

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA



TESIS

DETECCION SEROLOGICA Y MOLECULAR DEL VIRUS LENGUA AZUL EN VACUNOS DEL CENTRO POBLADO DE PILLCOPATA, DISTRITO DE KOSÑIPATA-CUSCO

PRESENTADO POR:

Br. YARI ZARATE QUISPE

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO ZOOTECNISTA

ASESORES:

Dr. WALTER GUILLERMO VERGARA ABARCA.

ING.ZOOT. FIORELA GUZMÁN FIGUEROA

FINANCIADO POR: YACHAYNINCHIS WIÑARINANPAQ

CUSCO – PERÚ

2025



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

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

El que suscribe, el **Asesor** WALTER GUILLERMO VERGARA ABARCA
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada: DETECCION SEROLOGICA Y MOLECULAR
DEL VIRUS LENGUA AZUL EN VACUNOS DEL CENTRO
POBLADO DE PILLCOPATA, DISTRITO DE KOSNIPATA - CUSCO

Presentado por: YARI ZARATE QUISPE DNIN° 47474748 ;
presentado por: DNIN°:
Para optar el título Profesional/Grado Académico de INGENIERO
ZOOTECNISTA

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 2%.

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, 24 de ABRIL de 2026

.....
Firma

.....
Firma

Post firma WALTER GUILLERMO VERGARA ABARCA

Post firma FIGUEROA GUZMAN FIORELA

Nro. de DNI 31016563

Nro. de DNI 70991650

ORCID del Asesor 0000-0002-16688-7471

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:** 27259:581348367

TESIS YARI ZARATE QUISPE 09-04-2026-1.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::27259:581348367

Fecha de entrega

21 abr 2026, 10:14 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

21 abr 2026, 10:49 a.m. GMT-5

Nombre del archivo

TESIS YARI ZARATE QUISPE 09-04-2026-1.pdf

Tamaño del archivo

3.3 MB

112 páginas

25.455 palabras

138.109 caracteres

2% Similitud general

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




Filtrado desde el informe

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

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 1%  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

Este trabajo es dedicado a mis padres, Francisco Zarate Quispe y Gregoria Lucia Quispe Ttito, por enseñarme a enfrentar los retos y metas que me propongo, como el presente trabajo de investigación. Asimismo, a mi hermano y hermanas, quienes constantemente estuvieron a mi lado, expresándome palabras de motivación, fortaleza y aliento para continuar con mi formación profesional.

A mis asesores, Dr. Walter Guillermo Vergara Abarca e Ing. Zoot. Fiorela Guzmán Figueroa, por su valioso apoyo, orientación constante y, especialmente por la confianza depositada en mí.

A mis docentes y compañeros, quienes, con su sabiduría y orientación, han sido esenciales en mi formación académica.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por permitirme disfrutar de cada día, por estar siempre presente en mi vida, por guiarme, por darme fuerzas y enseñarme que nunca debemos rendirnos.

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC) por financiamiento otorgado mediante el proyecto "Detección molecular y serológica de cepas emergentes del virus de la lengua azul en rumiantes domésticos, alpacas y llamas del departamento del Cusco" con convenio N° 014-2021, en el marco del programa Yachayninchis Wiñarinanpaq.

Al Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco”, de la Escuela Profesional de Zootecnia-UNSAAC, donde se llevó a cabo esta investigación.

A quienes brindaron su apoyo y colaboración durante todas las etapas de esta investigación, incluyendo su desarrollo y finalización; agradezco al Dr. Walter Guillermo Vergara Abarca, M.SC. Santos Wilton Calderón Ruiz, Dr. Dennis A. Navarro Mamani e Ing. Fiorela Guzmán Figueroa.

A mis compañeros del proyecto DNSVILAC: Marynes Tupayachi Huayhua, Magaly Román Ccansaya y Beli Usca Llamocca, mi más sincero reconocimiento por su invaluable colaboración y compañerismo.

A mis amigos Gilbert Mamani Merma, Mayumi Huayllapuma Callonza, Siarit Elsa Lima Usnayo, Sindy Cardenas Osorio y Nilda Ancaipuro Saire, por su ayuda en la coordinación con los productores y recolección de muestras de vacunos del Centro Poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco.

INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
GLOSARIO	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	1
I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1. Planteamiento del problema	3
II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN	4
2.1. Objetivos.....	4
2.1.1. <i>Objetivo general</i>	4
2.1.2. <i>Objetivos específicos</i>	4
2.2. Justificación	4
2.3. Variables.....	5
2.3.1. <i>Variable dependiente</i>	5
2.3.2. <i>Variable Independiente:</i>	5
III. MARCO TEÓRICO.....	6
3.1. Antecedentes de la investigación.....	6
3.1.1Antecedentes Internacionales.....	6
3.1.2Antecedentes Nacionales	9
3.2. Bases teóricas	10
3.2.1. <i>Virus lengua azul</i>	10
3.2.2. <i>Historia de la lengua azul (LA)</i>	12
3.2.3. <i>Distribución mundial actual del VLA</i>	13
3.2.4. <i>La patogenia de VLA</i>	14
3.2.5. <i>Epidemiología y transmisión de la lengua azul</i>	15
3.2.5.1. <i>Culicoides picaduras de mosquitos</i>	17
3.2.5.2. <i>Otras formas de transmisión</i>	19

3.2.6.	<i>Mecanismos potenciales de enfermedad</i>	20
3.2.7.	<i>Signos y Síntomas del Virus de la Lengua Azul</i>	20
3.2.8.	<i>Interseccionalidad de la infección por VLA</i>	26
3.3.	Bases conceptuales	27
3.3.1.	<i>La prevalencia “P”</i>	27
3.3.2.	<i>Lengua Azul</i>	28
3.3.3.	<i>Anticuerpos</i>	28
3.3.4.	<i>Antígenos</i>	28
3.3.5.	<i>Plasma</i>	28
3.3.6.	<i>Sangre</i>	28
3.3.7.	<i>Suero</i>	28
3.3.8.	<i>PCR</i>	29
3.3.9.	<i>ELISA</i>	29
3.3.11.	<i>Raza</i>	30
IV.	MÉTODOLOGIA	32
4.1.	UBICACIÓN ESPACIAL	32
4.1.1.	<i>Ubicación política</i>	32
4.1.2.	<i>Ubicación geográfica</i>	32
4.1.3.	<i>Limites</i>	32
4.1.4.	<i>Clima de la zona de estudio</i>	33
4.1.5.	<i>Precipitación</i>	34
4.2.	MATERIALES	34
4.2.1.	<i>Tipo de investigación</i>	34
4.2.2.	<i>Población</i>	34
4.2.3.	<i>Tamaño de muestra</i>	34
4.2.4.	<i>Materiales auxiliares</i>	35
4.2.4.1.	Materiales de campo para la obtención de muestras	35
4.2.4.2.	Equipos de laboratorio	35
4.2.4.3.	Instrumentos de laboratorio	36
4.2.4.4.	Materiales de laboratorio	36
4.2.4.5.	Reactivos de laboratorio para método ELISA	37
4.2.4.6.	Reactivos de laboratorio para método RT-qPCR	37
4.3.	Método	38

4.3.1.	Coordinación con los productores del Centro Poblado de Pillcopata ...	38
4.3.2.	Obtención de muestras de sangre.....	39
4.3.3.	Obtención del suero	39
4.3.4.	Metodología de laboratorio.....	40
4.3.4.1.	Descripción del método de ELISA de competición, para detectar anticuerpos del Virus Lengua Azul (VLA).	40
4.3.4.2.	Método para la extracción del material genético del virus Lengua Azul	43
4.3.4.3.	Método de RT - qPCR en tiempo real para la detección cualitativa del ARN viral del VLA.	45
A.	Principio de la prueba	45
B.	Controles de la extracción y de la amplificación.....	46
C.	Procedimiento de amplificación.....	47
4.4.	Análisis estadístico	50
V.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	51
VI.	CONCLUSIONES.....	62
VII.	RECOMENDACIONES	63
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
	ANEXOS	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Categorización dentaria en bovinos	30
Tabla 2 Interpretación de resultados de ensayo ELISA.	43
Tabla 3 Composición del kit de RT- q PCR y condiciones de almacenamiento	46
Tabla 4 Programación del termociclador	48
Tabla 5 Programas de amplificación.....	48
Tabla 6 Validación de ensayo	49
Tabla 7 Interpretación de resultados	49
Tabla 8 Valores de Densidad Óptica de placa I	51
Tabla 9 Valores de Densidad Óptica de Placa II	51
Tabla 10 Valores de porcentaje (S/N%) de competición de cada muestra de placa I.....	52
Tabla 11 Valores de porcentaje de competición de cada muestra de la placa II.....	53
Tabla 12 Seroprevalencia de anticuerpos contra VLA en bovinos del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco, 2022.....	55
Tabla 13 Frecuencia de bovinos positivos al genoma del virus Lengua Azul del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco.	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Mosquito hembra del género Culicoides.....	11
Figura 2 Lesiones macroscópicas de lengua azul en bovinos.....	22
Figura 3 Lesión macroscópica en un ternero infectado	25
Figura 4 Mapa del C.P. Pillcopata, provincia la Kosñipata.....	33
Figura 5 Coordinación con los productores de Centro Poblado de Pillcopata	38
Figura 6 Recolección de muestras	39
Figura 7 Procesamiento y conservación de las muestras de sangre de vacunos.....	40
Figura 8 Resultados cualitativos para la detección de anticuerpos contra VLA, placa I.....	54
Figura 9 Resultados cualitativos para la detección de anticuerpos contra VLA, placa II	54
Figura 10 Cantidad de vacunos positivos a anticuerpos contra VLA por raza.....	57
Figura 11 Cantidad de vacunos hembras positivas y negativas a anticuerpos contra VLA. ..	57
Figura 12 Cantidad de vacunos machos positivos y negativos a anticuerpos contra VLA	58
Figura 13 Curvas de amplificación del genoma del VLA de 13/16 productores.	59

