgos sugieren que la lengua azul es una enfermedad enzoótica en Ecuador (Verdezoto et al., 2018). También en Colombia (Antioquia) se tiene reporte de los serotipos 12, 14 y 17 según estudio realizado por (Homan et al., 1985).

5.2.10. Vacunas

No existe la vacuna ideal contra el VLA para todas las situaciones de campo y es necesario equilibrar las propiedades de las vacunas, la vacuna ideal contra el virus de la lengua azul protege contra la enfermedad y bloquea la viremia de múltiples serotipos en todas las especies de rumiantes (Feenstra & van Rijn, 2017).

Existe una vacuna producida por Onderstepoort Biological Products (OBP), posee un diseño para efectuar la vacunación que contiene 3 vacunas pentavalentes. Un primer paquete A que protege contra los serotipos 1, 4, 6,

12 y 14; el paquete B que protege contra los serotipos 3, 8, 9, 10 y 11; y el último paquete brinda protección contra los serotipos 2, 5, 7, 13 y 19. Sugieren vacunar en lapso de 3 semanas, con una vacuna de refuerzo anualmente. Dentro del paquete A se incluyen a las cepas más atenuadas, que traen consigo signos clínicos negativos, en tanto que la atenuación de los otros paquetes no da lugar a signos clínicos debido a la anterior protección parcial. Es indispensable tomar en cuenta que los animales preñadas no deben ser vacunadas, ya que los fetos podrían desarrollar malformaciones congénitas (Feenstra & van Rijn, 2017).

Sin embargo, es necesario adoptar otros métodos preventivos para evitar la propagación del Culicoides y la propagación de la enfermedad de la LA. Los productores y trabajadores responsables del ganado, pueden ayudar a reducir la reproducción de los vectores y evitar que se formen charcos en diversas superficies, hojas caídas, neumáticos, desagües, fregaderos, piscinas, etc. También puede resultar útil instalar mosquiteros en puertas o ventanas tratadas con insecticida para reducir la exposición del ganado al vector (Mogajane, 2004).

5.2.11. Factores de riesgo asociados a la enfermedad

Pueden influir en la presentación y la gravedad de los brotes epidemiológicos los factores asociados con el virus, el medio ambiente, el vector y el huésped

(Gibbs & Greiner, 1994), el agente etiológico de la lengua azul tiene una amplia diversidad genética; aparte de que la enfermedad no es de contagio directo, el vector es indispensable para la diseminación y sobrevivencia del virus, cabe resaltar que la infección causada por el VLA solo ocurre cuando existen vectores competitivas (MacLachlan, 1994).

Otro factor de riesgo que resalta para la ocurrencia de la lengua azul viene a ser el factor climático, ya que los Culicoides son insectos poiquilotermos (Medlock & Leach, 2015). Los lugares óptimos para la reproducción del vector incluyen clima cálido con temperatura entre 28 y 35°C (si es superior a 40°C se mueren, y si es menor a 20°C retrasan su desarrollo), humedad por encima de los 25%, aguas estancadas con presencia de materia orgánica, para que la larva del mosquito pueda desarrollarse (Lucientes, 2019). Las temporadas cálidas y con presencia de lluvias contribuyen en la aparición del Culicoides y con ello la transmisión del virus (Gibbs & Greiner, 1994; MacLachlan, 1994; MacLachlan, 2011).

En Brasil, desarrollaron varios estudios ante la aparición del VLA, siendo los bovinos y ovinos con más alta prevalencia, estos estudios demuestran que el VLA es endémico y brindan condiciones favorables al Culicoides para su sobrevivencia, por ende, está considerablemente distribuido en todo el estado de Sao Paulo. Este estado es de clima tropical goza de una temperatura elevada y humedad a lo largo del año, estas características climáticas relacionadas a la explotación ganadera con sistema de manejo intensivo permiten la proliferación y el mantenimiento permanente del vector

de la lengua azul. Así mismo las malas prácticas zootécnicas y sanitarias realizadas, podrían estar asociadas a un mayor riesgo de infección por VLA. Los bovinos nuevos que ingresan al rebaño fueron considerados como un factor de riesgo para la ocurrencia de la infección (Da Silva et al., 2018).

La presencia y sobre población del Culicoides, el ganado susceptible (animales que se encuentran a lado de lagunas de aguas residuales y de riego), son algunos factores que ponen en riesgo a un sector para la aparición de brotes del virus lengua azul (Mayo et al., 2012).

Estudios realizados por (Gibbs & Greiner, 1994; MacLachlan, 1994; MacLachlan et al., 2009) consideran a los factores del huésped, estarían relacionados con la magnitud de la enfermedad, estos factores son el estado nutricional e inmunológico del animal, el estrés, la edad y la raza. Por ejemplo, encontraron que las ovejas mayores de 3 – 4 años de edad son más afectadas. Por otro lado, observaron que los corderos menores a un año de edad presentaron mayores tasas de morbilidad, mortalidad y letalidad que las ovejas de un año a más.

Factores identificados como el estado nutricional de los animales, el severo endoparasitismo (*Haemonchus contortus*) y el sistema de manejo intensivo, debilitan el sistema inmunitario de los animales y con ello tergiversan una respuesta inmunitaria adecuada contra el virus de la lengua azul (MacLachlan et al., 2009).

En Holanda, ante la aparición del serotipo 8 del VLA en el 2006, el gobierno estableció una red centinela para monitorear el resurgimiento del VLA-8, donde se evaluaron 275 hatos lecheros con 8901 vacas seronegativas, se evaluó la prevalencia mensual dentro del rebaño por región, este centinela se utilizó para determinar los factores de riesgo asociados al VLA-8. Del mismo modo se utilizó información sobre buenas prácticas de manejo y vivienda que se sospechaba, estaban relacionadas con el aumento de la prevalencia del VLA-8; los resultados obtenidos en este estudio revelan en los rebaños de la región central y sur de los Países Bajos tuvieron un aumento mensual en la seroprevalencia del 6,4% al 10,1%, respectivamente, en comparación con los rebaños de la región norte (Santman-Berends et al., 2010).

Además, afirman una fuerte asociación con el pastoreo o sea que hubo un incremento mensual de la seroprevalencia en animales criados con un sistema de pastoreo mixto, que fue del 5,6% al 11,4% mayor, en relación con el del ganado con sistema de crianza intensiva. Para el ganado con sistema de crianza extensiva, el aumento mensual de la seroprevalencia fue del 13,6%. El estudio demuestra que existían pequeños factores de manejo en los establos que pueden ayudar a limitar el acceso del vector de la lengua azul hacia los animales y sus posteriores consecuencias (Santman-Berends et al., 2010).

Un estudio realizado en California mostró que la abundancia de mosquitos Culicoides, el cual puede variar como resultado de las prácticas de manejo de aguas residuales y del sistema de riego de cada hato ganadero, ayuda al aumento de la abundancia del vector (Culicoides), para finalmente transmitir el VLA al ganado. De este modo los resultados obtenidos en este estudio demostraron que; aparte de los factores climáticos, los

factores antropogénicos son de suma importancia para determinar la prevalencia de la infección por el VLA en el ganado (Mayo et al., 2012).

Estudio realizado en pequeños rumiantes en Nepal demostró que el tamaño del rebaño, la eco zona, la raza y el historial de aborto, fueron determinados como los principales factores de riesgo asociados a la enfermedad (Gaire et al., 2014; Ma et al., 2019).

A través de un estudio realizado en Jordania identificaron, la falta de uso de desinfectantes en los hatos ganaderos y la falta de servicios veterinarios como factores de riesgo asociados con una alta seropositividad contra el VLA en ovejas (Hijazeen et al., 2020).

En el Perú los factores relacionados con la presencia de anticuerpos del virus de la lengua azul en bovinos vienen a ser el factor climático como la precipitación, humedad: en regiones con mayor humedad (56% - 59%) hay mayor seropositividad, temperatura: en regiones con T° de 15 a 23°C la seroprevalencia es de (73.7%), altitud 57% (0-1500 msnm), 23.5% (1,501-3.000 msnm), conforme aumenta la altitud la seroprevalencia disminuye (Incil, 2023).

5.3. Prevalencia “P”

Número de casos de cierta enfermedad en una determinada población, en un determinado momento, sin distinción entre casos nuevos y antiguos.

$$P = \frac{\text{Número de individuos que padecen una enfermedad en un momento determinado}}{\text{Número de individuos de la población en riesgo en ese momento}}$$

$$n = \frac{\text{Número de casos de enfermedad}}{\text{población en riesgo}} * 100$$

Donde n es un número entero que depende de la rareza de la enfermedad (Thrusfield et al. 2018).

6. HIPOTESIS Y VARIABLES

6.1. Hipótesis

Hipótesis alterna

La Seroprevalencia del Virus Lengua Azul y sus factores de riesgo en vacunos de la cuenca de san miguel del distrito de Vilcabamba - La Convención - Cusco es relativamente elevada.

Hipótesis nula

La Seroprevalencia del Virus Lengua Azul y sus factores de riesgo en vacunos de la cuenca de san miguel del distrito de Vilcabamba - La Convención - Cusco es relativamente baja.

6.2. Variables

En el estudio "Seroprevalencia del Virus de la Lengua Azul", las variables se clasifican de la siguiente manera:

Variable dependiente:

Seroprevalencia del Virus de la Lengua Azul (presencia o ausencia de anticuerpos en los animales analizados).

Variables independientes:

- **Sector:** Ubicación geográfica o zona de estudio (Esmeralda, Espíritu Pampa, Koshireni, y en la Parte Alta (Arma)).

- **Raza:** Categorías (criollos, híbridos y otras razas puras).
- **Sexo:** Categorías (machos y hembras).
- **Edad:** Según cronología dental (Dientes de leche, Dos dientes, Cuatro dientes, Seis dientes y Boca llena).
- **Altitud:** Medida en metros sobre el nivel del mar (1346 – 1450 y 1451 – 2110).
- **Humedad:** Porcentaje de humedad ambiental (50 – 56, 57 – 63 y 64 – 69).
- **Sistema de pastoreo:** Categorías (extensivo y mixto).

7. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

7.1. Tipo, diseño y nivel de investigación

La investigación es básica, no experimental, exploratoria y transversal.

7.2. Ubicación espacial y temporal de la investigación

El presente estudio se realizó en la cuenca San Miguel del Distrito de Vilcabamba, Provincia de La Convención – Cusco que se encuentra con una altitud media de 2764 m.s.n.m. T° es de 19°C – 28°C, la humedad es de 65%, Latitud 13°6'28.19" S y Longitud de 73°7'16.93" W. La sensación térmica media en Vilcabamba según el método de Clasificación Climática de Warren Thornthwaite – SENAMHI (Ministerio del Ambiente; Senamhi, 2020).

7.3. Población en estudio

Vacunos del distrito de Vilcabamba, provincia de La Convención – Cusco.

7.4. Diseño del tamaño muestral

La selección del tamaño muestral se hizo por conveniencia y se consideraron los siguientes factores: un nivel de confianza del 91%; un margen de error del 9%; como resultado de ello, se evaluaron 88 vacunos de distintos grupos etarios las cuales fueron registrados de acuerdo a la dentición, sexo, raza y sistema de pastoreo.

Se utilizó la fórmula para poblaciones finitas:

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

Donde:

- N: Tamaño de muestra
- Z: Nivel de confianza del 91% (1.70)
- p: probabilidad de animales positivos al VLA 5% (0.5)
- q: Animales negativos al VLA (1-p) = 1-0.5 = 0.5
- E: La tolerancia de error se estipuló en 9% (0.09), si no se dispone de un valor particular va del rango 1% (0.01) a 9% (0.09), siendo el valor un criterio del investigador (Suarez et al., 2012).

Así, se obtuvo el tamaño de la muestra que estuvo conformado por 88 animales.

$$n = \frac{5,983 * (1.70)^2 * 0.5 * 0.5}{(5,983 - 1) * (0.09)^2 + (1.70)^2 * 0.5 * 0.5} = 87.902 \approx 88$$

7.5. Selección de la muestra

Para estimar la seroprevalencia del virus de la lengua azul (VLA), se utilizó el muestreo aleatorio completamente al azar (Correa, 2000). Se colectaron muestras sanguíneas de vacunos de ambos sexos (machos y hembras) de distintas razas (criollos, híbridos y otras razas puras) los cuales fueron estimados de la siguiente manera:

- Criollo: La característica de esta raza es la alta rusticidad, capacidad de adaptación a factores medioambientales, capacidad de aprovechar pastos naturales, resistencia a ciertas enfermedades parasitarias e infecciosas tiene y mantiene una tipificación variada ya que posee un genotipo y ecotipo variado fruto de la selección natural (INIFIA, 2013).
- Híbridos: Es el resultado del cruce entre animales de razas diferentes, con el objetivo de combinar características de una raza con otra, (UGRJ, 2024), esta

raza estuvo conformado por cruce de animales con características del pardo suizo (brown swiss) con criollos, nerole (vacunos con características parecidas a la raza cebuina con orejas largas, presencia de giba en los machos y ligeramente en las hembras) también cruzados con la raza criolla y Holstein (con características similares del Holstein, con manchas blancas y negras) resultado del cruce con la raza criolla.