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Operacionalización de variables	711
Anexo 2 Posición de los controles y las muestras en la placa ELISA, placa I.....	22
Anexo 3 Posición de los controles y las muestras en la placa ELISA, placa II.....	250
Anexo 4 Ejecución de la prueba serológica en laboratorio	33
Anexo 5 Ejecución de extracción del material genético para la detección del ARN viral de VLA	384
Anexo 6 Preparación de la reacción de amplificación de la RT-q PCR.....	398
Anexo 7 Ubicación de las muestras de pools por productor en la placa PCR.....	40
Anexo 8 Base de datos de las muestras evaluadas para la detección de anticuerpos y genoma del virus de la lengua azul en bovinos del C.P. Pillcopata-Kosñipata.....	54

GLOSARIO

VLA: Virus de lengua azul

BTV: serotipo

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

CID: Coagulación intravascular diseminada

ARN: Ácido ribonucleico

ADN: Ácido desoxirribonucleico

EDTA: Anticoagulante

VP7: Glicoproteína

TDM: Solución de revelación

RT-qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa

TPC-BTV: Control positivo Diana

NTPCen: Control positivo no diana endógeno

NEC: Control negativo de la extracción

NAC: Control negativo de la amplificación

RESUMEN

El virus de la lengua azul (VLA), en bovinos de la zona tropical se transmite principalmente mediante la picadura de insectos hematófagos del género *Culicoides* spp, que actúan como vectores biológicos. Este estudio se realizó en el año 2023 a una altura de 485 m s.n.m. Se aplicó la prueba de independencia de Chi-cuadrado (χ^2) para evaluar la asociación entre la presencia de anticuerpos contra el virus de lengua azul y las variables de origen y sexo. Para la asociación entre la presencia de anticuerpos contra VLA y las variables de raza y categoría se aplicó la prueba de Fisher, ambas pruebas mediante el software Stata. Se recolectaron muestras de sangre de vacunos de las razas Brown Swiss, Holstein, Gyr y vacunos criollos, siendo 126 vacunos pertenecientes a 16 productores; a cada muestra se aplicó el método de ELISA competitivo para detectar animales seropositivos a anticuerpos del VLA y se elaboró un pool de muestras por cada productor, siendo 16 pooles (muestras compuestas); para realizar la prueba de RT-q PCR. Los resultados revelaron que la prevalencia de anticuerpos contra el virus de lengua azul (VLA) en vacunos fue en un porcentaje de 95.23 % con 120 positivos a anticuerpos de 126 muestras, por otra parte, se encontró una prevalencia al genoma ARN viral de VLA a nivel de productor del 81.25 % con 13 positivos de los 16 pooles, mostrando la posible existencia del virus de lengua azul en la zona de estudio, aunque ningún animal evidenció sintomatología clínica.

Palabras clave: ELISA de competición, RT-qPCR en tiempo real, Bovinos, Virus de Lengua Azul.

ABSTRACT

Bluetongue virus (BTV) in cattle in tropical areas is primarily transmitted through the bite of hematophagous insects of the genus *Culicoides* spp., which act as biological vectors. This study was conducted in 2023 at an altitude of 485 m above sea level. The chi-square (χ^2) test of independence was applied to evaluate the association between the presence of antibodies against bluetongue virus and the variables of origin and sex. The Fisher test was applied to assess the association between the presence of antibodies against VLA and the variables of breed and category, both tests performed using Stata software. Blood samples were collected from Brown Swiss, Holstein, Gyr, and Creole cattle, totaling 126 cattle from 16 producers. Each sample was tested using the competitive ELISA method to detect animals seropositive for VLA antibodies, and a pool of samples was created for each producer, resulting in 16 pools (composite samples), for RT-qPCR testing. The results revealed that the prevalence of antibodies against the bluetongue virus (BTV) in cattle was 95.23% with 120 positive antibodies out of 126 samples. Furthermore, a prevalence of the RNA genome of BTV at the producer level of 81.25% was found with 13 positive results out of 16 pools, showing the possible existence of the bluetongue virus in the study area, although no animal showed clinical symptoms.

Keywords: Competitive ELISA, Real-time RT-qPCR, Cattle, Bluetongue Virus.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) (2021) indica que los mosquitos de la especie *Culicoides*, se distribuyen en regiones de trópico y subtropico a nivel mundial; ya que son propicios para su supervivencia al invierno, los mismos que son los causantes de transmitir el virus en los animales domésticos y exóticos, pero principalmente en animales rumiantes; no obstante, aquellos animales que viven en zonas endémicas poseen resistencia al virus de lengua azul, cabe resaltar que la presencia del virus en una zona se debe a la introducción de animales susceptibles y de razas europeas en áreas endémicas, también sucede por el desplazamiento en el aire de *Culicoides* infectados.

Se han identificado veinticuatro (24) serotipos distintos, y la capacidad de cada cepa para provocar la enfermedad varía considerablemente; la gravedad de la enfermedad varía según las diferentes especies; en los bovinos la tasa de infección es con frecuencia más alta que en los ovinos y la presencia y gravedad de los signos clínicos varían según la cepa vírica (Organización Mundial de Sanidad Animal , 2025).

En el Perú, un estudio realizado por la Universidad Mayor de San Marcos registró que la seroprevalencia del VLA en animales rumiantes fue de 12.7 %. La seroprevalencia por especie fue: 19.3 % en bovinos, 8.4 % en ovinos y 9.2 % en caprinos. Los factores de riesgo asociados a la seroprevalencia fueron: la edad (> a 24 meses), altitud (> a 3000 m s.n.m.), % de humedad (>80 %) y temperatura 30 °C (El Peruano , 2024)

De acuerdo al censo agropecuario del año 2012, la población ganadera ascendió a 5.037.499 cabezas de ganado; de los cuales el 78 % se localiza en la sierra, 11 % en la costa y el 10 % en la selva. Por otra parte, en la sierra, una proporción mayor al 70 % pertenece a pequeñas propiedades privadas y comunidades campesinas que realizan explotaciones extensivas; en dicho sector predomina el ganado criollo y el cruce de distintas razas, enfatizando el cruce con el ganado de la raza Brown Swiss (Rosemberg, 2018).

En la actualidad, las enfermedades que emergen como la Lengua azul (LA) generada por el virus de lengua azul (VLA) son de interés por su impacto negativo en las actividades socioeconómicas, durante los brotes epizooticos y porque se trata de una enfermedad restrictiva para comercializar animales vivos, germoplasma y demás productos (Maclachlan *et al.*, 2019).

El VLA genera pérdidas económicas al sector ganadero, en regiones y/o países emergentes o reemergentes de esta enfermedad, de forma directa ocasiona en los ovinos la alteración de calidad de lana, masa corporal, infertilidad temporal, abortos, muerte de los animales y gastos por tratamiento veterinario, de forma indirecta incluye el uso de vacunas, vigilancia, control de vectores y medidas adicionales para la exportación de animales (Sohail *et al.*, 2019). El serotipo BTV-8 es altamente virulento en bovinos causando la disminución en producción de leche de hasta un 1 % del rendimiento durante toda la lactancia, infertilidad transitoria, abortos, malformaciones fetales, retraso en el crecimiento, mortalidad superior al 30 % y aumento en el intervalo de partos (Kundlacz *et al.*, 2019).

Las condiciones climáticas en una ubicación geográfica similar son variables, principalmente debido a la altitud. En zonas de menor altitud predominan climas tropicales y subtropicales, idóneos para la distribución del vector competente (Pioz *et al.*, 2012; Malesios *et al.*, 2020). Actualmente el cambio climático es el principal factor causante de los cambios en la distribución del vector del VLA, afectando a países y zonas fuera del rango latitudinal y altitudinal, que no poseen un plan de prevención contra la enfermedad (Purse *et al.*, 2006). Según el GermanWatch, el Perú conforma la lista de los países con mayor vulnerabilidad ante los efectos del cambio climático, debido a su ubicación geográfica, menor grado de desarrollo y mayor exposición a los fenómenos meteorológicos (Eckstein *et al.*, 2019).

Por las razones antes mencionadas el objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar la prevalencia serológica y molecular del virus lengua azul en vacunos del Centro Poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco.

I. PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Actualmente, los fenómenos del cambio climático que conllevan al calentamiento global implican una serie de variaciones en la abundancia y distribución de mosquitos vectores y de los agentes virales, bacterianos o parasitarios que estos transmiten al hombre como a los animales de producción. La propagación de mosquitos ha ido incrementándose según su especie, llegando a incrementar la diseminación y persistencia de agentes virales a diversas regiones o países donde no había reportes de enfermedades emergentes para la salud pública incluyendo la del animal (Purse *et al.*, 2006). Existe una variedad de mosquitos considerados vectores, dentro de ellos los mosquitos de tipo “*Culicoides spp.*”, son específicamente más vulnerables al cambio climático por su característica de ser poiquiloterms y además de utilizar diversos hábitats que posean zonas semiacuáticas en el que puedan desarrollarse, es por ello, los índices demográficos, así como las interacciones que poseen con el hospedero resultan sensibles a cambios de humedad y temperatura (Purse *et al.*, 2015). Actualmente, el virus de lengua azul es considerado una enfermedad emergente en el mundo por la presentación de brotes y detección del virus fuera de su distribución geográfica (40°N y 35°S). Debido a que el calentamiento global, dinamiza la migración del mosquito vector a mayores latitudes y altitudes, ocasionando la emergencia de la enfermedad con cuantiosas pérdidas económicas en los rumiantes afectados y por ser un limitante para el comercio a nivel internacional; este virus es de origen endémico propio de zonas subtropicales y tropicales; sin embargo, en el Perú, los datos sobre la seroprevalencia, serotipos presentes y distribución del virus es desconocido, menos aún en el centro poblado de Pillcopata, Provincia de Paucartambo, Región del Cusco.

El conocimiento de las áreas seropositivas a VLA servirá para establecer la vigilancia sanitaria por SENASA, a fin de evitar la ocurrencia de brotes epizooticos ante el inminente cambio climático y la consecuente migración de mosquitos vectores a zonas interandinas de la región del Cusco.

II. OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Objetivos

2.1.1. *Objetivo general*

Determinar la prevalencia serológica y molecular del virus lengua azul en vacunos del Centro Poblado de Pillcopata, Distrito de Kosñipata-Cusco.

2.1.2. *Objetivos específicos*

- Determinar la prevalencia de anticuerpos contra el virus Lengua Azul en vacunos del Centro Poblado de Pillcopata, Distrito de Kosñipata-Cusco.
- Determinar la prevalencia del genoma del virus Lengua Azul en vacunos por productor, del Centro Poblado de Pillcopata, Distrito de Kosñipata-Cusco.

2.2. Justificación

Un estudio realizado en el sector Sauce Grande del Coto de caza El Angolo, en Piura-Perú, permitió establecer un diagnóstico situacional y proponer un programa de monitoreo zoonosanitario, en el que se evaluó la condición corporal y la presencia de lesiones externas o ectoparásitos en fauna silvestre y doméstica. Los resultados evidenciaron la presencia de anticuerpos contra el virus de la lengua azul (VLA) en venados y bovinos, así como la detección de *Haemonchus contortus* en venados, caprinos y bovinos, lo que sugiere su posible rol como vector del VLA en el país (Muñoz *et al.*, 2012). Sin embargo, en zonas con notable actividad ganadera como el Centro Poblado de Pillcopata, en la Provincia de Paucartambo (Cusco), no se cuenta con estudios sobre la seroprevalencia del VLA en rumiantes, a pesar de su proximidad geográfica con regiones de la selva Peruana, donde este virus es endémico; esta ausencia de información limita la implementación de medidas de vigilancia y control en zonas potencialmente expuestas.

Por otro lado, la mayor población ganadera de bovinos del país se desarrolla en los valles interandinos y zonas andinas, la ganadería bovina del trópico en las zonas tropicales, la cual podría estar en riesgo de ser afectada por VLA debido a la migración de los potenciales vectores desde zonas tropicales y subtropicales hacia las zonas de mayor altitud favorecidos por el cambio climático. Estos datos son fundamentales para activar los programas de vigilancia sanitaria por parte del SENASA monitoreando la dinámica de la seroconversión en los animales que son criados en altitud no mayores a 1000 m s.n.m. y animales criados en zonas de mayor altitud donde se desarrolla la ganadería del país, a fin de prever la ocurrencia de brotes que podría ser devastador para el ganadero y el país.

2.3. Variables

2.3.1. *Variable dependiente*

Virus de la Lengua Azul

2.3.2. *Variable Independiente:*

Raza, categoría, sexo, procedencia, productor.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes de la investigación

3.1.1 Antecedentes Internacionales

Acevedo *et al.* (2020) al realizar un análisis de la prevalencia del virus lengua azul en Caribe y Cuba, determinó que la identificación del VLA en Cuba muestra que el virus se ha expandido en las regiones del país, ya que los serotipos del virus vienen circulando y no se cuenta con un mapa de ubicación del vector para establecer la vigilancia sanitaria. Por su parte Martínez *et al.* (2011) registró sobre la presencia del virus en bovinos seroreactores al VLA, asimismo, demostraron que el 99.7 % no muestra evidencias de manifestaciones clínicas de la enfermedad, debido al desconocimiento de los serotipos circulantes y de especies de vectores que se encuentran involucrados en la transmisión.

Qin *et al.* (2020), estableció la tasa de seropositividad y riesgo de infección por VLA en bovinos y caprinos en la provincia de Guangxi, una región subtropical en el sur de China, tomaron 548 muestras de suero de ganado y 6567 de cabra, las cuales recolecto en 13 ciudades de la provincia de Guangxi durante 2003-2015. Analizaron y encontraron que la seroprevalencia es 44.5 % (244/548) en bovinos y 28.0 % (1837/6567) en cabras y los principales serotipos de BTV son -1, -2, -4 y -8. Diagnosticaron que la zona climática, la edad y las especies son los posibles factores de riesgo por BTV.

Sohail *et al.* (2019), investigaron la seroprevalencia del virus de la lengua azul (VLA) en rumiantes mayores y menores. Para ello, evaluaron un total de 1312 animales sanos en busca de anticuerpos del grupo específico y del genoma específico del serotipo del virus, utilizando ELISA competitivo y PCR en tiempo real, respectivamente. Encontraron una prevalencia global de anticuerpos VP7 específicos de grupo del 28,81 % (n = 378/1312). Evidenciando que, la prevalencia fue más alta en cabras (40,75 %; n = 194/476), seguida por búfalos (29,34 %; n = 81/276), ovejas (18,40 %; n = 60/326) y bovinos (17,94 %; n = 42/234). Las probabilidades de seropositividad fueron mayores en los búfalos de raza Nili (OR = 2,06) y en

animales con presencia de vectores (OR = 2,04). Además, tanto los búfalos como los bovinos con antecedentes de aborto presentaron una probabilidad significativamente mayor de estar infectados con el virus (OR = 3,95 y OR = 5,89, respectivamente).

Hwang *et al.* (2019), desarrollaron una investigación con el objeto de evaluar la seroprevalencia de anticuerpos de VLA y la distribución de serotipos de VLA en ganado lechero en Corea del Sur para mejorar la comprensión de la situación epidemiológica de VLA en Asia y el Pacífico. Sus resultados fueron entre 2012 y 2013, un total de 37 de 171 hatos de ganado lechero (21,6 %) y 85 de 466 cabezas de ganado lechero (18,2 %) mostraron anticuerpos contra el virus; dado que identificaron anticuerpos neutralizantes para los siguientes serotipos: -1, - 2, - 3, - 4, - 7, - 15 y - 16 del virus de lengua azul, y los ARN del virus de los siguientes serotipos: -1, - 2, - 3, - 15 y - 16. Esto indica que VLA circulaba en la población de ganado lechero en Corea del Sur.

Maan *et al.* (2017), al establecer la seroprevalencia del VLA en el estado de Haryana en la India. Recolectaron “un total de 803 muestras de suero, 408 de bovinos y 395 de” origen búfalo. El muestreo lo realizaron de forma aleatoria para obtener resultados no sesgados. Las muestras se evaluaron mediante “un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima competitivo para determinar la presencia de” anticuerpos VLA. Encontraron que la seroprevalencia general del anticuerpo VLA en bovinos y búfalos para los 21 distritos del estado de Haryana fue de 75,49 % y 92,91 %, respectivamente. La prevalencia de VLA en diferentes zonas agroclimáticas osciló entre 72-77 % y 90-94 % para bovinos y búfalos, respectivamente. En búfalos, la seroprevalencia de VLA fue comparativamente más alta que en bovinos.

Lozano (2015) al identificar las especies prevalentes de vectores del VLA en el venado de cola blanca y ganado, encontró índices de seropositividad moderados que destruían al VLA en los animales rumiantes domésticos y silvestres vinculados a la temporada del año; asimismo, se descubrió que un venado estaba infectado por Orbivirus, determinando que hay evidencia

serológica de VLA en rumiantes domésticos y silvestres, reflejando que la presencia del virus se asocia a la especie animal.

Rojas *et al.* (2023), analizaron 320 muestras sanguíneas de ovinos de cinco estados mediante RT-PCR y RT-PCR en tiempo real para diagnosticar el virus de la lengua azul. Se detectaron 12 muestras positivas (3.75 %) al gen NS1, con 89–98 % de identidad genética con los serotipos 10, 11 y 12, y dos muestras confirmadas por RT-PCR en tiempo real procedentes de Chiapas y Tamaulipas. Los autores concluyeron que la detección molecular confirma la presencia del virus en México y que el uso de un control sintético positivo mejora la eficiencia diagnóstica y la vigilancia epidemiológica del VLA.

Rasmussen *et al.* (2010) reportaron 15 brotes de BTV-8 en Dinamarca en 2008 (10 clínicos, 4 por leche y 1 por exportación), pese a la vacunación parcial. Mediante ELISA y RTPCR en tiempo real, detectaron valores Ct entre 22 y 33, con 41 % de animales seropositivos y títulos de anticuerpos de OD% = 4.3 ± 2.3 . El análisis genético mostró 100 % de identidad con la cepa BTV-8 de los Países Bajos (2006). Concluyen que, aunque la vacunación redujo la propagación, la persistencia viral y la similitud genética confirman la introducción del virus y la necesidad de cobertura vacunal completa y vigilancia constante.