- Otras Razas puras: vacunos de raza Nerole, Gyr, Brahman (raza cebuina caracteristicos por sus ojeras largas de pelaje blanco, gris y manchado de gris, los machos con giba bien implantada sobre el dorso y en las hembras menos desarrollada, con barbada suelta plegada) y Holstein (ganado de tamaño grande, color blanco y negro, y rojo y blanco temperamento lechero exclusivamente)

De distintas edades según su cronología dentaria que fue estimada de la siguiente manera:

- DL: Dientes de leche (0 – 28 meses)
- 2D: Dos dientes (28 – 36 meses)
- 4D: Cuatro dientes (36 – 43 meses)
- 6D: Seis dientes (43 – 51 meses)
- BLL: Boca llena (51 meses a más)

La visualización de la dentición se utiliza para estimar la edad aproximada de los bovinos, los bovinos tienen dientes "difiodontes" y como resultado, tienen una serie de dientes que erupcionan al principio de la vida (dientes deciduos o de

leche) que luego son sustituidos por dientes permanentes con la misma función (Ledic, 2011).

Algunas de las fincas tenían un sistema de pastoreo extensivo (solo con pastoreo exclusivo) y otros mixtos (con complementos nutricionales y cobertizos para dormir), y ocasionalmente se suministran bloques de sal mineral en ambos sistemas.

La recolección de las muestras se realizó los días 17 Y 18 del mes de octubre del año 2023.

7.6. Criterios de inclusión

Para tomar la muestra fueron considerados bovinos de diferentes edades (según su dentadura), sexo (machos y hembras), el grupo racial estuvo conformada por criollos (ganado con características indeterminadas), híbridos (ganado con características de la raza Pardo Suizo, Holstein y cruces con razas cebuinas), otras razas puras estuvieron conformadas por las razas Nerole y Brahman (ganado cebú), de predios con sistema de crianza extensiva y mixta.

7.7. Criterios de exclusión

Debido a la falta de un brete para la inmovilización de los animales para la correcta colección de muestras sanguíneas y la interacción humano - animal se limitó a la extracción de muestras de sangre, tomando un tiempo máximo de 30

segundos para cada animal, por petición de los productores se excluyeron los animales en producción de leche.

7.8. Unidad de análisis

La unidad de análisis estuvo conformada por muestras de suero de vacunos que aparentemente estaban sanos.

7.9. Técnicas e instrumentos para la recopilación de datos

- Método de observación
- Fichas de registro de muestras

7.10. Materiales para el análisis e interpretación de la información

Material Biológico

- Sangre

Materiales de campo

- Tubos vacutainer estériles de 10 ml sin anticoagulantes
- Agujas vacutainer
- Funda para agujas vacutainer
- Cooler refrigerante
- Alcohol
- Algodón
- Gradillas
- Baterías de hielo
- Lapicero
- Fichero

- Registros para toma de datos
- Plumón indeleble
- Marcador indeleble

7.11. Materiales de laboratorio

- Kit de ELISA competitivo (ID Screen® Bluetongue Competition, IDVvet, España).
- Pipetas automáticas de canal simple y multicanal
- Puntas de pipetas desechables
- Agua destilada
- Recipiente de 1-2 litros
- Congeladora de - 20°
- Probetas de 100 a 1000 mL
- Parafilm
- Papel absorbente
- Viales de 2 mL

7.12. Equipos

- Estufa de incubación a 37°C (JITTERBUG-4-Boekel Scientific)
- Refrigeradora
- Congeladora de -20°C
- Cronometro de tiempo
- Lector de microplacas ELISA (EPOCH 2-Biotek)
- Vortex u homogenizador (VORTEX 2 GENIE – Scientific Industries)
- Cabina de flujo laminar (Telstar Bio IIA)

7.13. Metodología de campo

Recolección de muestras:

- La recolección de muestras se inició con la identificación del animal (edad, sexo y raza).
- La sujeción del animal se realizó con soga y mocheta.
- Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción de la vena caudal utilizando tubos vacutainer con gel anticoagulante al vacío.
- Se obtuvieron aproximadamente 2 ml de sangre por cada bovino, siendo estos rotulados (con número de muestra y nombre o brete del animal) y llenados los datos en el formato para recolección de muestra (ver anexo 2).
- Después del rotulado se colocaron las muestras en las gradillas y luego al cooler, donde se encontraban los geles refrigerantes o también llamados baterías de hielo, manteniendo una temperatura de 4 °C, para luego ser transportados al laboratorio para su respectivo análisis.

Metodología para la obtención de los factores de riesgo

- Se aplicó un cuestionario a cada uno de los productores. Las consideraciones para evaluar los factores de riesgo fueron: sistema de pastoreo, sexo (consultando al productor), humedad, altura fue determinada con Google Maps (anexo N°1).

Metodología de laboratorio

- El análisis serológico se realizó en el laboratorio institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco”, de la Facultad de Agronomía y Zootecnia – UNSAAC.

7.14. Metodología para la obtención del suero sanguíneo

- Se hizo la centrifugación de las muestras sanguíneas a 1500 rpm por 10 min.
- Despues de separar el plasma de los componentes densos de la sangre estas fueron envasados y rotulados en viales para su posterior conservación en la refrigeradora a una temperatura de -20°C hasta el momento del procesamiento.

7.15. Metodología para la detección de anticuerpos contra el VLA

➤ Los análisis serológicos de las muestras de suero fueron realizados mediante la prueba de ELISA competitiva (ID Screen® Bluetongue Competition, IDVet, 2022, España), siguiendo estrictamente las instrucciones y especificaciones del fabricante.

7.16. Procedimiento de la prueba ELISA competitiva**Preparación de la muestra**

Se descongelaron los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.

Preparación de la solución de lavado

Para esto fue necesario equilibrar la solución de lavado concentrada (20x) a temperatura 21°C en una incubadora y se agitó para disolver los cristales.

Se ha preparado la solución de lavado concentrada (20x) en agua destilada en una proporción de 1/20.

7.17. Desarrollo de la prueba de ELISA

Tabla 1. Placa de ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP	m5	m13	m21	m29	m37	m45	m53	m61	m69	m77	m85
B	CP	m6	m14	m22	m30	m38	m46	m54	m62	m70	m78	m86
C	CN	m7	m15	m23	m31	m39	m47	m55	m63	m71	m79	m87
D	CN	m8	m16	m24	m32	m40	m48	m56	m64	m72	m80	m88
E	m1	m9	m17	m25	m33	m41	m49	m57	m65	m73	m81	
F	m2	m10	m18	m26	m34	m42	m50	m58	m66	m74	m82	
G	m3	m11	m19	m27	m35	m43	m51	m59	m67	m75	m83	
H	m4	m12	m20	m28	m36	m44	m52	m60	m68	m76	m84	

Control positivo (CP), control negativo (CN) y ubicación de las muestras (m).

- Despues de descongelar las muestras fueron homogenizados en un vortex.
- Se añadió 50 µL del diluyente 2 en todos los pocillos, seguidamente se adicionó 50 µL del control positivo en los pocillos A1 y B1, también 50 µL del control negativo en los pocillos C1 y D1, finalmente 50 µL de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.
- Se usó parafilm para cubrir la placa y se colocó en el agitador, luego se incubó a 25 °C por 45 minutos.
- Se preparó el conjugado diluyendo el conjugado 10X, en una proporción de 1:10 con el Diluyente 2.
- Se distribuyó 100 µL del conjugado 1X en todos los pocillos.
- Se volvió a cubrir con parafilm y se volvió a incubar por 30 minutos a 21 °C.
- Se vació la placa y se lavó tres veces la placa con 300 µL de la solución de lavado evitando que los pocillos se vayan sequen entre los lavados.
- Se puso 100 µL de solución de revelación en la totalidad de los pocillos.

- Se cubrió una vez más con parafilm y se volvió a incubar por 15 minutos a 21°C en total oscuridad.
- Después se le puso 100 µL de solución de parada todos los pocillos, en el mismo orden que en el paso N°7 para detener la reacción.
- Por último, se a leído la densidad óptica a 450nm en el lector de microplacas ELISA competitiva (EPOCH 2-Biotek)

7.18. Validación de la prueba

El ensayo se validó teniendo las siguientes consideraciones:

La densidad óptica media (DO) del control negativo (CN) (DOCN) es mayor a 0.7
(DOCN > 0.700)

El cociente entre los valores promedios de las densidades ópticas del control positivo (DOCP) y negativo (DOCN) es inferior a 0.3

$$(DO_{CP} / DO_{CN} < 0.3)$$

7.19. Interpretación de los resultados

Para cada muestra, se calculó el porcentaje de competición S/N% (**sample / negative**), en español se refiere a (muestra / control negativo). El valor S/N es la intensidad de cambio de color desarrollado en el suero problema en comparación con el suero control negativo. Se calculó de la siguiente manera:

$$S/N\% = \frac{DO_{muestra}}{DO_{x CN}} \times 100$$

Donde:

- S: Sample
- N: Negative

NOTA: Muestras con un S/N% superior o igual al 40% son consideradas negativas.

Muestras con un S/N% inferior al 40% son consideradas positivas.

- DO: Densidad óptica
- CN: Control negativo

7.20. Determinación de la prevalencia del virus de la lengua azul

La frecuencia del virus de la lengua azul (VLA) se determinó mediante la fórmula (Thrusfield et al., 2018):

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{Número de muestras positivas}}{\text{Número de muestras analizadas}} * 100$$

Así mismo, el porcentaje de prevalencia fue determinado de manera general, según sector, raza, sexo, edad, altitud, humedad y sistema de pastoreo.

7.21. Metodología para determinar la asociación de la prevalencia del Virus de la Lengua Azul con el sector, raza, sexo, edad, altitud, humedad y sistema de pastoreo.

- **Diseño estadístico**

Para identificar la asociación de los factores de riesgo al virus de la lengua azul; entre vacunos de diferentes sectores, razas, sexo, grupos etarios, ubicados a distintas altitudes, humedad y distintos sistemas de crianza, se utilizó la prueba de chi cuadrado, con la siguiente formula:

$$\chi_c^2 = \frac{\sum(F_o - F_e)^2}{F_e}$$

Donde:

χ_c^2 : Chi Cuadrado

F_o : Frecuencia del valor observado

F_e : Frecuencia del valor esperado

El nivel de significancia utilizada en el presente estudio fue de 0.05

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Seroprevalencia

los resultados del análisis serológico realizado para detectar anticuerpos contra el VLA en bovinos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba, Cusco, utilizando la técnica de ELISA competitivo. De las 88 muestras de suero analizadas, 81 (92.0%) resultaron positivas para anticuerpos contra el VLA, mientras que 7 (8.0%) fueron negativas.

Estos resultados evidencian una alta seroprevalencia del Virus de la Lengua Azul (92.0%), lo que indica una amplia distribución del virus en la población bovina de la zona evaluada. Dado que el VLA es transmitido principalmente por vectores del género Culicoides, esta elevada prevalencia podría estar relacionada con la presencia sostenida de estos insectos en el distrito, así como con condiciones climáticas y ambientales que favorecen su reproducción y la transmisión viral. La elevada seropositividad también sugiere una circulación activa del virus entre los bovinos, lo cual representa un riesgo sanitario, ya que, si bien los bovinos suelen actuar como portadores asintomáticos, el VLA puede provocar manifestaciones clínicas severas en otras especies de rumiantes, especialmente en ovinos.

Es fundamental implementar medidas de control para reducir la transmisión del virus, incluyendo la vigilancia epidemiológica continua, el control de vectores y, si es necesario, campañas de vacunación en áreas de alto riesgo.

Tabla 2. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba, mediante la prueba de ELISA de competición.

Diagnóstico	Frecuencia	Porcentaje (%)
Positivo	81	92.0
Negativo	7	8.0
Total	88	100

En la tabla 2 se puede observar que, de un total de 88 muestras de suero analizadas, se encontró que 81 fueron positivas y 7 resultaron negativas a anticuerpos contra el VLA. Estos resultados indican una seroprevalencia del 92%, lo que sugiere una alta circulación del virus en esta población.

Estos hallazgos contrastan significativamente con los resultados reportados por (Trinidad et al., 2024), quien reportó una seroprevalencia del 100% (156/156) en un estudio realizado en Madre de Dios (Perú). Sin embargo difieren con la seroprevalencia reportada por (Incidil, 2023), quien encontró una seroprevalencia del 19.1% a nivel nacional en un estudio con 3,425 muestras de suero de bovinos procedentes de diferentes zonas del Perú.

Otros estudios llevados a cabo en bovinos en dos regiones norteñas de Colombia (Córdoba y Antioquía) indicaron una seroprevalencia del 51.8% de seroprevalencia del VLA (Homan et al., 1985), en Manabí al norte de Ecuador un 99% de prevalencia (De la Torre et al., 2021).

En nuestro estudio, la seroprevalencia observada del 92% es considerablemente más alta, lo que podría estar relacionado con las condiciones específicas de la cuenca san

miguel del distrito de Vilcabamba. Factores como la altitud y la humedad podrían estar creando un ambiente favorable para la transmisión del VLA, similar a lo observado por Incil, (2023), quien demostró que estos factores están ligados a la seroprevalencia del virus.

8.1. Factores de Riesgo

La tabla 3 muestra una diferencia clara en la seroprevalencia del VLA según el sector. En los sectores de Esmeralda, Espíritu Pampa y Koshireni, la seroprevalencia es del 100%, lo que indica una exposición masiva al virus. Esta situación podría estar vinculada a la presencia activa de vectores, especialmente insectos del género *Culicoides*, conocidos por transmitir el VLA. Además, las condiciones ambientales y la dinámica de los animales en estos sectores parecen ser propicias para la transmisión del virus.

Por el contrario, en la Parte Alta (Arma), todos los bovinos analizados fueron seronegativos, lo que sugiere que, en esta área, el VLA no ha tenido un impacto significativo, posiblemente debido a factores ecológicos que no favorecen la supervivencia o reproducción de los vectores transmisores, o bien por un aislamiento geográfico que limita el movimiento de los animales y la transmisión del virus.