De Campos *et al.* (2016), determinaron la prevalencia del virus de la lengua azul serotipo 4 (BTV-4) en bovinos de São Paulo, donde encontraron que 86 % (1 483/1 716) de los bovinos presentaron anticuerpos neutralizantes contra BTV-4, con títulos de 10 a ≥ 640 (IC 95 % = 84.7–88.0). No se observó la prevalencia del virus de la lengua azul serotipo 4 (BTV4) en bovinos de São Paulo, donde encontró signos clínicos, lo que indica una infección subclínica y endémica. Los autores concluyeron que el BTV-4 circula ampliamente y de forma silenciosa en São Paulo, favorecido por las condiciones climáticas propicias para los vectores Culicoides, lo que subraya la necesidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica y el control sanitario.

Da Silva *et al.* (2018) determinaron la prevalencia y serotipos del virus de la lengua azul (BTV) en bovinos de 1 598 granjas distribuidas en siete regiones del estado. Se analizó

una muestra por granja mediante ELISA y prueba de neutralización viral (VNT) frente a los serotipos BTV-1 al 24 y 26. Se detectaron anticuerpos contra 11 serotipos, con prevalencias destacadas: BTV-26 (57.0 %), “BTV-2 (31.0 %), BTV-21 (30.7 %), BTV-4 (24.9 %) y BTV17 (23.9 %), mientras que BTV-9 (6.8 %) y BTV-12 (7.5 %) fueron menos frecuentes. El análisis multivariado identificó como factor de riesgo la” entrada de nuevos bovinos al hato (OR = 2.18; IC 95 % 1.62–2.95; p = 0.00). Se concluye que el BTV es endémico en São Paulo, con circulación múltiple de serotipos y que el control sanitario del movimiento de animales es esencial para reducir la diseminación viral.

3.1.2 Antecedentes Nacionales

Escano (2021) al identificar los anticuerpos que destruyen el VLA en caprinos de cinco regiones, encontró que el 34.9 % de caprinos presentaron anticuerpos contra el VLA, en Tumbes se evidenció que el 20.9 % de los caprinos tenía anticuerpos, mientras que en la segunda región fue el 9.5 % y 6 % en la tercera región; evidenció que existe asociación significativa entre la seropositividad en los caprinos mayores de 25 meses de edad y aquellos que fueron criados por los 1000 m s.n.m.

Navarro *et al.* (2019), analizaron 46 muestras de sangre ovina y 1 143 mosquitos *Culicoides* spp. (1 000 hembras de *C. insignis*) mediante IDGA, ELISA competitiva y PCR anidado. Los resultados mostraron 50 % de ovinos positivos por IDGA, 96 % por ELISA, y detección del segmento 7 del VLA (1 070 pb) en un pool de *C. insignis* (1/10; 0.1 %) y una muestra sanguínea (1/15; 6.6 %). Se concluye que existe circulación activa del virus en Pucallpa y que *C. insignis* actúa como vector potencial, destacando la necesidad de fortalecer la vigilancia epidemiológica del VLA en el trópico peruano.

Ramos (2023) determinó la distribución espacial y seroprevalencia del BTV en bovinos de Madre de Dios, Ucayali, Loreto, San Martín y Amazonas. Se analizaron 272 sueros de bovinos mayores de 6 meses mediante ELISA de competición, obteniéndose una seroprevalencia aparente de 70.5 % (IC 95 %: 65.17–76.00) y una corregida de 85.12 % (IC

95 %: 81.89–88.35). La prueba de Chi-cuadrado mostró asociación significativa con la edad ($p = 0.025$) y la altitud ($p < 0.001$). La densidad de kernel evidenció un punto caliente en San Martín, con mayor número de casos en altitudes $< 1\ 000$ m s.n.m. Se concluye que el BTV circula ampliamente en la selva peruana y se recomienda fortalecer la vigilancia y tipificación de serotipos en zonas endémicas.

Santiago (2024) estimó la frecuencia de infección por el virus de la lengua azul (BTV) en bovinos de Alto Biavo y Alto Saposoa, San Martín. Se analizaron 144 muestras sanguíneas (72 por distrito) mediante ELISA de competición (ID Screen®) y RT-PCR en tiempo real (ID Gene™ Duplex). Los resultados mostraron 100 % de seropositividad por ELISA y frecuencias de infección del 18.06 % en Alto Biavo y 22.22 % en Alto Saposoa por RT-PCR, sin diferencia significativa ($p = 0.533$). Se halló asociación significativa con la edad ($p < 0.001$), siendo la infección mayor en animales menores de 2 años (38.18 %) y con valores Ct más bajos, indicando cargas virales más altas. Se concluye que el BTV circula activamente en San Martín, destacando la necesidad de medidas preventivas en bovinos jóvenes.

Jurado *et al.* (2020) evaluaron 306 ovinos Junín (3 800 m s.n.m.) y 82 ovinos Blackbelly de dos localidades de Junín (600 m s.n.m.) mediante ELISA de competición. Los resultados mostraron 0 % de seropositividad en ovinos Junín y 56.1 % (46/82) en ovinos Blackbelly, con mayor frecuencia en animales de 2–3 años (65.2 %) y hembras (60.4 %). Los autores concluyeron que la altitud elevada limita la presencia del vector Culicoides, mientras que en zonas bajas existe circulación activa del virus, evidenciando un patrón endémico condicionado por la altitud y el clima tropical.

3.2. Bases teóricas

3.2.1. *Virus lengua azul*

El agente etiológico de la enfermedad de lengua azul es un virus, la cual es transmitida por insectos del género Culicoides; este virus pertenece al género Orbivirus, familia Reoviridae (Patel & Roy, 2014). Actualmente hay 26 serotipos reconocidos de VLA en todo el mundo

(Ries *et al.*, 2020). LA ocurre con mayor frecuencia en ovejas de ciertas razas, especialmente las razas europeas de lana fina, y en algunas especies de rumiantes salvajes como el venado cola blanca. La enfermedad también se presenta esporádicamente en bovinos, camélidos sudamericanos e inclusive en carnívoros (Darpel *et al.*, 2009; Jauniaux *et al.*, 2008; Meyer *et al.*, 2009).

La enfermedad de lengua azul no es contagiosa, pero es transmitida por agentes a rumiantes silvestres y domésticos, tales como cabras, ovejas, vacas, ciervos, búfalos, gran parte de especies de camellos y antílopes africanos. El insecto vector de unas pocas especies del género *Culicoides* transmite el virus en rumiantes vulnerables, que se han infectado al alimentarse de animales virémicos. Se han identificado veintiséis (26) serotipos diferentes y la capacidad de cada cepa para causar enfermedades varía considerablemente; no se aprecia riesgo alguno para la salud pública asociado con el virus de lengua azul, ya que el virus no se transmite a través del contacto con lana o animales, o mediante el consumo de leche (Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2021).

Figura 1

Mosquito hembra del género Culicoides



Fuente: Barceló (2023)

3.2.2. *Historia de la lengua azul (LA)*

El VLA en un inicio fue descrita como "Fiebre", "Fiebre palúdica y catarral" o "Catarro epizootico de ovejas" en las descripciones originales de los investigadores de Sudáfrica (Coetzee *et al.*, 2012). El nombre "lengua azul" es la forma inglesa del afrikáans "bloutong", que fue acuñado por los agricultores bóer para describir la lengua cianótica distintiva de algunas ovejas gravemente afectadas. Aunque las descripciones originales escritas de LA se publicaron al finalizar el siglo XIX e inicios del siglo XX, la enfermedad probablemente se reconoció tan pronto como las razas de ovejas europeas de lana fina, en particular la oveja merina, se introdujeron en el sur de África (Maclachlan *et al.*, 2009).

Antes de la década de 1940, se pensaba que LA se limitaba al sur de África. La primera epizootia bien documentada de LA fuera de África ocurrió entre ovejas en Chipre en 1943 (Drew *et al.*, 2010), aunque la enfermedad probablemente había ocurrido allí desde al menos 1924 (Rodríguez *et al.*, 2010). A partir de entonces, VL fue reconocido en los Estados Unidos, la Península Ibérica y Asia, Oriente Medio y el sur de Europa (Maclachlan *et al.*, 2009). En ese momento, se interpretó que el mayor reconocimiento de la LA en regiones del mundo muy separadas; por el siglo XX reflejaba el surgimiento de la enfermedad de su presunto origen ancestral en África (Verwoerd & Erasmus, 2004). Ahora es claramente evidente que la infección por VLA se produce en todas las zonas tropicales, subtropicales y en algunas regiones de clima templado en el mundo. De hecho, el VLA se ha aislado de rumiantes y/o insectos vectores de todos los continentes excepto la Antártida y la distribución mundial del VLA concuerda con la distribución de mosquitos vectores competentes *Culicoides* y las condiciones climáticas adecuadas. Además, diferentes serotipos y cepas de VLA ocurren en diferentes regiones del mundo, frecuentemente concordando con la presencia de distintas especies de insectos agentes de *Culicoides* (Balasuriya *et al.*, 2008; Pritchard *et al.*, 2004; Tabachnick, 2004; Mellor *et al.*, 2000). La enfermedad de LA es poco común o no se reconoce en muchas regiones con infección enzoótica por VLA.

3.2.3. *Distribución mundial actual del VLA*

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, 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 (Mullens *et al.*, 2001; Purse *et al.*, 2008; Wilson *et al.*, 2008; Tabachnick, 2004) . El VLA se ha extendido recientemente por la mayor parte de Europa, donde, hasta aproximadamente 1998, solo ocurrieron anteriormente epizootias esporádicas y transitorias de infección por VLA (Gómez-Tejedor, 2004; Rodríguez *et al.*, 2008; Saegerman *et al.*, 2008). De manera similar, varios serotipos nuevos de VLA se han extendido recientemente hacia el norte desde la cuenca del Caribe para invadir el sureste de los Estados Unidos, donde antes no ocurrían (Johnson *et al.*, 2007), y otros serotipos de VLA han incurrido recientemente en el norte de Australia.

La distribución geográfica de los arbovirus ha recibido una atención considerable después de varios eventos de emergencia dramáticos por todo el mundo; el VLA se encuentra clasificado como una enfermedad de categoría “A” declarada por la “Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE)” y esta es transmitida entre rumiantes a través de picaduras de mosquitos que pertenecen al género *Culicoides*. Aquí, desarrollamos un conjunto completo de datos de ocurrencia para mapear la distribución actual, estimar el nicho ecológico y explorar la distribución potencial futura de VLA a nivel mundial utilizando modelos de nichos ecológicos y basados en diversos escenarios climáticos futuros a partir de modelos de circulación general. El amplio nicho ecológico y la distribución geográfica potencial del VLA en las condiciones actuales, reflejan la distribución de casos de la enfermedad en el mundo en zonas tropicales, subtropicales y templadas. En condiciones climáticas futuras, se predijo que la distribución

potencial de VLA se ampliaría, especialmente en África central, Estados Unidos y Rusia occidental (Samy & Peterson, 2016).

3.2.4. La patogenicidad de VLA

La patogenicidad de la infección por VLA resulta similar en bovinos y ovinos, muy probablemente, en todas las especies de rumiantes (Darpel *et al.*, 2007). Sin embargo, existen marcadas diferencias en la gravedad de la enfermedad que ocurre en diferentes especies o razas de rumiantes después de la infección por VLA, y en la infección de la misma especie o la raza de ovejas con diferentes cepas de virus (Verwoerd & Erasmus, 2004; Thabet & Lajnef, 2024). 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, lugar donde ocurre la replicación inicial (MacLachlan *et al.*, 2015). El virus luego se disemina a varios tejidos por todo el cuerpo, y la replicación se da en células mononucleares fagocíticas y endoteliales de manera principal además de linfocitos y demás células (Saminathan *et al.*, 2020). La viremia está altamente asociada a células y puede ser prolongada pero no persistente en rumiantes domésticos (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 se dan en la misma proporción a la cantidad de cada tipo celular; más detalladamente, el VLA se encuentra asociado de manera cuantitativa más con eritrocitos y plaquetas; pues estas últimas poseen una vida útil corta; en su mayoría el virus se asocia con los eritrocitos finalizando el proceso de infección. La infección ocasionada por VLA de los glóbulos rojos hace fácil el contagio en rumiantes de manera prolongada como la infección causada por “insectos vectores hematófagos” que se alimentan de la sangre de rumiantes y se catalogan como virémicos, así como el virus infeccioso puede co-circular por semanas con diversos anticuerpos neutralizantes (Bonneau *et al.*, 2002; DeMaula *et al.*, 2001; Tessaro & Clavijo, 2001).

El ácido nucleico del VLA puede detectarse mediante la reacción de polimerasa en cadena en la sangre de ganado vacuno y ovino infectados después de que el virus infeccioso ya no pueda identificarse por medio del aislamiento del virus en cultivo celular o la inoculación de ovejas susceptibles (Liu *et al.*, 2016).

3.2.5. Epidemiología y transmisión de la lengua azul

Hay al menos 29 serotipos de VLA en todo el mundo, aunque no todos están en un área geográfica determinada. La distribución del VLA en todo el mundo es paralela a la distribución temporal y espacial de especies de vectores de mosquitos picadores de Culicoides (los únicos transmisores naturales importantes del virus), así como a las temperaturas a las que el VLA se replicará y será transmitido por estos vectores. El ciclo continuo del virus entre vectores Culicoides competentes y rumiantes susceptibles es fundamental para la ecología viral. En los EE. UU., los vectores representativos son *C sonorensis* y *C insignis*, que limitan la distribución del VLA a las regiones del sur y el oeste. En el norte y el este de Australia, el principal vector es *C. brevitarsis*, mientras que en África, el Medio Oriente y sur de Europa, es *C. micola*. En Europa, los principales vectores son especies del complejo *C. obsoletus-dewulfi*. En cada región geográfica, las especies de vectores secundarios pueden adquirir importancia local (Lear, 2022; Lee *et al.*, 2022).

Purse *et al.* (2015), identificaron que la temperatura óptima de transmisión varía entre 15 °C y 25 °C, y que el desarrollo larvario puede alcanzar densidades de hasta 11 000 larvas en 30 mL de sustrato. Concluyeron que los cambios climáticos y de uso del suelo han modificado la distribución de los virus transmitidos por Culicoides, especialmente el BTV en Europa, y que la interacción patógeno-vector-hospedador es dinámica y globalmente influida por el ambiente. Recomiendan integrar modelos matemáticos, genómica y vigilancia ecológica para predecir brotes y diseñar estrategias de control efectivas.

Los vectores se infectan con VLA al absorber sangre de vertebrados infectados; no se ha informado transmisión transovárica. La alta afinidad del virus por células sanguíneas,

especialmente el secuestro de partículas virales en las invaginaciones de las membranas de los glóbulos rojos, contribuye a la viremia prolongada en presencia de “anticuerpos neutralizantes”. La viremia extendida en el ganado bovino (ocasionalmente hasta 11 semanas), así como la preferencia del huésped por el ganado bovino que muestran algunas especies de mosquitos portadores de *Culicoides*, proporciona un mecanismo para la transmisión durante todo el año en rumiantes domésticos en lugares donde el período libre de vectores (es decir en invierno) es relativamente corto. La transmisión mecánica por otros insectos chupadores de sangre es de menor importancia (Lear, 2022; Lee *et al.*, 2022).

La transmisión vectorial a través de *Culicoides spp* es la forma principal de transmisión del VLA. Las concentraciones de virus en secreciones y excreciones son mínimas, lo que hace improbable la transmisión directa, indirecta o por aerosol. Sin embargo, se ha demostrado la transmisión por contacto, del serotipo 26 de VLA en cabras. Se desconoce la importancia de esta forma de transmisión en la ecología de este serotipo. El semen de toros virémicos puede servir como fuente de infección para vacas por medio de inseminación o monta natural. La transferencia de embriones se considera segura, siempre que las donantes no sean virémicas y se utilice un procedimiento de lavado adecuado para los embriones. La transmisión transplacentaria de cepas de campo de VLA de la madre al feto, que conduce al nacimiento de terneros virémicos, sin embargo, la importancia epidemiológica de este mecanismo no está clara, por ello el VLA no es zoonótico (Lear, 2022; Lee *et al.*, 2022).

Las infecciones en bovinos suelen ser subclínicas en zonas endémicas. Estas especies son más propensas a verse afectadas cuando una población ingenua se expone por primera vez al virus de la lengua azul, como durante brotes recientes del serotipo 8 en Europa. Los casos clínicos se asemejan a la enfermedad de las ovejas, pero tienden a ser más suave. Los signos informados en el ganado incluyen inapetencia, letargo, edema submandibular, edema facial, úlceras en la boca o inflamación con vesículas, exceso salivación, secreción nasal, frecuencia respiratoria elevada, edema de las extremidades distales e hiperemia de las coronarias banda

con cojera. Se reportó el hocico de algunos bovinos tener un aspecto agrietado “quemado”. Temperatura corporal a veces era normal. El ganado también puede desarrollar varios cambios en la piel como lesiones que incluyen dermatitis vesicular y ulcerosa, dermatitis periorcular, lesiones necróticas, desprendimiento de piel y fotodermatitis. En algunos casos, la piel puede desarrollar pliegues gruesos y grietas, particularmente alrededor de la cruz y cuello. Lesiones en ubres y pezones, como eritema, úlceras, grietas y lesiones necróticas, se han reportado bovinos y la producción de leche puede disminuir (CFSPH, 2017).

En algunas cabras, fiebre alta y disminución de leche fueron reportadas como el único signo. Los abortos y los mortinatos han reportado en ambas especies, y anomalías congénitas incluyendo lesiones del sistema nervioso central se han observado en recién nacidos pantorrillas. La esterilidad temporal se puede ver en los toros. Las muertes son posible, pero poco común (CFSPH, 2017).

3.2.5.1. Culicoides picaduras de mosquitos

La lengua azul casi siempre se transmite por mosquitos mordedores del género *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) y por lo tanto los brotes dependen en la presencia concomitante de insectos competentes vectores y rumiantes susceptibles. El género *Culicoides* en la actualidad incluye 1300 a 1400 especies (Mellor *et al.*, 2000), pero solo alrededor 30 de ellos son vectores del VLA. Aunque los mosquitos picadores son ubicuos, están más frecuentemente presentes en ambientes cálidos, zonas húmedas y fangosas ricas en materia orgánica y abundante en huéspedes animales de donde pueden alimentarse. Son más activos desde aproximadamente hora antes de ponerse el sol hasta luego salir el sol (Mellor *et al.*, 2000).

El ciclo de vida del mosquito tiene una duración de dos a seis semanas (Veronesi *et al.*, 2010), es directo e involucra un huevo, 04 estadios larvarios, una pupa y adulto; los cuales viven de 10 a 20 días, pero sobreviven hasta 90 días en entornos fríos. Hembras de algunas especies de mosquitos necesitan comer sangre tres a cuatro días antes de la puesta de huevos y

alimentación aproximadamente intervalos de cuatro días; los machos se alimentan del jugo producido por la planta (Erram & Burkett, 2021). Chupando la sangre de rumiantes infectados, los mosquitos adquieren el Virus de Lengua Azul que luego se replica en su tracto digestivo. Luego, el virus de la progenie se libera en el hemocele, donde los órganos diana secundarios, incluidos las glándulas salivales, están infectadas. Posterior a la replicación del virus en las glándulas salivales, la transmisión puede tomar lugar. Todo el ciclo desde la infección hasta la transmisión tarda entre 10 y 15 días a 25 °C y los vectores individuales, una vez infectados, suelen permanecer así de por vida (Paslaru *et al.*, 2018).