La tabla 3 refleja que los sectores de Esmeralda, Espíritu Pampa y Koshireni, evidenciaron una seroprevalencia del 100%. Por el contrario, en la Parte Alta (Arma) ubicada a 2110 m.s.n.m., todos los animales resultaron negativos, representando el 100% de los casos negativos. Este contraste es notable, ya

que en este sector no se detectaron anticuerpos contra el VLA en ninguno de los animales evaluados.

Tabla 3. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba, por sectores, mediante la prueba de ELISA competitiva.

Sector	Diagnóstico		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
Esmeralda	53 (100.0)	0 (0.0)	53 (100.0)
Espíritu Pampa	23 (100.0)	0 (0.0)	23 (100.0)
Koshireni	5 (100.0)	0 (0.0)	5 (100.0)
Parte Alta (Arma)	0 (0.0)	7 (100.0)	7 (100.0)

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado indicaron una asociación significativa entre el sector y la seroprevalencia de anticuerpos contra el Virus de la Lengua Azul (VLA) en vacunos del distrito de Vilcabamba ($p < 0.05$) (Anexo 14). Estos hallazgos sugieren que la altitud y el microclima de cada sector pueden influir en la exposición de los animales al VLA. La altitud es un factor ecológico determinante en el desarrollo del Virus de la Lengua Azul (VLA), ya que influye directamente en la presencia y actividad del vector *Culicoides* spp. Ya que, a mayores altitudes, las temperaturas promedio son más bajas y la presión atmosférica disminuye, lo cual afecta negativamente el ciclo biológico de estos vectores (Mellor et al., 2000). Estudios han demostrado que los *Culicoides* no pueden completar su ciclo biológico de manera eficiente por debajo de los 15 °C, condición común en zonas por

encima de los 3,000 metros sobre el nivel del mar (msnm). Esto impide tanto la reproducción del vector como la replicación del virus en su interior, ya que el VLA necesita temperaturas cálidas para alcanzar la fase infectiva dentro del insecto (Mellor et al., 2000). Y esto se evidencia con nuestros resultados del sector Arma que pertenece a las partes altas donde se encontró 0% de prevalencia indicando claramente que la altitud no le brindan las condiciones propicias para el desarrollo del virus.

Estos resultados son parcialmente similares a los estudios previos sobre la seroprevalencia del VLA en diferentes regiones del mundo. Incil, (2023) reportó una seroprevalencia del 19.1% a nivel nacional en Perú, demostrando que factores como la altitud, la humedad y la temperatura son determinantes clave en la transmisión del virus. En este sentido, los sectores de Esmeralda, Espíritu Pampa y Koshireni, que presentaron una seroprevalencia del 100%, podrían estar sujetos a condiciones ambientales similares a las descritas por Incil, lo que explicaría la alta tasa de seropositividad (Qin et al. 2020) también señalaron la influencia de la zona climática y la edad como factores de riesgo para la infección por VLA en bovinos y caprinos en China, lo que refuerza la importancia de las condiciones ambientales en la transmisión de esta enfermedad.

La tabla 4 muestra la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la lengua azul (VLA) en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, clasificados por raza y evaluados mediante la prueba de ELISA de competición. Los resultados muestran que la seroprevalencia global de

anticuerpos contra el virus de la Lengua Azul en los bovinos analizados fue del 92.05% (81/88), lo que indica una amplia circulación del virus en la zona.

Tabla 4. Seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, por raza, según prueba de ELISA de competición.

Raza	Diagnóstico		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
Criollo	32 (100.0)	0 (0.0)	32 (100.0)
Híbrido	43 (86.0)	7 (14.0)	50 (100.0)
Otras razas	6 (100.0)	0 (0.0)	6 (100.0)

La alta seroprevalencia observada en este estudio concuerda con investigaciones previas realizadas en zonas de clima templado y tropical, donde la transmisión del virus de la Lengua Azul está favorecida por la presencia del vector Culicoides spp. (MacLachlan y Mayo, 2013; Tabachnick, 2020).

La diferencia en la seroprevalencia entre razas puede deberse a varios factores: Mayor exposición al vector transmisor, Factores genéticos e inmunológicos y Condiciones ambientales y manejo.

La alta seroprevalencia en la raza Criollo y en Otras Razas sugiere que estos animales pueden habitar zonas donde la densidad y la mayor exposición al vector transmisor Culicoides spp. es alta. Se ha reportado que ciertas razas tienen respuestas inmunes más eficientes contra el virus de la Lengua Azul, lo que podría explicar por qué la raza

híbrida presenta una menor seroprevalencia en comparación con la Criollo (Wilson & Mellor, 2009). La distribución del virus puede estar influenciada por las condiciones climáticas y las prácticas de manejo en las explotaciones ganaderas. Estudios previos han demostrado que, en regiones con altas temperaturas y humedad, la presencia del vector Culicoides spp. es más alta, lo que incrementa el riesgo de transmisión (Savini et al., 2011).

Estos hallazgos sugieren que el virus de la Lengua Azul circula activamente en la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, con una exposición generalizada de los bovinos al agente infeccioso. Sin embargo, la presencia de animales seronegativos dentro de la raza híbrida podría indicar una menor susceptibilidad genética o diferencias en la exposición al vector.

En la raza Criollo, se observó una seroprevalencia del 100%, con 32 animales positivos y ninguno negativo. Este mismo patrón se observa en el grupo de "Otras razas puras", donde la totalidad de los animales 6 también resultaron positivos, con una seroprevalencia del 100%, sin embargo, los 6 animales evaluados con características de raza pura estuvieron presentes solo en cuatro rebaños, por lo que la prevalencia podría aumentar o reducir si todos los rebaños tuvieran este tipo de ganado, se sugiere realizar más estudios con más número de muestras en esta misma raza. De manera similar, la raza Híbrido presentó una seroprevalencia del 86.0%, con 43 animales positivos y 7 negativos, lo que representa el 14.0% de los casos negativos dentro de esta raza, se requieren más estudios para determinar la resistencia genética al BLV como estrategia de control.

Estos resultados sugieren que la circulación del VLA es generalizada en todas las razas analizadas, con una alta prevalencia tanto en los bovinos criollos e híbridos como en otras razas. Sin embargo, en estas últimas se observa una pequeña proporción de animales seronegativos, lo cual podría deberse a factores como diferencias genéticas, manejo o exposición al virus. Esto indica la necesidad de investigar más a fondo las posibles causas de esta diferencia, a pesar de que la prevalencia global sigue siendo alta.

Por otro lado, es importante señalar que los resultados de la prueba de Chi-cuadrado mostraron una asociación significativa entre la raza y la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la lengua azul (VLA) en vacunos del distrito de Vilcabamba ($p < 0.05$) (anexo 15).

Estos resultados sugieren que la circulación del VLA es generalizada en todas las razas analizadas, con una alta prevalencia tanto en los bovinos criollos e híbridos como en otras razas. Sin embargo, en estas últimas se observa una pequeña proporción de animales seronegativos, lo cual podría deberse a factores como diferencias genéticas, manejo o exposición al virus. Esto indica la necesidad de investigar más a fondo las posibles causas de esta diferencia, a pesar de que la prevalencia global sigue siendo alta. Nuestros resultados difieren de los resultados reportados por Trinidad et al.,(Trinidad et al., 2024), que indica que el factor racial no implica en la presentación de la enfermedad, en sus hallazgos.

Tabla 5. Seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba, por sexo, según prueba de ELISA competitivo.

Sexo	Diagnóstico		Total
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
Hembras	64 (90.1)	7 (9.9)	71 (100.0)
Machos	17 (100.0)	0 (0.0)	17 (100.0)

La tabla 5 presenta los resultados de la seroprevalencia de anticuerpos del virus de la lengua azul (VLA) en vacunos de la cuenca san miguel del distrito de Vilcabamba. En las hembras, el 90.1% (64/71) resultaron positivos, mientras que el 9.9% (7/71) fueron negativos. En contraste, todos los machos evaluados (100%) resultaron seropositivos, sin casos negativos.

Estos resultados sugieren que, si bien la seroprevalencia es alta en ambos sexos, se observa una diferencia notable en las hembras, donde una pequeña proporción es seronegativa. Esta diferencia podría estar influenciada por diversos factores como la biología reproductiva, diferencias en la exposición ambiental, el manejo o el estado inmunológico. La ausencia de individuos seronegativos entre los machos podría indicar que este grupo ha estado uniformemente expuesto al virus, o que presenta una mayor susceptibilidad a la infección y posterior seroconversión. Estos hallazgos refuerzan la idea de una circulación activa del VLA en la población bovina, con alta seroprevalencia en ambos sexos, pero con la necesidad de profundizar en los factores que podrían estar influyendo en la seronegatividad en algunas hembras.

La variación en la seroprevalencia por sexo es un hallazgo que requiere mayor investigación para entender mejor los factores subyacentes que podrían influir en esta diferencia. (Incil, 2023) reportó que factores como el manejo del ganado y las condiciones ambientales pueden influir en la seroprevalencia del VLA en diferentes regiones del Perú, lo que podría también aplicarse a las diferencias observadas entre machos y hembras en nuestro estudio. Asimismo, este patrón coincide con estudios previos que han reportado variaciones en la seropositividad del VLA entre sexos en diferentes regiones (Hwang et al. 2019), en su estudio, también documentaron diferencias en la seroprevalencia por sexo en ganado lechero en Corea del Sur, con una prevalencia ligeramente mayor en los machos.

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado no muestran una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Estos resultados sugieren una alta seroprevalencia general en ambos sexos (Anexo 16), resaltando la necesidad de implementar medidas de control en toda la población de vacunos, independientemente del sexo.

Los resultados de la prueba de chi cuadrado muestran que no existe asociación estadística significativa entre la edad y la seroprevalencia del VLA (ver anexo 17).

En cuanto a la edad la tabla 6 nos muestra un 100 % (25/25) de seropositividad en el grupo de bovinos con dientes de leche. En los grupos de animales con 2 dientes y 4 dientes, la seroprevalencia fue menor, con un 80% (8/10) y 78.6% (11/14) de positivos, respectivamente. Un 20% (2/10) y 21.4% (3/14) de los animales de estos grupos

resultaron seronegativos, lo cual podría reflejar una menor exposición al virus en estas edades o una pérdida de los anticuerpos maternos sin una exposición suficiente para generar una respuesta inmune propia.

Tabla 6. Relación entre la edad y la seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba.

Edad	Diagnóstico		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
DL	25 (100.0)	0 (0.0)	25 (100.0)
2D	8 (80.0)	2 (20.0)	10 (100.0)
4D	11 (78.6)	3 (21.4)	14 (100.0)
6D	12 (100.0)	0 (0.0)	12 (100.0)
BLL	25 (92.6)	2 (7.4)	27 (100.0)

El grupo con 6 dientes presentó una seroprevalencia alta, con un 100.0% de seropositivos, lo que indica una mayor exposición al virus en animales más viejos. Finalmente, los bovinos con boca llena de dientes mostraron una seroprevalencia del 92.6%, con solo un 7.4% de seronegativos, lo que refleja la acumulación de exposición al virus a lo largo de la vida.

En conjunto, los animales más jóvenes (con dientes de leche) presentan una seroprevalencia del 100%, posiblemente debido a los anticuerpos maternos, mientras que los animales en edades intermedias muestran una menor seroprevalencia, y los adultos vuelven a presentar una alta prevalencia debido a la mayor exposición acumulada al VLA a lo largo del tiempo. Estos resultados podrían ayudar a entender los patrones de transmisión y la dinámica de la infección en la población bovina de la región.

En nuestro estudio resalta de que no existe asociación entre la edad y el virus de la lengua azul, lo cual se asemeja a un reporte de un estudio donde se subraya que la edad de los animales no presento asociación con la infección por VLA (Green et al., 2005), así mismo son similares a los obtenidos por (Qin al. 2020), quienes identificaron la edad como un factor de riesgo significativo en la infección por VLA en vacunos y caprinos en la provincia de Guangxi, China. Al igual que en este estudio, reportaron una mayor seroprevalencia en animales más jóvenes, lo que puede estar relacionado con una exposición reciente a los vectores del virus en áreas con alta actividad viral. Sin embargo, en el presente estudio, los vacunos más jóvenes (2D y 4D) presentan una prevalencia ligeramente inferior (80% y 78.6%, respectivamente), lo que puede deberse a diferencias en la dinámica epidemiológica de la región, hallazgos que son similares a lo reportado por (Ma et al., 2019); ya que reportó alta seroprevalencia en animales mayores de 24 meses en comparación con los de 2 y 24 meses y los de la edad de 6 y 12 meses de edad.

Tabla 7. Relación entre la altitud y la seroprevalencia de anticuerpos del VLA en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba.

Altitud (msnm)	Diagnóstico		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
1346 – 1450	58 (100.0)	0 (0.0)	58 (100.0)
1451 – 2110	23 (76.7)	7 (23.3)	30 (100.0)

La seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la Lengua Azul en bovinos se evaluó en dos rangos altitudinales dentro de la cuenca de san miguel del distrito de Vilcabamba.

Los resultados evidenciaron una mayor seroprevalencia en los animales ubicados en altitudes más bajas (1346 – 1450 msnm), en comparación con aquellos localizados en altitudes superiores (1451 – 2110 msnm).

En el rango altitudinal más bajo, entre 1346 y 1450 msnm, se observó una seroprevalencia del 100%. Esta alta prevalencia podría estar relacionada con factores ecológicos favorables para la transmisión del VLA, como la presencia de vectores *Culicoides spp.* en zonas de menor altitud. En el rango altitudinal más alto, entre 1451 y 2110 msnm, la seroprevalencia fue significativamente menor, con un 76.7% de animales seropositivos y un 23.3% de seronegativos. Este resultado sugiere una menor exposición al virus en las zonas de mayor altitud, posiblemente debido a condiciones menos propicias para la actividad de los vectores, como temperaturas más bajas o una menor densidad de los insectos vectores.