La capacidad de los mosquitos que pican para transmitir el virus de lengua azul es marcadamente influenciada por la temperatura ambiental, el aire, humedad y lluvia estacional total. El virus en los vectores puede replicarse a una temperatura superior a 15 °C (Mellor *et al.*, 2000), con la intensidad de replicación creciendo con el aumento de la temperatura. El reciente “calentamiento global” ha permitió una actividad más prolongada de los mosquitos mordedores y, por lo tanto, períodos más largos durante los cuales son capaces de la transmisión. Además, las temperaturas más altas experimentadas recientemente en el norte de Europa han aumentado la competencia de especies autóctonas de *Culicoides* para transmitir. En la zona templada los adultos de mosquitos picadores suelen no sobrevivir a la primera helada y la lengua azul por lo tanto tiene un carácter estacional (Groschupp *et al.*, 2024), con picos de actividad en primavera y otoño. Los mosquitos mordedores se consideran insectos exofágicos y exofilicos (es decir, que se alimentan de animales al aire libre y permanecer fuera, respectivamente), pero algunas especies, como *C. dewulfi* y *C. obsoletus*, son de comportamiento endofágico mostrado (es decir, alimentación en el interior) que aumenta en intensidad con la disminución de la temperatura ambiente (Baldet *et al.*, 2008). Los mosquitos picadores llegan a distancias máximas de casi 02 Km; sin embargo, por su tamaño (de 01 mm a 03 mm) se suelen dejar llevar por el viento de manera fácil hasta por unos 700 km ha sido reportado (Ducheyne *et al.*, 2007).

Los mosquitos están estrechamente relacionados con la crianza de ganado y caballos cuyas pilas de estiércol son criaderos ideales para insectos (Boukraa y otros, 2016). Los mosquitos *C. chiopterus* también son coprófilos y se alimentan preferentemente de ganado y caballos. Ambas especies exhiben un fuerte comportamiento endofágico. En Norteamérica, la especie *C. sonorensis* es conocida como el principal vector del VLA; *C. insignis* se considera menos importante (Garros *et al.*, 2011; Allen *et al.*, 2023). Las especies *C. insignis* y *C. pusillus* actúan como vectores del VLA en América del Sur y Central y *C. brevitarsis*, *C. fulvus*, *C. wadai* y *C. actoni* en Australia (Mellor *et al.*, 2000).

3.2.5.2. Otras formas de transmisión

Los mosquitos picadores son responsables de la transmisión del virus de lengua azul en la mayoría de los casos, pero ocasionalmente algunos otros vectores pueden estar involucrados. Además de mosquitos mordedores, el virus de lengua azul ha sido aislado de algunos artrópodos, por ejemplo, oveja ked (*Melophagus ovinus*) o algunas especies de garrapatas y mosquitos (Bouwknegt *et al.*, 2010). Sin embargo, estos son vectores mecánicos con un papel insignificante en la epidemiología de la enfermedad. El semen de toro también puede transferir el virus, pero puede infectarse sólo cuando el toro es virémico y en caso el semen contenga glóbulos blancos o rojos que se encuentran asociados al virus (Wilson & Mellor, 2008). El paso del VLA a través de la placenta es otro modo de transmisión. Se ha registrado en bovinos, ovejas y en perros (Santman *et al.*, 2010).

Recientemente se ha descrito una vía de transmisión en fetos hasta ahora única en rumiantes; esto involucró la ingesta de placenta de un bovino que fue infectado con VLA, también en un experimento se estudió que fue posible infectar a un ternero recién nacido con Calostro contaminado con VLA. La transmisión con calostro también ha sido reportada, este es el primer informe de VLA o sus ácidos nucleicos presentes de forma natural en calostro. La transmisión oral ha sido descrita en carnívoros y recientemente se ha confirmado

experimentalmente en ratones deficientes en el receptor de interferón tipo 1 (Menzies *et al.*, 2008)

La lengua azul también se puede propagar por virus vivos atenuados vacunas contra VLA, o incluso por vacunas contra otros antígenos contaminados con este mismo virus (Rojas *et al.*, 2021).

3.2.6. Mecanismos potenciales de enfermedad

Se debe enfatizar que gran parte de rumiantes con VLA tienden a desarrollar una enfermedad leve o nula, especialmente en áreas enzoóticas del VLA. Los brotes de LA ocurren típicamente cuando se introducen animales susceptibles (ovejas en particular) en regiones enzoóticas, o cuando el virus se propaga a poblaciones de rumiantes inmunológicamente inocentes en la interfaz de regiones enzoóticas de VLA y libres de VLA. La expresión de la enfermedad de LA, por lo tanto, probablemente refleja una variedad de factores del vector, del medio ambiente, del virus y del huésped. (MacLachlan & Osburn, 2006) (Caporale *et al.*, 2014)

Las ovejas son la especie doméstica más susceptible a la expresión de la enfermedad de LA; sin embargo, existe una variación considerable en la susceptibilidad de las razas individuales (Verwoerd & Erasmus, 2004). Por lo tanto, las ovejas que son nativas de regiones tropicales y subtropicales en el mundo donde el VLA es enzoótico suelen ser resistentes al LA, mientras que las razas europeas de lana fina como el Merino y el Dorset sin cuernos son altamente susceptibles (Coetzee *et al.*, 2012; Veronesi *et al.*, 2010). El estado nutricional, el estado inmunológico y la edad también influyen en la gravedad de la LA en ovejas individuales, al igual que las tensiones ambientales como las altas temperaturas y la radiación ultravioleta (Bianchi *et al.*, 2017).

3.2.7. Signos y Síntomas del Virus de la Lengua Azul

Las lesiones de LA en bovinos han sido particularmente bien descritas entre los animales afectados durante la actual epizootia del serotipo 8 de VLA en Europa, aunque debe enfatizarse que estas lesiones son frecuentemente sutiles (Vercauteren *et al.*, 2008). Las

lesiones que se presentan en el ganado bovino son ulceraciones extensas y graves en la zona del hocico, en pezones y la mucosa oral; produce secreción nasal muco-hemorrágica, rinitis; epífora e inflamación periocular; y edema en extremidades (Fig. 1) (Darpel *et al.*, 2009 a; Elbers *et al.*, 2008; Thiry *et al.*, 2006). Los derrames pleurales, pericárdicos y abdominales aparentemente no son tan característicos de la lengua azul grave en el ganado bovino como en el ovino; sin embargo, los bovinos gravemente afectados desarrollan ocasionalmente un edema pulmonar severo (Vercauteren *et al.*, 2008). La mortalidad reportada de los animales afectados ha sido muy variable, pero a menudo sustancial (Conraths *et al.*, 2009; Szmargd *et al.*, 2007).

Figura 2

Lesiones macroscópicas de lengua azul en bovinos



Fuente: Egido (2008)

Nota. (a) Cabeza: conjuntivitis y secreción nasal.

(b) Narinas: rinitis con ulceración, exudado.

(c) Piel interdigital: ulceración y necrosis.

(D). Glándula mamaria y pezones: exudación y necrosis superficial

El edema corneal severo y transitorio ocurre en algunos terneros que fueron infectados de manera congénita con VLA posterior de amamantar calostro, ello implica que el síndrome podría relacionarse con la deposición de complejos inmunes en los vasos dentro de la cámara anterior (Holzhauer & Vos, 2009). Curiosamente, un síndrome de "ternero de ojo blanco" potencialmente análogo se describió previamente en Oregon en los Estados Unidos y se atribuyó a VLA congénito o infección por el virus de la "enfermedad hemorrágica epizoótica" relacionada; los terneros afectados no prosperaron o nacieron muertos y, a menudo, tenían hidranencefalia (Vercauteren *et al.*, 2008). El edema corneal transitorio pero severo también es una característica de la LA en el bisonte europeo adulto, una especie que es muy susceptible a la infección por el serotipo 8 de VLA (Holzhauer & Vos, 2009).

Infecciones fetales por el VLA y supuesta infección persistente de rumiantes, malformaciones cerebrales inducidas por el VLA en rumiantes fetales (Oliveira *et al.*, 2021), aunque el aborto podría ocurrir en ovejas gestantes afectadas por LA, las primeras descripciones definitivas de la transmisión transplacentaria del VLA se realizaron en California a principios de la década de 1950, luego de la inmunización de ovejas gestantes con una vacuna del serotipo 10 del VLA vivo atenuada y propagada por huevo (van der Suijs *et al.*, 2016). En estudios posteriores, se describieron lesiones de meningoencefalitis necrotizante aguda que progresaban a hidranencefalia y quistes subcorticales en aproximadamente el 20% de los fetos nacidos de ovejas que fueron vacunadas a los 40 días de gestación (Coetzee *et al.*, 2014). De manera similar Saminathan *et al.* (2020), demostraron que mientras que el serotipo 23 de VLA australiano no adaptado no atravesó la placenta de ovejas gestantes, la vacunación de ovejas en el primer trimestre de gestación con una vacuna viva del serotipo 23 de VLA que había sido atenuada por pases de cultivos celulares resultó en una alta incidencia de insuficiencia reproductiva e hidranencefalia en corderos que sobrevivieron hasta el nacimiento.