Se pue observar el factor medio ambiental que es muy importante el cual propicia que en altitudes bajas, las condiciones climáticas favorecen la proliferación de *Culicoides spp.* , los insectos vectores del virus. Diversos estudios han reportado que la densidad de estos vectores disminuye con el aumento de la altitud debido a cambios en la temperatura y humedad (García et al., 2020). Y también que, en altitudes más bajas, las temperaturas más cálidas y la mayor humedad favorecen la replicación viral y la actividad de los vectores, lo que explica la elevada seroprevalencia en esta zona. Por otro lado, en altitudes superiores, las condiciones pueden limitar la transmisión del virus debido a una menor presencia del vector (Martínez et al., 2019).

Por otro lado, la prueba de Chi-cuadrado indicó una asociación significativa entre la altitud y la seroprevalencia de anticuerpos contra el virus de la lengua azul (VLA) ($p < 0.05$). La diferencia en los resultados sugiere que las áreas de menor altitud podrían ofrecer condiciones más favorables para los vectores, lo que aumenta la probabilidad de transmisión del VLA a los vacunos. Estos resultados reflejan que la altitud es un factor importante en la distribución de la seroprevalencia del VLA en la región (Anexo 18), sugiriendo que los animales en zonas más bajas están más expuestos al virus y, por lo tanto, son más susceptibles.

Los resultados muestran una clara relación entre la altitud y la seroprevalencia del VLA, lo que coincide con investigaciones previas que han destacado la influencia de factores geográficos y climáticos en la transmisión de este virus. Estos resultados son consistentes con el estudio realizado por (Jurado et al. 2020), quienes encontraron que la seroprevalencia del VLA varía con la altitud. En su estudio realizado en Junín, Perú, reportaron una seroprevalencia del 56.1% en regiones a 600 msnm, mientras que a mayores altitudes (3800 msnm), todas las muestras resultaron negativas, lo cual contrasta significativamente con lo reportado por (Green et al., (Green et al., 2005), quienes evaluaron los factores de riesgo para los bovinos seropositivos al VLA; las muestras fueron evaluadas por Elisa competitiva, y los factores de riesgo evaluados fueron ubicación geográfica y las prácticas de manejo; donde concluyeron que la altitud (en rango de 324 a 1,260 msnm) presenta asociación con el aumento de la seropositividad, por su parte (Incidil, 2023) demostró que la altitud es uno de los principales factores de riesgo asociados a la seroprevalencia del VLA en Perú, señalando que las zonas más bajas (0 – 1,500 msnm) presentan una mayor prevalencia 57.9 %, mientras

que en el rango de (1,501 – 3,000 msnm), 23.5 % y por últimos a mayores alturas (3,001 – 4,700 msnm) la cifra de prevalencia es de 1.5 %, con esto indica que hay una mayor seroprevalencia a una menor altitud. Este estudio refuerza esos resultados, ya que la seroprevalencia es significativamente más alta en altitudes más bajas (100% entre 1346 y 1450 m.s.n.m.) en comparación con altitudes superiores (76.7% entre 1451 y 2110 m.s.n.m.).

Tabla 8. Relación entre la humedad y la seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca de San Miguel del distrito de Vilcabamba.

Humedad (%)	Diagnóstico		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
50 – 56	53 (88.3)	7 (11.7)	60 (100.0)
57 – 63	25 (100.0)	0 (0.0)	25 (100.0)
64 – 69	3 (100.0)	0 (0.0)	3 (100.0)

La Tabla 8 revelan diferentes tasas de seroprevalencia en función de los rangos de humedad, en el rango de 50 a 56% de humedad, se registró una seroprevalencia del 88.3%, con 53 bovinos positivos y 7 negativos. Esto indica una alta exposición al virus en este rango de humedad, lo que podría implicar que las condiciones ambientales son adecuadas para la actividad de los vectores, favoreciendo la transmisión del VLA. En el rango de 57 a 63% de humedad, la seroprevalencia aumentó al 100%, lo que significa que todos los bovinos muestrados presentaron anticuerpos contra el VLA. Este hallazgo resalta que a medida que la humedad aumenta dentro de este rango, la exposición al virus es prácticamente universal en la población evaluada. De manera similar, en el

rango de 64 a 69% de humedad, se mantuvo una seroprevalencia del 100%, aunque con un número muy reducido de muestras (3 bovinos). Este resultado indica una consistencia en la exposición al VLA en condiciones de mayor humedad.

Estos resultados sugieren que una mayor humedad podría estar favoreciendo la circulación del virus en la zona, posiblemente debido a su impacto en la densidad de vectores, principalmente *Culicoides spp.*, los cuales son responsables de la transmisión del virus de la Lengua Azul. Estudios previos han indicado que la humedad relativa superior al 50% propicia la proliferación de *Culicoides spp.*, aumentando así la exposición de los bovinos al virus (Fernández et al., 2021).

Por otra parte, los resultados de la prueba de Chi-cuadrado no muestran una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Anexo 19).

Los resultados se alinean con estudios previos que destacan la influencia de factores climáticos en la transmisión del virus. (Incil, 2023) indicó que la fuerza de correlación fue moderada entre la humedad y la seroprevalencia de VLA, sus hallazgos fueron en un rango de (30 – 55%) seroprevalencia de 3%, (56 – 75%) seroprevalencia de 13.3% y en el rango de 76 – 95% una seroprevalencia relativamente más alta 40.4%. Así mismo; estos resultados son consistentes con el estudio realizado por (Qin et al. 2020), quienes encontraron que factores climáticos, incluida la humedad, influyen en la seroprevalencia del VLA. En su estudio en la provincia de Guangxi, China, reportaron una seroprevalencia del 44.5% en bovinos y señalaron la importancia de las condiciones ambientales en la distribución del virus. Esto coincide con los resultados del presente

estudio, donde se observó una seroprevalencia del 100% en los rangos de humedad superiores, sugiriendo que estos niveles favorecen la transmisión del virus.

Tabla 9. Relación entre el sistema de pastoreo y la seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito de Vilcabamba.

Sistema de pastoreo	Diagnóstico		Total n (%)
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	
Mixto	48 (87.3)	7 (12.7)	55 (100.0)
Extensivo	33 (100.0)	0 (0.0)	33 (100.0)

La tabla 9 muestra la relación entre el sistema de pastoreo y la seroprevalencia de anticuerpos del virus Lengua Azul (VLA). En el sistema de pastoreo mixto, se observó una seroprevalencia del 87.3%, con 48 bovinos positivos y 7 negativos. Aunque esta cifra es elevada, indica que existe una proporción notable de animales no expuestos al virus en este sistema. Esto podría reflejar variaciones en la gestión del pastoreo o en la exposición a vectores en comparación con el sistema extensivo. En contraste, en el sistema de pastoreo extensivo, la seroprevalencia fue del 100%, con todos los 33 bovinos evaluados mostrando anticuerpos contra el VLA. Este resultado sugiere que, en el contexto del pastoreo extensivo, todos los animales han estado expuestos al virus, lo que puede estar asociado a un mayor contacto con vectores infectados en áreas donde el pastoreo se realiza en mayor libertad.

Además, es importante destacar que los resultados de la prueba de Chi-cuadrado indicaron una asociación significativa entre el sistema de pastoreo y la seroprevalencia (Anexo 20).

Estos resultados son consistentes con el estudio realizado por (Maan et al. 2017), quienes encontraron que la seroprevalencia del VLA varía con los sistemas de manejo del ganado. En su estudio en el estado de Haryana, India, reportaron una seroprevalencia general del 75.49% en bovinos, observando que diferentes prácticas de manejo y condiciones ambientales influían en la prevalencia del virus. La variabilidad en la seroprevalencia observada en nuestro estudio podría estar relacionada con las diferencias en las prácticas de manejo y las condiciones ambientales específicas para cada sistema de pastoreo.

IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1. Conclusiones

- Se determinó que la seroprevalencia del virus Lengua Azul en vacunos de la cuenca San Miguel del distrito Vilcabamba es muy elevada seroprevalencia del virus que representa el 92%.
- Además, se identificaron factores de riesgo asociados al VLA son la raza, sector de ubicación, la altitud y el sistema de pastoreo, los cuales influyen en la seroprevalencia del virus Lengua Azul en esta población evaluada.

9.2. Recomendaciones

- A los productores de la cuenca San Miguel, distrito de Vilcabamba, se recomienda implementar medidas de vigilancia y control del virus de la lengua azul. Estas acciones incluyen la instalación de trampas con insecticidas en los establos para reducir la población de vectores. Asimismo, se sugiere adquirir animales que cuenten con certificados sanitarios que acrediten estar libres de la enfermedad, a fin de prevenir la introducción del virus en los hatos locales.
- A los investigadores especializados en esta línea temática, se recomienda desarrollar estudios moleculares en la cuenca del distrito San Miguel de Vilcabamba, con el propósito de caracterizar genéticamente las cepas virales circulantes y comprender su dinámica epidemiológica.
- Se sugiere evaluar la presencia del virus de la lengua azul en otros rumiantes susceptibles, como los ovinos, para ampliar el conocimiento epidemiológico y determinar el riesgo inter-especies dentro de la zona de estudio.

- Se recomienda realizar investigaciones en sectores ubicados por encima de los 2 110 m. s. n. m. dentro de la misma jurisdicción, con el fin de evaluar posibles variaciones en la distribución del vector asociadas al cambio climático.
- Finalmente, se recomienda desarrollar nuevas investigaciones sobre factores ecológicos y climáticos a lo largo de las diferentes estaciones del año, que puedan influir en la dinámica poblacional y distribución espacial de los vectores del virus.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anthony, S., Jones, H., Darpel, K. E., Elliott, H., Maan, S., Samuel, A., Mellor, P. S., & Mertens, P. P. C. (2007). A duplex RT-PCR assay for detection of genome segment 7 (VP7 gene) from 24 BTV serotypes. *Journal of Virological Methods*, 141(2), 188-197. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.12.013>
- Avia, M., Rojas, J. M., Miorin, L., Pascual, E., Van Rijn, P. A., Martín, V., García-Sastre, A., & Sevilla, N. (2019). Virus-induced autophagic degradation of STAT2 as a mechanism for interferon signaling blockade. *EMBO Reports*, 20(11), e48766. <https://doi.org/10.15252/embr.201948766>
- Barratt-Boyes, S. M., & MacLachlan, N. J. (1994). Dynamics of viral spread in bluetongue virus infected calves. *Veterinary Microbiology*, 40(3-4), 361-371. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)90123-6](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)90123-6)
- Barratt-Boyes, S. M., & MacLachlan, N. J. (1995). Pathogenesis of bluetongue virus infection of cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 206(9), 1322-1329.
- Bonneau, K. R., DeMaula, C. D., Mullens, B. A., & MacLachlan, N. J. (2002). Duration of viraemia infectious to Culicoides sonorensis in bluetongue virus-infected cattle and sheep. *Veterinary Microbiology*, 88(2), 115-125. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(02\)00106-2](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(02)00106-2)
- Boyce, M., Celma, C. C. P., & Roy, P. (2012). Bluetongue virus non-structural protein 1 is a positive regulator of viral protein synthesis. *Virology Journal*, 9, 178. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-178>
- Breard, E., Belbis, G., Viarouge, C., Nomikou, K., Haegeman, A., De Clercq, K., Hudelet, P., Hamers, C., Moreau, F., Lilin, T., Durand, B., Mertens, P., Vitour, D., Sailleau, C., & Zientara, S. (2015). Evaluation of adaptive immune responses and heterologous protection induced by inactivated bluetongue virus vaccines. *Vaccine*, 33(4), 512-518. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.11.053>

- Brewer, A. W., & MacLachlan, N. J. (1994). The pathogenesis of bluetongue virus infection of bovine blood cells in vitro: Ultrastructural characterization. *Archives of Virology*, 136(3-4), 287-298. <https://doi.org/10.1007/BF01321058>
- Calvo-Pinilla, E., Navasa, N., Anguita, J., & Ortego, J. (2012). Multiserotype protection elicited by a combinatorial prime-boost vaccination strategy against bluetongue virus. *PLoS One*, 7(4), e34735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034735>
- Celma, C. C. P., & Roy, P. (2009). A viral nonstructural protein regulates bluetongue virus trafficking and release. *Journal of Virology*, 83(13), 6806-6816. <https://doi.org/10.1128/JVI.00263-09>
- Chauveau, E., Doceul, V., Lara, E., Breard, E., Sailleau, C., Vidalain, P.-O., Meurs, E. F., Dabo, S., Schwartz-Cornil, I., Zientara, S., & Vitour, D. (2013). NS3 of bluetongue virus interferes with the induction of type I interferon. *Journal of Virology*, 87(14), 8241-8246. <https://doi.org/10.1128/JVI.00678-13>
- Coetzee, P., Stokstad, M., Venter, E. H., Myrmel, M., & Van Vuuren, M. (2012). Bluetongue: A historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virology Journal*, 9, 198. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-198>
- da Silva, T. G., Lima, M. S., Spedicato, M., Carmine, I., Teodori, L., Leone, A., Martins, M. S. N., Buchala, F. G., Hellwig, K. S., de Campos Nogueira Romaldini, A. H., De Stefano, E., Savini, G., & Pituco, E. M. (2018). Prevalence and risk factors for bluetongue in the State of São Paulo, Brazil. *Veterinary Medicine and Science*, 4(4), 280-287. <https://doi.org/10.1002/vms3.113>
- Darpel, K. E., Batten, C. A., Veronesi, E., Shaw, A. E., Anthony, S., Bachanek-Bankowska, K., Kgosana, L., bin-Tarif, A., Carpenter, S., Müller-Doblies, U. U., Takamatsu, H.-H., Mellor, P. S., Mertens, P. P. C., & Oura, C. a. L. (2007). Clinical signs and pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006