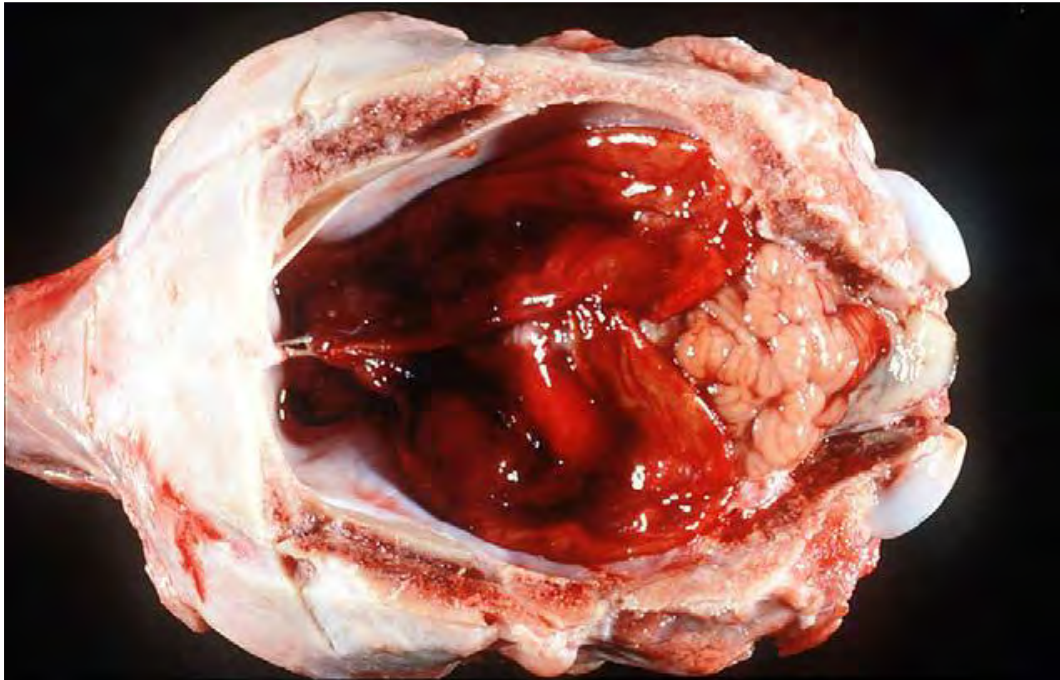
Es claramente evidente que la modificación de cepas de campo de VLA mediante el crecimiento en huevos embrionados o en cultivo celular puede aumentar notablemente su

capacidad para atravesar la placenta y causar infecciones fetales (Kirkland & Hawkes, 2004; MacLachlan & Osburn, 2006). Además, las consecuencias de la infección transplacentaria de los rumiantes fetales, en el caso de los bovinos, depende de la edad fetal en el momento de la infección (Maclachlan & Osburn, 2017). Esta exquisita edad de susceptibilidad de los rumiantes fetales a la infección neuro patógena por VLA está relacionada con el desarrollo embriológico del sistema nervioso central, específicamente con la presencia de células progenitoras neuronales y gliales susceptibles dentro de la región subepidérmica del cerebro en desarrollo. Una vez que estas células migran para poblar la sustancia blanca subcortical y la corteza cerebral, son progresivamente menos susceptibles a la citólisis inducida por VLA. (Saminathan *et al.*, 2020)

La ausencia o aparición aparentemente rara de transmisión vertical natural de la mayoría de los serotipos y cepas del VLA investigados hasta la fecha en América del Norte, Australia y Sudáfrica, lo que contrasta notablemente con los hallazgos durante la actual epizootia del serotipo 8 del VLA en Europa (Coetzee *et al.*, 2014). donde la transmisión vertical del virus después de la infección de rumiantes preñadas ocurre con una frecuencia considerable (Vercauteren *et al.*, 2008). Las lesiones cerebrales descritas en terneros que fueron infectados congénitamente con el serotipo 8 de VLA son idénticas a las descritas previamente en terneros infectados de forma natural o experimental con otros serotipos de VLA durante la gestación temprana (Maclachlan & Osburn, 2006; Purse *et al.*, 2008; Vinomack *et al.*, 2019). La importancia epidemiológica, si la hay, de la alta tasa de transmisión vertical del serotipo 8 del VLA en rumiantes en Europa está pendiente de aclaración.

Figura 3

Lesión macroscópica en un ternero infectado



Fuente: Lastre *et al.* (2023)

Nota. Lesión macroscópica en un ternero infectado experimentalmente con el virus de la lengua azul antes de la mitad de la gestación. Hidranencefalia caracterizada por hemisferios cerebrales colapsados, que son sacos fluctuantes llenos de líquido con parénquima mínimo.

Las lesiones en rumiantes infectados con VLA reflejan una lesión mediada por virus en los vasos sanguíneos pequeños. El VLA se replica en las células endoteliales, provocando lesión celular, necrosis y provocando trombosis vascular, infarto tisular y hemorragia (Mayo *et al.*, 2020; Darpel *et al.*, 2007; Verwoerd & Erasmus, 2004). Los venados de cola blanca, que son muy susceptibles al VLA, desarrollan coagulopatía de consumo (coagulación intravascular diseminada - CID) como consecuencia del daño endotelial inducido por VLA (Johnson *et al.*, 2006). La coagulopatía de consumo en ciervos infectados con VLA conduce a diátesis hemorrágica. Por el contrario, la CID no se presentó en ovejas que desarrollaron el VLA fulminante después de una infección experimental, aunque los animales mostraron descensos precipitados en los recuentos de plaquetas que coincidieron con una coagulopatía profunda que se manifestó como hemorragia prolongada y formación de hematomas en los sitios de punción

venosa (Maclachlan & Osburn, 2008). Por lo tanto, es probable que el proceso de lesión endotelial sea más complejo que simplemente dirigir la lesión endotelial citolítica mediada por virus con la CID subsiguiente. De hecho, la infección por VLA de las células endoteliales es relativamente transitoria en los tejidos de las ovejas afectadas, según se detecta mediante el marcaje de inmunofluorescencia, y el marcaje se reduce notablemente aproximadamente 10 días después de la infección (Darpel *et al.*, 2007). Por el contrario, la muerte puede retrasarse hasta 2 semanas o más después de la infección (MacLachlan *et al.*, 2008). A este respecto, la patogenia del VLA fulminante puede ser similar a la de las denominadas fiebres hemorrágicas víricas de los seres humanos, como la enfermedad del Ébola, en la que la lesión y disfunción vascular no se deben necesariamente únicamente a la infección vírica de las células endoteliales. (Verwoerd & Erasmus, 2004)

3.2.8. *Interseccionalidad de la infección por VLA*

Mientras que el VLA se transmite entre rumiantes en zonas tropicales por todo el año, la infección es claramente estacional en las zonas templadas, donde la gran parte de infecciones se dan en los meses de finales de verano y otoño (Verwoerd & Erasmus, 2004) (Kelling, 2007). El término “hibernación”, que se utiliza a menudo para identificar este fenómeno, es engañoso, ya que el VLA infeccioso desaparece en gran medida desde principios del invierno hasta el verano siguiente, pero el mecanismo preciso de esta naturaleza altamente estacional de la infección por VLA sigue estando mal definido, incluido en contribuciones relativas de animales e insectos (Takamatsu *et al.*, 2003; Verwoerd & Erasmus, 2004; Wilson *et al.*, 2008).

Los resultados de la década de 1970 llevan a la hipótesis de que el ganado infectado con VLA en el útero (después de la infección experimental de vaquillas preñadas) sufrió una infección posnatal inaparente, persistente (de por vida) con tolerancia inmune específica al virus infeccioso (Takamatsu *et al.*, 2003). Así, el capítulo actual sobre lengua azul en el “Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (la Organización Internacional de Epizootias)” se basa en la conclusión de que, aunque la

transmisión venérea y congénita del virus puede ocurrir en rumiantes, todavía no existe evidencia convincente de que estos mecanismos son importantes para la perpetuación a largo plazo del virus. La conclusión central de la política reguladora internacional actual es que la infección por VLA de rumiantes fetales y postnatales puede ser prolongada pero no persistente (Maan *et al.*, 2017).

3.3. Bases conceptuales

3.3.1. La prevalencia “P”

Número de casos de enfermedad o atributos relacionados (presencia de anticuerpos o infección) en una determinada población en un tiempo específico sin distinción entre antiguos y nuevos casos.

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

Por ejemplo, si se tiene 20 vacas cojas en un hato de 200 vacas en un día en particular, entonces la prevalencia de cojera en el hato para ese día es de 20/200, es decir, 0,1; lo cual representa una proporción que muestra la probabilidad de que el animal presente alguna enfermedad en un momento determinado. Tal prevalencia toma valores entre 0 y 1 y es adimensional. A veces, se expresa como porcentaje. Por tanto, una prevalencia de 0,1 = 10%. Además, si una enfermedad es rara, su prevalencia se puede expresar como:

$$\frac{\text{Número de casos de enfermedad}}{\text{población en riesgo}} * 10^n$$

Donde n es un número entero que depende de la rareza de la enfermedad. Por tanto, la prevalencia puede expresarse por 10000 habitantes en riesgo (n = 4) o por 1000000 habitantes en riesgo (n = 6) (Thrusfield & Christley, 2018).

Cuando no se especifica el tiempo, la prevalencia generalmente se refiere a la prevalencia puntual; es decir, la cantidad de enfermedad que presenta una determinada población en un tiempo en específico (Thrusfield *et al.*, 2018).