- outbreak in northern Europe. *The Veterinary Record*, 161(8), 253-261.
<https://doi.org/10.1136/vr.161.8.253>
- De la Torre, E., Moreira, N., Saegerman, C., De Clercq, K., Salinas, M., Maldonado, A., Jarrín, D., Sol Vaca, M., Pachacama, S., Espinoza, J., Delgado, H., & Barrera, M. (2021). Bluetongue Virus Infections in Cattle Herds of Manabí Province of Ecuador. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(11), 1445. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111445>
- DeMaula, C. D., Jutila, M. A., Wilson, D. W., & MacLachlan, N. J. (2001). Infection kinetics, prostacyclin release and cytokine-mediated modulation of the mechanism of cell death during bluetongue virus infection of cultured ovine and bovine pulmonary artery and lung microvascular endothelial cells. *The Journal of General Virology*, 82(Pt 4), 787-794.
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-4-787>
- Di Ventura, M., Tittarelli, M., Semproni, G., Bonfini, B., Savini, G., Conte, A., & Lika, A. (2004). Serological surveillance of bluetongue virus in cattle, sheep and goats in Albania. *Veterinaria Italiana*, 40(3), 101-104.
- Elbers, A. R. W., Backx, A., Meroc, E., Gerbier, G., Staubach, C., Hendrickx, G., van der Spek, A., & Mintiens, K. (2008). Field observations during the bluetongue serotype 8 epidemic in 2006. I. Detection of first outbreaks and clinical signs in sheep and cattle in Belgium, France and the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*, 87(1-2), 21-30.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.06.004>
- Ellis, J. A., Coen, M. L., MacLachlan, N. J., Wilson, W. C., Williams, E. S., & Leudke, A. J. (1993). Prevalence of bluetongue virus expression in leukocytes from experimentally infected ruminants. *American Journal of Veterinary Research*, 54(9), 1452-1456.
- Erasmus, B. J. (1975). Bluetongue in sheep and goats. *Australian Veterinary Journal*, 51(4), 165-170. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1975.tb00048.x>

Escandon Escandon, A. M. (2011). *LENGUA AZUL EN BOVINOS* [Tesis]. UNIVERSIDAD DE CUENCA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA.

Feeenstra, F., & van Rijn, P. A. (2017). Current and next-generation bluetongue vaccines: Requirements, strategies, and prospects for different field situations. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(2), 142-155. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2016.1186005>

Gaire, T. N., Karki, S., Dhakal, I. P., Khanal, D. R., Joshi, N. P., Sharma, B., & Bowen, R. A. (2014). Cross-sectional serosurvey and associated factors of bluetongue virus antibodies presence in small ruminants of Nepal. *BMC Research Notes*, 7, 691. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-691>

Gibbs, E. P., & Greiner, E. C. (1994). The epidemiology of bluetongue. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 17(3-4), 207-220. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(94\)90044-2](https://doi.org/10.1016/0147-9571(94)90044-2)

Gómez-Tejedor, C. (2004). Brief overview of the bluetongue situation in Mediterranean Europe, 1998-2004. *Veterinaria Italiana*, 40(3), 57-60.

Goto, Y., Yamaguchi, O., & Kubo, M. (2004). Epidemiological observations on bluetongue in sheep and cattle in Japan. *Veterinaria Italiana*, 40(3), 78-82.

Gould, A. R., & Pritchard, L. I. (1990). Relationships amongst bluetongue viruses revealed by comparisons of capsid and outer coat protein nucleotide sequences. *Virus Research*, 17(1), 31-52. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(90\)90078-p](https://doi.org/10.1016/0168-1702(90)90078-p)

Graham, D. A., Gallagher, C., Carden, R. F., Lozano, J.-M., Moriarty, J., & O'Neill, R. (2017). A survey of free-ranging deer in Ireland for serological evidence of exposure to bovine viral diarrhoea virus, bovine herpes virus-1, bluetongue virus and Schmallenberg virus. *Irish Veterinary Journal*, 70, 13. <https://doi.org/10.1186/s13620-017-0091-z>

- Green, A. L., Dargatz, D. A., Schmidtmann, E. T., Herrero, M. V., Seitzinger, A. H., Ostlund, E. N., Wagner, B. A., Moser, K. M., Wineland, N. E., & Walton, T. E. (2005). Risk factors associated with herd-level exposure of cattle in Nebraska, North Dakota, and South Dakota to bluetongue virus. *American Journal of Veterinary Research*, 66(5), 853-860. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.853>
- Hellmeister de Campos Nogueira, A., De Stefano, E., de Souza Nunes Martins, M., Okuda, L. H., Dos Santos Lima, M., da Silva Garcia, T., Heinz Hellwig, O., Alves de Lima, J. E., Savini, G., & Pituco, E. M. (2016). Prevalence of Bluetongue virus serotype 4 in cattle in the State of São Paulo, Brazil. *Veterinaria Italiana*, 52(3-4), 319-323. <https://doi.org/10.12834/VetIt.570.2721.1>
- Hijazeen, Z. S., Ismail, Z. B., & M Al-Majali, A. (2020). Prevalence and risk factors of some arthropod-transmitted diseases in cattle and sheep in Jordan. *Veterinary World*, 13(1), 201-205. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.201-205>
- Homan, E. J., Taylor, W. P., de Ruiz, H. L., & Yuill, T. M. (1985). Bluetongue virus and epizootic haemorrhagic disease of deer virus serotypes in northern Colombian cattle. *The Journal of Hygiene*, 95(1), 165-172. <https://doi.org/10.1017/s0022172400062409>
- Hwang, J.-M., Kim, J. G., & Yeh, J.-Y. (2019). Serological evidence of bluetongue virus infection and serotype distribution in dairy cattle in South Korea. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 255. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2000-z>
- Inci Ortiz, E. B. (2023). *Seroprevalencia y factores de riesgo de infección por el virus de Lengua Azul en bovinos del Perú* [Tesis, UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA]. <http://hdl.handle.net/20.500.14074/5936>
- INEI. (2012). *Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO) 2012—[Instituto Nacional de Estadística e Informática—INEI] | Plataforma Nacional de Datos Abiertos.* <https://www.datosabiertos.gob.pe/dataset/censo-nacional-agropecuario-cenagro-2012>

- instituto-nacional-de-estad%C3%ADstica-e-inform%C3%A1tica.
<https://www.datosabiertos.gob.pe/dataset/censo-nacional-agropecuario-cenagro-2012-instituto-nacional-de-estad%C3%ADstica-e-inform%C3%A1tica>
- INIFA, I. N. de I. F., Agrícolas y. (2013, abril 30). *Ganado criollo mexicano, una raza noble y resistente*. gob.mx. <http://www.gob.mx/inifap/prensa/ganado-criollo-mexicano-una-raza-noble-y-resistente>
- Jeggo, M. H., Wardley, R. C., Brownlie, J., & Corteyn, A. H. (1986). Serial inoculation of sheep with two bluetongue virus types. *Research in Veterinary Science*, 40(3), 386-392.
- Kar, A. K., Bhattacharya, B., & Roy, P. (2007). Bluetongue virus RNA binding protein NS2 is a modulator of viral replication and assembly. *BMC Molecular Biology*, 8, 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-8-4>
- Katz, J., Alstad, D., Gustafson, G., & Evermann, J. (1994). Diagnostic analysis of the prolonged bluetongue virus RNA presence found in the blood of naturally infected cattle and experimentally infected sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 6(2), 139-142. <https://doi.org/10.1177/104063879400600201>
- Kirkland, P. D., Melville, L. F., Hunt, N. T., Williams, C. F., & Davis, R. J. (2004). Excretion of bluetongue virus in cattle semen: A feature of laboratory-adapted virus. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 497-501.
- Labadie, T., Jegouic, S., & Roy, P. (2019). Bluetongue Virus Nonstructural Protein 3 Orchestrates Virus Maturation and Drives Non-Lytic Egress via Two Polybasic Motifs. *Viruses*, 11(12), 1107. <https://doi.org/10.3390/v11121107>
- Ledic, I. (2011). Cronología dentaria de los bovinos. *Sitio Argentino de Producción Animal*, Pag. 4.

- Legisa, D., Gonzalez, F., De Stefano, G., Pereda, A., & Santos, M. J. D. (2013). Phylogenetic analysis of bluetongue virus serotype 4 field isolates from Argentina. *The Journal of General Virology*, 94(Pt 3), 652-662. <https://doi.org/10.1099/vir.0.046896-0>
- Lucientes, J. (2019). *Cambio Climático y Lengua Azul / Javier Lucientes*. Red de intercambio de conocimiento agroalimentario. <https://rica.chil.me/post/cambio-climatico-y-lengua-azul-javier-lucentes-271646>
- Ma, J., Gao, X., Liu, B., Xiao, J., Chen, H., & Wang, H. (2019). Spatial Patterns and Risk Factors of Bluetongue Virus Infection in Inner Mongolia, China. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 19(7), 525-532. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2361>
- Maan, S., Maan, N. S., Belaganahalli, M. N., Potgieter, A. C., Kumar, V., Batra, K., Wright, I. M., Kirkland, P. D., & Mertens, P. P. C. (2016). Development and Evaluation of Real Time RT-PCR Assays for Detection and Typing of Bluetongue Virus. *PLoS One*, 11(9), e0163014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163014>
- Maan, S., Maan, N. S., Samuel, A. R., Rao, S., Attoui, H., & Mertens, P. P. C. (2007). Analysis and phylogenetic comparisons of full-length VP2 genes of the 24 bluetongue virus serotypes. *The Journal of General Virology*, 88(Pt 2), 621-630. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82456-0>
- Maan, S., Tiwari, A., Chaudhary, D., Dalal, A., Bansal, N., Kumar, V., Batra, K., Kumar, A., Kakker, N. K., & Maan, N. S. (2017). A comprehensive study on seroprevalence of bluetongue virus in Haryana state of India. *Veterinary World*, 10(12), 1464-1470. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1464-1470>
- MacLachlan, N. J. (1994). *The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants—PubMed*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8001345/>

- MacLachlan, N. J. (2011). Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. *Preventive Veterinary Medicine*, 102(2), 107-111. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.005>
- MacLachlan, N. J., Drew, C. P., Darpel, K. E., & Worwa, G. (2009). The pathology and pathogenesis of bluetongue. *Journal of Comparative Pathology*, 141(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.04.003>
- MacLachlan, N. J., & Guthrie, A. J. (2010). Re-emergence of bluetongue, African horse sickness, and other orbivirus diseases. *Veterinary Research*, 41(6), 35. <https://doi.org/10.1051/vetres/2010007>
- MacLachlan, N. J., Jagels, G., Rossitto, P. V., Moore, P. F., & Heidner, H. W. (1990). The pathogenesis of experimental bluetongue virus infection of calves. *Veterinary Pathology*, 27(4), 223-229. <https://doi.org/10.1177/030098589002700402>
- MacLachlan, N. J., & Mayo, C. E. (2013). Potential strategies for control of bluetongue, a globally emerging, Culicoides-transmitted viral disease of ruminant livestock and wildlife. *Antiviral Research*, 99(2), 79-90. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.04.021>
- MacLachlan, N. J., & Osburn, B. I. (2008). Induced brain lesions in calves infected with bluetongue virus. *The Veterinary Record*, 162(15), 490-491. <https://doi.org/10.1136/vr.162.15.490-b>
- Mahrt, C. R., & Osburn, B. I. (1986). Experimental bluetongue virus infection of sheep; effect of vaccination: Pathologic, immunofluorescent, and ultrastructural studies. *American Journal of Veterinary Research*, 47(6), 1198-1203.
- Mayo, C. E., Gardner, I. A., Mullens, B. A., Barker, C. M., Gerry, A. C., Guthrie, A. J., & MacLachlan, N. J. (2012). Anthropogenic and meteorological factors influence vector abundance and prevalence of bluetongue virus infection of dairy cattle in California. *Veterinary Microbiology*, 155(2-4), 158-164. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.08.029>

- Medlock, J. M., & Leach, S. A. (2015). Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *The Lancet. Infectious Diseases*, 15(6), 721-730. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70091-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70091-5)
- Melville, L. F., Hunt, N. T., Davis, S. S., & Weir, R. P. (2004). Bluetongue virus does not persist in naturally infected cattle. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 502-507.
- Mertens, P. P., Pedley, S., Cowley, J., Burroughs, J. N., Corteyn, A. H., Jeggo, M. H., Jennings, D. M., & Gorman, B. M. (1989). Analysis of the roles of bluetongue virus outer capsid proteins VP2 and VP5 in determination of virus serotype. *Virology*, 170(2), 561-565. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(89\)90447-9](https://doi.org/10.1016/0042-6822(89)90447-9)
- Mogajane, M. E. (2004). Trade implications of bluetongue in Africa. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 691-692.
- Mullens, A., Gerry, A., MacLachan, N., & Mecham, J. (2001). *Seasonal Transmission of Bluetongue Virus by Culicoides sonorensis (Diptera: Ceratopogonidae) at a Southern California Dairy and Evaluation of Vectorial Capacity as a Predictor of Bluetongue Virus Transmission* | *Journal of Medical Entomology* | Oxford Academic. <https://academic.oup.com/jme/article/38/2/197/876862>
- Navarro M, D., Rivera G, H., Cáceres L, A., & Rondón E, J. (2018). Identificación morfológica de Culicoides spp descritos como transmisores de Orbivirus capturados en granjas de ovinos en Pucallpa, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(1), 302-309. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14203>
- Navarro M, D., Rojas M, M., Jurado P, J., Manchego, A., Ramirez V, M., Castillo E, A., & Rivera G, H. (2019). *Detección molecular del virus de Lengua Azul en Culicoides insignis y en ovinos del Pucallpa, Perú*.
- Navarro Mamani Dennis Alexander. (2017). *Identificación de Culicoides spp. Como vectores del virus Lengua Azul en áreas de ovinos seropositivos de Pucallpa, Ucayali* [Tesis, UNMSM].

https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/7253/Navarro_md.pdf?sequence=3&isAllowed=y

- Noaman, V., Shirvani, E., Hosseini, S. M., Shahmoradied, A. H., Heidari, M. R., Raiszadeh, H., Kamalzadeh, M., & Bahreyari, M. (2013). Serological surveillance of bluetongue virus in cattle in central Iran. *Veterinaria Italiana*, 49(2), 141-144.
- OMSA. (2019). *Bluetongue*. <https://www.oie.int/en/disease/bluetongue/>
- Osburn, B. I. (1994). Bluetongue virus. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 10(3), 547-560. [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(15\)30538-7](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(15)30538-7)
- Parsonson, I. M. (1990). Pathology and pathogenesis of bluetongue infections. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 162, 119-141. https://doi.org/10.1007/978-3-642-75247-6_5
- Patel, A., & Roy, P. (2014). The molecular biology of Bluetongue virus replication. *Virus Research*, 182, 5-20. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.017>
- Pini, A. (1976). Study on the pathogenesis of bluetongue: Replication of the virus in the organs of infected sheep. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 43(4), 159-164.
- Pourcelot, M., Amaral Moraes, R., Fablet, A., Bréard, E., Sailleau, C., Viarouge, C., Postic, L., Zientara, S., Caignard, G., & Vitour, D. (2021). The VP3 Protein of Bluetongue Virus Associates with the MAVS Complex and Interferes with the RIG-I-Signaling Pathway. *Viruses*, 13(2), 230. <https://doi.org/10.3390/v13020230>
- Puntel, M., Fondevila, N. A., Blanco Viera, J., O'Donnell, V. K., Marcovecchio, J. F., Carrillo, B. J., & Schudel, A. A. (1999). Serological survey of viral antibodies in llamas (*Lama glama*) in Argentina. *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B*, 46(3), 157-161. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.1999.00215.x>
- Purse, B. V., Brown, H. E., Harrup, L., Mertens, P. P. C., & Rogers, D. J. (2008a). Invasion of bluetongue and other orbivirus infections into Europe: The role of biological and climatic

processes. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*, 27(2), 427-442.

Purse, B. V., Brown, H. E., Harrup, L., Mertens, P. P. C., & Rogers, D. J. (2008b). Invasion of bluetongue and other orbivirus infections into Europe: The role of biological and climatic processes. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*, 27(2), 427-442.

Qin, S., Lin, J., Li, L., Zhang, Y., Xiao, L., Cao, Y., Ren, P., Li, H., & Wu, J. (2020). Seroprevalence and Potential Risk Factors of Bluetongue Virus Infection in Domestic Cattle and Goats in Guangxi Province, Southern China. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 20(7), 551-556. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2543>

Ratinier, M., Shaw, A. E., Barry, G., Gu, Q., Di Gialleonardo, L., Janowicz, A., Varela, M., Randall, R. E., Caporale, M., & Palmarini, M. (2016). Bluetongue Virus NS4 Protein Is an Interferon Antagonist and a Determinant of Virus Virulence. *Journal of Virology*, 90(11), 5427-5439. <https://doi.org/10.1128/JVI.00422-16>

Rivera G, H., Cárdenas P, L., Ramírez V, M., Manchego S, A., More B, J., Zúñiga H, A., & Romero S, M. (2013). Infección por orbivirus en huanganas (Tayassu pecari) de Madre de Dios. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(4), 544-550.

Rodríguez-Sánchez, B., Iglesias-Martín, I., Martínez-Avilés, M., & Sánchez-Vizcaíno, J. M. (2008). Orbiviruses in the Mediterranean basin: Updated epidemiological situation of Bluetongue and new methods for the detection of BTV serotype 4. *Transboundary and Emerging Diseases*, 55(5-6), 205-214. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01029.x>

Rojas, J. M., Avia, M., Martín, V., & Sevilla, N. (2021). Inhibition of the IFN Response by Bluetongue Virus: The Story So Far. *Frontiers in Microbiology*, 12, 692069. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.692069>

- Rojas, J. M., Rodríguez-Martín, D., Martín, V., & Sevilla, N. (2019). Diagnosing bluetongue virus in domestic ruminants: Current perspectives. *Veterinary Medicine (Auckland, N.Z.)*, 10, 17-27. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S163804>
- Rosadio, R. H., Evermann, J. F., & DeMartini, J. C. (1984). A preliminary serological survey of viral antibodies in Peruvian sheep. *Veterinary Microbiology*, 10(1), 91-96. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(84\)90059-2](https://doi.org/10.1016/0378-1135(84)90059-2)
- Roy, P. (2017a). Bluetongue virus structure and assembly. *Current Opinion in Virology*, 24, 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.05.003>
- Roy, P. (2017b). Bluetongue virus structure and assembly. *Current Opinion in Virology*, 24, 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.05.003>
- Saegeerman, C., Berkvens, D., & Mellor, P. S. (2008). Bluetongue epidemiology in the European Union. *Emerging Infectious Diseases*, 14(4), 539-544. <https://doi.org/10.3201/eid1404.071441>
- Samy, A. M., & Peterson, A. T. (2016). Climate Change Influences on the Global Potential Distribution of Bluetongue Virus. *PloS One*, 11(3), e0150489. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150489>
- Santman-Berends, I. M. G. A., Bartels, C. J. M., van Schaik, G., Stegeman, J. A., & Vellema, P. (2010). The increase in seroprevalence of bluetongue virus (BTV) serotype 8 infections and associated risk factors in Dutch dairy herds, in 2007. *Veterinary Microbiology*, 142(3-4), 268-275. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.10.026>
- Schwartz-Cornil, I., Mertens, P. P. C., Contreras, V., Hemati, B., Pascale, F., Bréard, E., Mellor, P. S., MacLachlan, N. J., & Zientara, S. (2008). Bluetongue virus: Virology, pathogenesis and immunity. *Veterinary Research*, 39(5), 46. <https://doi.org/10.1051/vetres:2008023>

- Segura Correa, J. (2000). *Metodos de muestreo para la produccion y salud animal.* https://www.researchgate.net/publication/273945817_METODOS_DE_MUESTREO_PA_RA_LA_PRODUCCION_Y_LA_SALUD_ANIMAL
- Shaw, A. E., Ratinier, M., Nunes, S. F., Nomikou, K., Caporale, M., Golder, M., Allan, K., Hamers, C., Hudelet, P., Zientara, S., Beard, E., Mertens, P., & Palmarini, M. (2013). Reassortment between two serologically unrelated bluetongue virus strains is flexible and can involve any genome segment. *Journal of Virology*, 87(1), 543-557. <https://doi.org/10.1128/JVI.02266-12>
- Singer, R. S., MacLachlan, N. J., & Carpenter, T. E. (2001). Maximal predicted duration of viremia in bluetongue virus-infected cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticicians, Inc*, 13(1), 43-49. <https://doi.org/10.1177/104063870101300109>
- Spinelli, G. R., Santamaría, E., Cabrera, O. L., Ronderos, M. M., & Suárez, M. F. (2009). Five new species of Culicoides Latreille described from Colombia, yielding a new species list and country records (Diptera: Ceratopogonidae). *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(1), 81-92. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762009000100013>
- Stewart, M., Hardy, A., Barry, G., Pinto, R. M., Caporale, M., Melzi, E., Hughes, J., Taggart, A., Janowicz, A., Varela, M., Ratinier, M., & Palmarini, M. (2015). Characterization of a second open reading frame in genome segment 10 of bluetongue virus. *The Journal of General Virology*, 96(11), 3280-3293. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000267>
- Stott, J. L., & Osburn, B. I. (1990). Immune response to bluetongue virus infection. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 162, 163-178. https://doi.org/10.1007/978-3-642-75247-6_7

- Susmitha, B., Sudheer, D., Rao, P. P., Uma, M., Prasad, G., Minakshi, P., Hegde, N. R., & Reddy, Y. N. (2012). Evidence of bluetongue virus serotype 21 (BTV-21) divergence. *Virus Genes*, 44(3), 466-469. <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0724-y>
- Tabachnick, W. J. (2004). Culicoides and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Veterinaria Italiana*, 40(3), 144-150.
- Thiry, E., Saegerman, C., Guyot, H., Kirten, P., Losson, B., Rollin, F., Bodmer, M., Czaplicki, G., Toussaint, J.-F., De Clercq, K., Dochy, J.-M., Dufey, J., Gillemans, J.-L., & Messeman, K. (2006). Bluetongue in northern Europe. *The Veterinary Record*, 159(10), 327. <https://doi.org/10.1136/vr.159.10.327>
- Thrusfield, M., Christley, R., Brown, H., Diggle, P. J., French, N., Howe, K., Kelly, L., O'Connor, A., Sargeant, J., & Wood, H. (2018). *Veterinary Epidemiology*. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118280249>
- Trinidad, S. E. L., Bravo, C. B., Narvasta, S. F., Fuertes, E. H., Trigoso, G. A., Sáenz, F. C., & Quispe-Ccasa, H. A. (2024). Seroprevalence of reproductive and infectious diseases in cattle: The case of Madre de Dios in the Peruvian southeastern tropics. *American Journal of Veterinary Research*, 85(4), ajvr.23.08.0177. <https://doi.org/10.2460/ajvr.23.08.0177>
- UGRJ, union ganadera regional de J. (2024). *Unión Ganadera Regional de Jalisco—Cruzamiento entre razas en la producción de carne de bovino*. https://www.ugrj.org.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=561&Itemid=140
- Vandenbussche, F., Vanbinst, T., Verheyden, B., Van Dessel, W., Demeestere, L., Houdart, P., Bertels, G., Praet, N., Berkvens, D., Mintiens, K., Goris, N., & De Clercq, K. (2008). Evaluation of antibody-ELISA and real-time RT-PCR for the diagnosis and profiling of bluetongue virus serotype 8 during the epidemic in Belgium in 2006. *Veterinary Microbiology*, 129(1-2), 15-27. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.10.029>

- Verdezoto, J., Breard, E., Viarouge, C., Quenault, H., Lucas, P., Sailleau, C., Zientara, S., Augot, D., & Zapata, S. (2018). Novel serotype of bluetongue virus in South America and first report of epizootic haemorrhagic disease virus in Ecuador. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1), 244-247. <https://doi.org/10.1111/tbed.12625>
- Wilson, A., Darpel, K., & Mellor, P. S. (2008). Where Does Bluetongue Virus Sleep in the Winter? *PLoS Biology*, 6(8), e210. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060210>
- Wilson, A. J., & Mellor, P. S. (2009). Bluetongue in Europe: Past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 364(1530), 2669-2681. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0091>
- Wirblich, C., Bhattacharya, B., & Roy, P. (2006). Nonstructural protein 3 of bluetongue virus assists virus release by recruiting ESCRT-I protein Tsg101. *Journal of Virology*, 80(1), 460-473. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.1.460-473.2006>
- Yeh, J.-Y., Kim, J. G., Choi, J., Kim, J. K., & Kim, K. W. (2018). Bluetongue Virus Antibodies in Domestic Goats: A Countrywide and Retrospective Study in the Republic of Korea. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 18(6), 323-330. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2181>
- Zanolari, P., Chaignat, V., Kaufmann, C., Mudry, M., Griot, C., Thuer, B., & Meylan, M. (2010). Serological survey of bluetongue virus serotype-8 infection in South American camelids in Switzerland (2007-2008). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(2), 426-430. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0464.x>
- Zientara, S., & Sánchez-Vizcaíno, J. M. (2013). Control of bluetongue in Europe. *Veterinary Microbiology*, 165(1-2), 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.010>

10. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de encuesta al productor.

<p>UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA</p> <p>ESTUDIO: <u>SEROPREVALENCIA DEL VIRUS LENGUA AZUL Y SUS FACTORES DE RIESGO EN VACUNOS DEL DISTRITO DE VILCABAMBA, PROVINCIA DE LA CONVENCION – CUSCO</u></p> <p>FECHA DE ENCUESTA: .../.../2024</p> <p>I. DATOS DEL PRODUCTOR</p> <p>NOMBRES Y APELLIDOS:</p> <p>DNI:</p> <p>EDAD:</p> <p>COMUNIDAD DONDE RESIDE:</p> <p>Nº DE CELULAR:</p> <p>II. INFORMACION</p> <ul style="list-style-type: none"> - ACTIVIDAD QUE REALIZA: GANADERIA (..) AGRICULTURA (..) SU CASA (..) OTRO (..) ESPECIFIQUE: - CANTIDAD DE VACUNOS EN EL HATO: - MOTIVO DE CRIANZA: LECHE (..) CARNE (..) AMBOS (..) - SISTEMA DE CRIANZA: INTENSIVO (..) EXTENSIVO (..) MIXTO (..) - TIENE CONOCIMIENTO DE LA LENGUA AZUL EN VACUNOS: SI (..) NO (..) ALGO (..) ESPECIFIQUE: - CONOCE MOSQUITOS HEMATOFAGOS: SI (..) NO (..) - REALIZA LA DESINFECCION DE LOS CORRALES DONDE DUERME SU GANADO: <ul style="list-style-type: none"> • DIARIO (..) • SEMANAL (..) • UNA VEZ AL AÑO (..) • 2 VECES AL AÑO (..) • 3 VECES AL AÑO (..) • NUNCA (..) <p>NOTA: el presente cuestionario es netamente con fines de obtener información para la presente investigación, y será tratada de forma CONFIDENCIAL.</p> <p style="text-align: right; margin-top: 50px;">..... FIRMA DEL ENTREVISTADO</p>
--

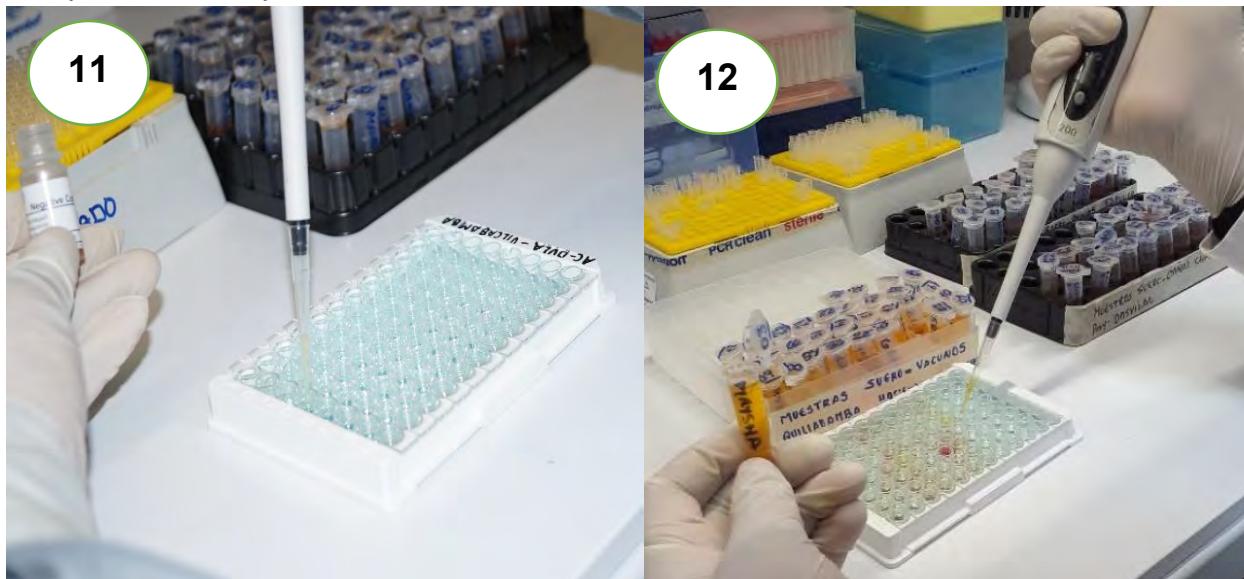
Anexo 2. Ficha para la colección de mu

estras.

Anexo 3. Colección de muestras sanguíneas, por punción de vena caudal.**Anexo 4.** Centrifugación (imagen 5), colocación del suero sanguíneo en viales y rotulado (imagen 6).

Anexo 5. Preparación de la solución de lavado (imágenes 7 y 8).**Anexo 6.** Descongelamiento (imagen 9) y homogenización en vortex (imagen 10) de las muestras.

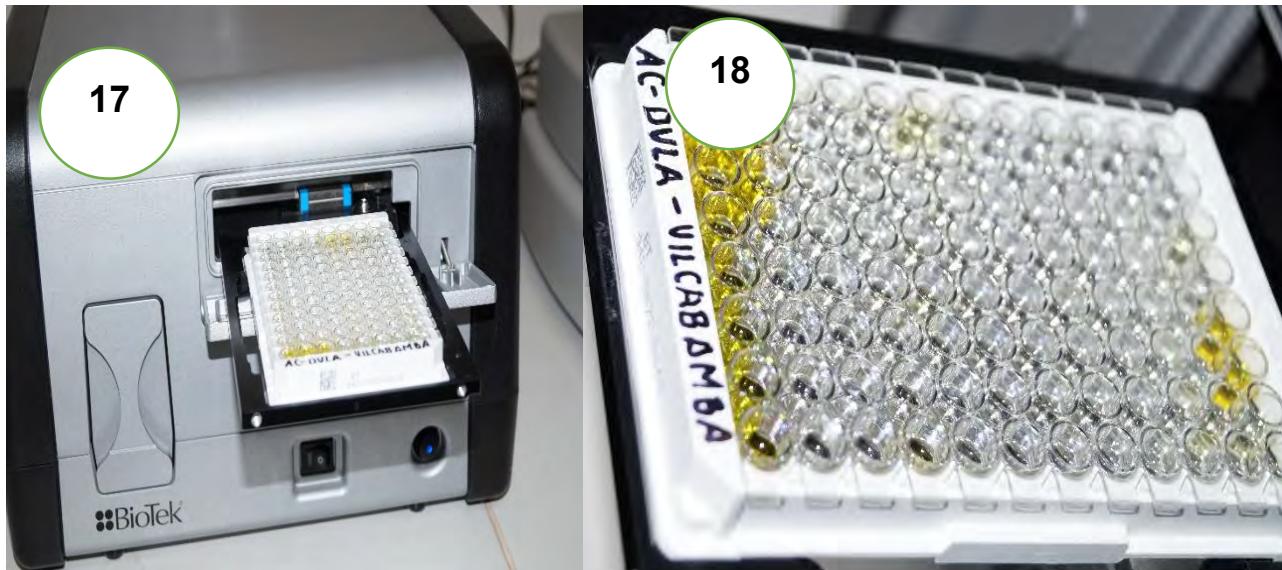
Anexo 7. Adición de los controles (imagen 11), adición de las muestras (imagen 12) en los pocillos de la placa ELISA.



Anexo 8. Se cubrió la placa con parafilm (imagen 13), incubación de la placa (imagen 14), adición del conjugado (imagen 15) y lavado de los pocillos (imagen 16).



Anexo 9. Lectura de las densidades ópticas con el lector de microplacas ELISA (imágenes 17 y 18).



Anexo 10. Valores de la densidad óptica (DO) reportadas por el lector de microplacas ELISA, de los controles y las muestras de suero.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.084	0.044	0.064	0.049	0.046	0.044	0.046	0.117	0.233	0.073	0.046	2.55
B	0.128	0.131	0.049	0.045	0.069	0.043	0.048	0.112	0.045	0.091	0.044	2.08
C	2.169	0.087	0.046	0.052	0.071	0.059	0.049	0.046	0.066	0.05	0.046	2.41
D	2.118	0.069	0.053	0.053	0.059	0.043	0.062	0.14	0.059	0.054	0.046	2.369
E	0.124	0.099	0.065	0.069	0.046	0.042	0.048	0.057	0.102	0.044	0.043	
F	0.208	0.163	0.046	0.045	0.043	0.078	0.056	0.044	0.06	0.044	2.345	
G	0.743	0.045	0.043	0.045	0.043	0.077	0.045	0.046	0.043	0.046	2.29	
H	0.043	0.043	0.057	0.043	0.088	0.068	0.297	0.057	0.132	0.044	2.674	

Anexo 11. Resultados del porcentaje de competición S/N% de los controles y muestras de suero (Respuesta significativa establecida por (ID.vet) S/N% mayores o iguales a 40 % es Negativo y menores a 40% positivo).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	3.914	2.076	2.977	2.295	2.165	2.044	2.137	5.459	10.857	3.425	2.137	118.96
B	5.967	6.112	2.291	2.118	3.205	1.997	2.225	5.211	2.109	4.227	2.076	97.04
C	101.183	4.064	2.142	2.426	3.313	2.757	2.286	2.16	3.075	2.314	2.16	112.43
D	98.817	3.219	2.482	2.496	2.776	2.016	2.888	6.546	2.729	2.538	2.146	110.54
E	5.809	4.619	3.028	3.201	2.128	1.978	2.249	2.65	4.778	2.034	2.02	
F	9.69	7.614	2.165	2.109	2.025	3.63	2.589	2.067	2.79	2.072	109.408	
G	34.661	2.086	2.011	2.086	2.002	3.574	2.123	2.132	2.03	2.165	106.856	
H	2.011	1.992	2.678	2.03	4.096	3.182	13.88	2.65	6.149	2.039	124.767	

Anexo 12. Interpretación de los resultados.

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

Anexo 13. Ficha de registro de animales muestreados y resultados de la prueba ELISA competitivo.

REGISTRO DE MUESTRAS - CUENCA SAN MIGUEL							RESULTADOS ELISA COMPETITIVA		
Nº	Sector	Propietario	Nombre/Nº Arete	Raza	Sexo	Edad	DO	% S/N	Diagnóstico
1	Koshireni	Productor I	Rosita	Hibrido	H	DL	0.124	5.809	Positivo
2	Koshireni	Productor I	Santiago	Hibrido	M	2 D	0.208	9.69	Positivo
3	Koshireni	Productor I	Wilber	Hibrido	M	2 D	0.743	34.661	Positivo
4	Koshireni	Productor I	Taipe	Hibrido	M	4 D	0.043	2.011	Positivo
5	Koshireni	Productor I	Santa Rosa	Hibrido	H	2 D	0.044	2.076	Positivo
6	Esmeralda	Productor II	Elena	Criollo	H	4 D	0.131	6.112	Positivo
7	Esmeralda	Productor II	Wawa Abas	Criollo	H	BLL	0.087	4.064	Positivo
8	Esmeralda	Productor II	Luz Maria	Criollo	H	6 D	0.069	3.219	Positivo
9	Esmeralda	Productor II	Santa Martha	Criollo	H	DL	0.099	4.619	Positivo
10	Esmeralda	Productor II	Kati	Criollo	H	BLL	0.163	7.614	Positivo
11	Esmeralda	Productor II	Selena	Criollo	H	6 D	0.045	2.086	Positivo
12	Esmeralda	Productor III	Gateada	Criollo	H	BLL	0.043	1.992	Positivo
13	Esmeralda	Productor III	Lola	Criollo	H	BLL	0.064	2.977	Positivo
14	Esmeralda	Productor III	Bb.ss.	Criollo	H	6 D	0.049	2.291	Positivo
15	Esmeralda	Productor III	Vieja	Criollo	H	BLL	0.046	2.142	Positivo
16	Esmeralda	Productor IV	Negra A	Criollo	H	6 D	0.053	2.482	Positivo
17	Esmeralda	Productor IV	Luna	Criollo	H	6 D	0.065	3.028	Positivo
18	Esmeralda	Productor IV	Flor	Criollo	H	BLL	0.046	2.165	Positivo
19	Esmeralda	Productor IV	Cachuda	Criollo	H	BLL	0.043	2.011	Positivo
20	Esmeralda	Productor IV	Sumi	Criollo	H	BLL	0.057	2.678	Positivo
21	Esmeralda	Productor V	Negra Vieja	Criollo	H	6 D	0.049	2.295	Positivo
22	Esmeralda	Productor V	Laura	Nerole	H	DL	0.045	2.118	Positivo
23	Esmeralda	Productor V	1005	Criollo	H	4 D	0.052	2.426	Positivo
24	Esmeralda	Productor V	Jordan	Criollo	H	BLL	0.053	2.496	Positivo
25	Esmeralda	Productor V	Sharo	Criollo	H	6 D	0.069	3.201	Positivo
26	Esmeralda	Productor VI	Ana	Criollo	H	DL	0.045	2.109	Positivo
27	Esmeralda	Productor VI	Sumac	Criollo	H	DL	0.045	2.086	Positivo
28	Esmeralda	Productor VI	Luhana	Gyr	H	BLL	0.043	2.03	Positivo
29	Esmeralda	Productor VI	Camila	Criollo	H	4 D	0.046	2.165	Positivo
30	Esmeralda	Productor VI	532	Criollo	H	BLL	0.069	3.205	Positivo
31	Esmeralda	Productor VI	Niña	Criollo	H	4 D	0.071	3.313	Positivo
32	Esmeralda	Productor VII	Rubi "A"	Hibrido	H	BLL	0.059	2.776	Positivo
33	Esmeralda	Productor VII	Sandy	Hibrido	H	BLL	0.046	2.128	Positivo
34	Esmeralda	Productor VII	Nori	Hibrido	H	4 D	0.043	2.025	Positivo
35	Esmeralda	Productor VII	Castaña	Hibrido	H	2 D	0.043	2.002	Positivo
36	Esmeralda	Productor VII	Flor Pequeña	Hibrido	H	DL	0.088	4.096	Positivo
37	Esmeralda	Productor VII	Lety	Hibrido	H	DL	0.044	2.044	Positivo
38	Esmeralda	Productor VII	Negra "Z"	Hibrido	H	BLL	0.043	1.997	Positivo
39	Esmeralda	Productor VII	Simba	Hibrido	H	BLL	0.059	2.757	Positivo
40	Esmeralda	Productor VII	Guadalupe	Hibrido	H	6 D	0.043	2.016	Positivo
41	Esmeralda	Productor VII	Yamila	Hibrido	H	6 D	0.042	1.978	Positivo
42	Esmeralda	Productor VII	Eva	Hibrido	H	6 D	0.078	3.63	Positivo
43	Esmeralda	Productor VII	York	Hibrido	M	4 D	0.077	3.574	Positivo
44	Esmeralda	Productor VII	Juan	Hibrido	M	DL	0.068	3.182	Positivo
45	Esmeralda	Productor VII	Brenda	Hibrido	H	DL	0.046	2.137	Positivo
46	Esmeralda	Productor VIII	Cachuda	Hibrido	H	BLL	0.048	2.225	Positivo
47	Esmeralda	Productor VIII	Rubi "B"	Holstein	H	BLL	0.049	2.286	Positivo
48	Esmeralda	Productor VIII	Negra "M"	Criollo	H	BLL	0.062	2.888	Positivo
49	Esmeralda	Productor VIII	Diana	Hibrido	H	4 D	0.048	2.249	Positivo
50	Esmeralda	Productor VIII	Karen	Hibrido	H	DL	0.056	2.589	Positivo
51	Esmeralda	Productor VIII	Jazmin	Hibrido	H	DL	0.045	2.123	Positivo
52	Esmeralda	Productor VIII	Cerron	Hibrido	M	DL	0.297	13.88	Positivo
53	Esmeralda	Productor VIII	Walter	Hibrido	M	DL	0.117	5.459	Positivo
54	Esmeralda	Productor VIII	Thiago	Hibrido	M	DL	0.112	5.211	Positivo
55	Esmeralda	Productor VIII	Mario	Hibrido	M	DL	0.046	2.16	Positivo

56	Esmeralda	Productor VIII	Julian	Hibrido	M	DL	0.14	6.546	Positivo
57	Esmeralda	Productor VIII	Alcides	Hibrido	M	DL	0.057	2.65	Positivo
58	Esmeralda	Productor VIII	Nazario	Hibrido	M	DL	0.044	2.067	Positivo
59	Espiritu Pampa	Productor IX	Calambrito	Hibrido	M	DL	0.046	2.132	Positivo
60	Espiritu Pampa	Productor IX	Baya	Criollo	H	BLL	0.057	2.65	Positivo
61	Espiritu Pampa	Productor IX	Negra "K"	Criollo	H	2 D	0.233	10.857	Positivo
62	Espiritu Pampa	Productor IX	Patas Blancas	Criollo	H	BLL	0.045	2.109	Positivo
63	Espiritu Pampa	Productor IX	Holstein	Criollo	H	BLL	0.066	3.075	Positivo
64	Espiritu Pampa	Productor IX	Ahumada	Criollo	H	DL	0.059	2.729	Positivo
65	Espiritu Pampa	Productor IX	Brown	Criollo	M	DL	0.102	4.778	Positivo
66	Espiritu Pampa	Productor IX	Bb.ss. Vieja	Criollo	H	BLL	0.06	2.79	Positivo
67	Espiritu Pampa	Productor X	Clavel Rojo	Hibrido	H	BLL	0.043	2.03	Positivo
68	Espiritu Pampa	Productor X	Castañita	Hibrido	H	DL	0.132	6.149	Positivo
69	Espiritu Pampa	Productor X	Edu	Hibrido	M	2 D	0.073	3.425	Positivo
70	Espiritu Pampa	Productor X	Bromcita	Hibrido	H	2 D	0.091	4.227	Positivo
71	Espiritu Pampa	Productor X	Colorada	Hibrido	H	BLL	0.05	2.314	Positivo
72	Espiritu Pampa	Productor X	Cachorrota	Hibrido	H	6 D	0.054	2.538	Positivo
73	Espiritu Pampa	Productor XI	Cacho Despuntada	Hibrido	H	BLL	0.044	2.034	Positivo
74	Espiritu Pampa	Productor XI	Holstein Vaquillona	Hibrido	H	4 D	0.044	2.072	Positivo
75	Espiritu Pampa	Productor XI	Mama De Despunta	Hibrido	H	6 D	0.046	2.165	Positivo
76	Espiritu Pampa	Productor XI	Brown Sin Herida	Hibrido	M	DL	0.044	2.039	Positivo
77	Espiritu Pampa	Productor XI	La Loca	Hibrido	H	4 D	0.046	2.137	Positivo
78	Espiritu Pampa	Productor XI	Llorona	Hibrido	H	DL	0.044	2.076	Positivo
79	Espiritu Pampa	Productor XII	Semental	Brahman	M	DL	0.046	2.16	Positivo
80	Espiritu Pampa	Productor XII	Braman	Brahman	H	4 D	0.046	2.146	Positivo
81	Espiritu Pampa	Productor XII	Berrugosa	Brahman	H	2 D	0.043	2.02	Positivo
82	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1015	Hibrido	H	4 D	2.345	109.408	Negativo
83	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1016	Hibrido	H	2 D	2.29	106.856	Negativo
84	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1017	Hibrido	H	4 D	2.674	124.767	Negativo
85	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1018	Hibrido	H	2 D	2.55	118.963	Negativo
86	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1019	Hibrido	H	4 D	2.08	97.04	Negativo
87	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1020	Hibrido	H	BLL	2.41	112.427	Negativo
88	Parte Alta (Arma)	Productor XIII	1021	Hibrido	H	BLL	2.369	110.542	Negativo

Leyenda:

M: Macho	
H: Hembra	

Negativo: No presenta anticuerpos contra VLA
 Positivo: Presenta anticuerpos contra VLA

Anexo 14. Asociación del virus de la lengua azul y el sector.

- Formulación de hipótesis

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y el sector.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y el sector.

- **Nivel de significancia**

- $\alpha = 0.05$

- **Cálculo de frecuencias esperada**

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
Esmeralda	53	48.78	0	4.21	53
Espiritu pampa	23	21.17	0	1.82	23
Koshireni	5	4.60	0	0.39	5
Parte Alta (Arma)	0	6.44	7	0.64	7
Total	81	81	7	7	88

- **Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado**

$$\chi_c^2 = \frac{(53 - 48.78)^2}{48.78} + \frac{(23 - 21.17)^2}{21.17} + \frac{(5 - 4.60)^2}{4.60} + \frac{(0 - 6.44)^2}{6.44} \\ + \frac{(0 - 4.21)^2}{4.21} + \frac{(0 - 1.82)^2}{1.82} + \frac{(0 - 0.39)^2}{0.39} + \frac{(7 - 0.64)^2}{0.64}$$

$$\chi_c^2 = 88$$

- **Determinación de los grados de libertad**

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (4 - 1)(2 - 1) = 3$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

- $\chi_t^2 = 7.8147$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 88 > \chi_t^2 = 7.8147$, por lo tanto, existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y el sector ($p < 0.05$).

Anexo 15. Asociación del virus de la lengua azul y la raza.

- **Formulación de hipótesis**

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre el virus de la lengua azul y la raza.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y la raza.

- **Nivel de significancia**

- $\alpha = 0.05$

- **Cálculo de frecuencias esperada**

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
Criollo	32	29.45	0	2.54	32
Híbrido	43	46.94	7	3.98	50
Otras razas puras	6	5.52	0	0.48	6
Total	81	81	7	7	88

- **Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado**

$$\begin{aligned} \chi_c^2 = & \frac{(32 - 29.45)^2}{29.45} + \frac{(43 - 46.94)^2}{46.94} + \frac{(6 - 5.52)^2}{5.52} + \frac{(0 - 2.54)^2}{2.54} \\ & + \frac{(7 - 3.98)^2}{3.98} + \frac{(0 - 0.48)^2}{0.48} \end{aligned}$$

$$\chi_c^2 = 6.55$$

- **Determinación de los grados de libertad**

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (3 - 1)(2 - 1) = 2$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

$$\chi_t^2 = 5.9915$$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 6.55 > \chi_t^2 = 5.9915$, por lo tanto, existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y la raza ($p < 0.05$).

Anexo 16. Asociación del virus de la lengua azul y el sexo.

- **Formulación de hipótesis**

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre el virus de la lengua azul y el sexo.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y el sexo.

- **Nivel de significancia**

- $\alpha = 0.05$

- **Cálculo de frecuencias esperada**

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
Hembra	64	65.35	7	5.65	71
Macho	17	15.65	0	1.35	17
Total	81	81	7	8	88

- **Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado**

$$\chi_c^2 = \frac{(64 - 65.35)^2}{65.35} + \frac{(17 - 15.65)^2}{15.65} + \frac{(7 - 5.65)^2}{5.65} + \frac{(0 - 1.35)^2}{1.35}$$

$$\chi_c^2 = 2.08$$

- **Determinación de los grados de libertad**

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

$$\chi_t^2 = 3.8415$$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 2.08 < \chi_t^2 = 3.8415$, por lo tanto, no existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran que no existe una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y el sexo ($p < 0.05$).

Anexo 17. Asociación del virus de la lengua azul y la edad.

- Formulación de hipótesis

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre el virus de la lengua azul y la edad.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y la edad.

- Nivel de significancia

- $\alpha = 0.05$

- Cálculo de frecuencias esperada

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
DL: (0 – 28 meses)	25	23.01	0	2.0	25
2D: (28 – 36 meses)	8	9.20	2	0.80	10
4D: (36 – 43 meses)	11	12.89	3	1.11	14
6D: (43 – 51 meses)	12	11.05	0	1.95	12
BLL: (51 meses a más)	25	24.85	2	2.15	27
Total	81	81	7	8	88

DL: Dientes de leche; 2D: 2 dientes; 4D: 4 dientes; 6D: 6 dientes; BLL: boca llena.

- Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado

$$\begin{aligned} \chi_c^2 = & \frac{(25 - 23.01)^2}{23.01} + \frac{(8 - 9.20)^2}{9.20} + \frac{(11 - 12.89)^2}{12.89} + \frac{(12 - 11.05)^2}{11.05} \\ & + \frac{(25 - 24.85)^2}{24.85} + \frac{(0 - 2.0)^2}{2.0} + \frac{(2 - 0.80)^2}{0.80} + \frac{(3 - 1.11)^2}{1.11} \\ & + \frac{(0 - 1.95)^2}{1.95} + \frac{(2 - 2.15)^2}{2.15} \end{aligned}$$

$$\chi_c^2 = 6.71$$

- Determinación de los grados de libertad

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (5 - 1)(2 - 1) = 4$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

$$\chi_t^2 = 9.4877$$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 6.71 < \chi_t^2 = 9.4877$, por lo tanto, no existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran que no existe una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y la edad ($p < 0.05$).

Anexo 18. Asociación del virus de la lengua azul y la altitud.

- **Formulación de hipótesis**

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre el virus de la lengua azul y la altitud.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y la altitud.

- **Nivel de significancia**

- $\alpha = 0.05$

- **Cálculo de frecuencias esperada**

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
[1346 - 1450>	58	53.39	0	4.61	58
[1451 - 2110]	23	27.61	7	2.39	30
Total	81	81	7	7	88

- **Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado**

$$\chi_c^2 = \frac{(58 - 53.39)^2}{53.39} + \frac{(23 - 27.61)^2}{27.61} + \frac{(0 - 4.61)^2}{4.61} + \frac{(7 - 2.39)^2}{2.39}$$

$$\chi_c^2 = 16.45$$

- **Determinación de los grados de libertad**

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

$$\chi_t^2 = 3.8415$$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 16.45 > \chi_t^2 = 3.8415$, por lo tanto, existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y la altitud ($p < 0.05$).

Anexo 19. Asociación del virus de la lengua azul y la humedad.

- **Formulación de hipótesis**

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre el virus de la lengua azul y la humedad.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y la humedad.

- **Nivel de significancia**

- $\alpha = 0.05$

- **Cálculo de frecuencias esperada**

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
50% - 56%	53	55.23	7	4.77	60
57% - 63%	25	23.01	0	1.99	25
64% - 69%	3	2.76	0	0.24	3
Total	81	81	7	7	88

- **Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado**

$$\begin{aligned} \chi_c^2 = & \frac{(53 - 55.23)^2}{55.23} + \frac{(25 - 23.01)^2}{23.01} + \frac{(3 - 2.76)^2}{2.76} + \frac{(7 - 4.77)^2}{4.77} \\ & + \frac{(0 - 1.99)^2}{1.99} + \frac{(0 - 0.24)^2}{0.24} \end{aligned}$$

$$\chi_c^2 = 4.0348$$

- **Determinación de los grados de libertad**

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (3 - 1)(2 - 1) = 2$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

$$\chi_t^2 = 5.9915$$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 4.0348 < \chi_t^2 = 5.9915$, por lo tanto, no existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran que no existe una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y la humedad ($p < 0.05$).

Anexo 20. Asociación del virus de la lengua azul y el sistema de pastoreo.

- **Formulación de hipótesis**

- $\chi_c^2 > \chi_t^2$: Existe asociación estadística significativa entre el virus de la lengua azul y el sistema de pastoreo.
- $\chi_c^2 < \chi_t^2$: No existe asociación estadística significativa entre virus de la lengua azul y el sistema de pastoreo.

- **Nivel de significancia**

- $\alpha = 0.05$

- **Cálculo de frecuencias esperada**

Virus de la lengua azul	Positivo		Negativo		Total
	Fo	Fe	Fo	Fe	
Mixto	48	50.63	7	4.38	55
Extensivo	33	30.38	0	2.63	33
Total	81	81	7	7	88

- **Cálculo del Estadístico Chi – cuadrado**

$$\chi_c^2 = \frac{(48 - 50.63)^2}{50.63} + \frac{(33 - 30.38)^2}{30.38} + \frac{(7 - 4.38)^2}{4.38} + \frac{(0 - 2.63)^2}{2.63}$$

$$\chi_c^2 = 5.1799$$

- **Determinación de los grados de libertad**

- $gl = (R - 1)(C - 1)$

Donde:

R: Número de filas

C: Número de columnas

- Grados de libertad:

$$gl = (2 - 1)(2 - 1) = 1$$

- **Valor crítico de Chi – cuadrado**

$$\chi_t^2 = 3.8415$$

- **Toma de decisiones estadísticas**

$\chi_c^2 = 5.1799 > \chi_t^2 = 3.8415$, por lo tanto, existe asociación estadística significativa.

- **Interpretación y conclusión**

Los resultados de la prueba de Chi-cuadrado muestran una asociación significativa entre el virus de la lengua azul y el sistema de pastoreo ($p < 0.05$).