3.3.2. Lengua Azul

Enfermedad viral de rumiantes salvajes y domésticos, transmitida por insectos que pican y caracterizada por fiebre alta, salivación excesiva, hinchazón de la cara y la lengua y cianosis de la lengua (Oliveira *et al.*, 2021).

3.3.3. Anticuerpos

Anticuerpo, es una molécula de naturaleza proteica generada por el sistema inmunitario como mecanismo de defensa ante la detección de agentes extraños (antígenos) (Aziz *et al.*, 2023).

3.3.4. Antígenos

Un antígeno (Ag) es una molécula, grupo funcional, materia particulada extraña o un alérgeno, como el polen, que puede acoplarse a un anticuerpo específico o a un receptor de células. (Stewart, 2012).

3.3.5. Plasma

El plasma es la mayor parte de la sangre y constituye más de la mitad de su contenido total. Cuando se separa del resto de la sangre, el plasma es un líquido de color amarillo claro, el cual en su mayoría está conformado de agua, sales, anticuerpos y enzimas (Mathew *et al.*, 2023).

3.3.6. Sangre

La sangre circula por el sistema vascular de los organismos vertebrados; Su estructura consta de dos componentes principales: el plasma (fracción líquida) y los elementos formes, constituidos por células sanguíneas (eritrocitos y leucocitos) y fragmentos celulares (trombocitos) (Humphry & Armstrong, 2022).

3.3.7. Suero

El suero sanguíneo es el componente líquido que se obtiene después de la coagulación de la sangre y la eliminación de los elementos celulares (eritrocitos, leucocitos y trombocitos)

junto con los factores de coagulación. Este fluido, de apariencia transparente y color amarillento, contiene una mezcla compleja de componentes como electrolitos (solutos inorgánicos), proteínas (incluyendo anticuerpos o inmunoglobulinas), hormonas (mensajeros químicos), nutrientes esenciales y productos de desecho metabólicos. A diferencia del plasma, el suero carece de fibrinógeno y otros factores de coagulación, ya que estos se consumen durante el proceso de coagulación. El suero se utiliza comúnmente en análisis de laboratorio y en investigaciones médicas para estudiar componentes químicos y biológicos de la sangre (Kiseleva *et al.*, 2021).

3.3.8. PCR

La PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, del inglés *Polymerase Chain Reaction*) es un método de biología molecular que permite replicar exponencialmente secuencias específicas de material genético (ADN o ARN) con alta precisión y rapidez (Wages, 2005).

3.3.9. ELISA

ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, en inglés) es una técnica de laboratorio utilizada para detectar y cuantificar sustancias específicas, como antígenos, anticuerpos, proteínas o glicoproteínas, en una muestra biológica (Aydin *et al.*, 2025).

3.3.10. Cronometría dentaria

La estimación de la edad mediante la cronometría dentaria abarca distintas etapas, las cuales se identifican a través de procesos como la erupción, el desgaste, el nivelamiento y la pérdida de los dientes temporales, así como la aparición, desgaste y nivelación de los dientes permanentes, cada uno de estos eventos reflejado por modificaciones evidentes en la arcada de los incisivos (Serrano, 2014).

Tabla 1*Categorización dentaria en bovinos*

Categoría	Edad	Descripción dentaria
Hembra		
Ternera	9 meses	Hasta los ocho incisivos de leche en diferentes estados de desarrollo y desgaste, sin nivelación de los centrales
Vaquilla	10 meses 30 meses	Hembra que no ha tenido partos, nivelamiento de los centrales de leche y caída de los primeros medianos de leche.
Vaquillona	31 meses 52 meses	Hembra con o sin partos, erupción de los primeros medianos permanentes (figura 5) y caída de los extremos de leche.
Vaca adulta	53 meses 96 meses	Erupción de los extremos permanentes y nivelación de los primeros medianos.
Macho		
Ternero	9 meses	Los ocho incisivos de leche en diferentes estados de desarrollo y desgaste, sin nivelación de los centrales.
Torito	10 meses 20 meses	Nivelamiento de los centrales de leche y caída de los centrales de leche
Torete	10 meses 30 meses	Erupción de los primeros medianos permanentes y caída de los extremos de leche
Toro	20 meses	Erupción de los centrales permanentes
Toruno	21 meses	Macho castrado a edad adulta (con características de toro), y posee pinzas que alcanzan su desarrollo completo.
Buey	53 meses	Macho castrado y erupción y emergencia de los extremos permanentes.

Fuente: Luengo et al. (1990)

3.3.11. Raza

Conjunto subespecífico de animales domésticos que presenta rasgos externos específicos y distinguibles, lo que permite diferenciarlos visualmente de otros grupos establecidos dentro de la misma especie (Sierra, 2001).

- **Raza Gyr:** Se originó en el subcontinente indio, específicamente en las regiones de Rasputana, Baroda y las montañas de Gyr. Esta raza ha sido empleada en la formación del ganado Girolando, destacado por su eficiente producción de leche en sistemas de pastoreo (AMCC, 2017).
- **Brown Swiss:** Se trata de una raza de doble propósito con una marcada orientación hacia la producción lechera. Destaca por su buena estructura de ubre, notable capacidad de

adaptación a zonas marginales y ambientes extremos, además de su longevidad y buena conformación en sus extremidades. (German Livestock Association (BRS), 2018)

- **Holstein Frisian:** Según Arévalo (2014), esta raza ha ganado gran reconocimiento a nivel mundial gracias a su elevada producción de leche. Asimismo, destaca por su buena capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas.

3.3.12. Vigor híbrido

El animal híbrido refleja características productivas propias de las razas puras de las cuales proviene (Echeverry *et al.*, 2006).

IV. MÉTODOLOGIA

4.1. UBICACIÓN ESPACIAL

Este estudio se desarrolló en el Centro Poblado de Pillcopata, ubicado en el distrito de Kosñipata (Provincia de Paucartambo, región Cusco), donde se recolectaron muestras de sangre de vacunos. Posteriormente, dichas muestras fueron transportadas al Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco”, de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Agronomía y Zootecnia-UNSAAC, para su análisis respectivo.

4.1.1. *Ubicación política*

- Región : Cusco
- Provincia : Paucartambo
- Distrito : Kosñipata
- Centro Poblado : Pillcopata (Municipalidad Distrital de Kosñipata, 2018)

4.1.2. *Ubicación geográfica*

- Altitud : 485 m s.n.m.
- Coordenadas : 12° 54' 34.8" S, 71° 24' 15.8" W
- Superficie Total : 3,518.4 km² (Municipalidad Distrital de Kosñipata, 2018)

4.1.3. *Limites*

- Por el Norte : Centro Poblado de Salvación
- Por el Sur : Distrito de Paucartambo
- Por el Este : Provincia de Urubamba y Parque de Reserva del Manu
- Por el Oeste : Centro Poblado de Quincemil y Reserva comunal Amaraakaeri.
(Municipalidad Distrital de Kosñipata, 2018)

Figura 4

Mapa del C.P. Pillcopata, provincia la Kosñipata



Fuente: Google earth (2022)

4.1.4. Clima de la zona de estudio

El Centro Poblado de Pillcopata pertenece al piso ecológico de bosque muy húmedo subtropical y bosque pluvial sub tropical Rurarupa, con una altitud de 810 a 1185 m s.n.m., este sector tiene bosques secundarios, produce yuca, arroz, piña, pastos, ganado y aves de corral (Alvarez *et al.*, 2012). La temperatura es de 25 a 30 grados media anual, un clima cálido propio de la selva alta; desde mayo, junio, julio y agosto, y los otros meses la temperatura es constante ni muy frío ni muy caliente, oscila entre los 20 y 30 grados (Martinez, 2017).

4.1.5. Precipitación

La localidad por su diversidad climática, posee un clima húmedo desde el mes de diciembre, enero, febrero, marzo y abril debido a las precipitaciones pluviales continuas en un promedio 190 mm, pero en meses como mayo, junio, julio y agosto las precipitaciones pluviales no son constante fluctúa entre los 90 mm a 130 mm, cuando el calor es intenso. (Municipalidad Distrital de Kosñipata, 2018)

4.2. MATERIALES

4.2.1. Tipo de investigación

- Según su enfoque metodológico, este estudio se clasifica como investigación básica.
- Acorde al alcance, es de tipo descriptivo porque se pretende obtener los resultados de prevalencia mediante porcentajes.
- Por su diseño metodológico, el estudio se clasifica como no experimental y transversal, dado que las variables fueron evaluadas en un único momento temporal, permitiendo su posterior análisis.
- De acuerdo al nivel de medición y análisis de información, se trata de un estudio de tipo cuantitativo.

4.2.2. Población

La población estuvo compuesta por muestras de sangre de vacunos de ambos sexos (macho y hembra), de distintos grupos etarios (vaca, vaquilla, vaquillona, torete y toro) y de las razas Brown Swiss, Holstein, Cebú (raza Gyr) y animales criollos (ganado vacuno propio de la zona), pertenecientes a los criadores del Centro Poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata, de la Provincia de Paucartambo, región Cusco.

4.2.3. Tamaño de muestra

Estuvo conformado por vacunos del Centro Poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata, Provincia de Paucartambo, de la Región Cusco; dicho tamaño de muestra es de tipo no probabilístico por conveniencia. Ya que solo se obtuvo un total de 126 muestras

pertenecientes a 16 productores, que aceptaron y se interesaron en conocer el estatus sanitario de su hato frente a la enfermedad del virus de la lengua azul.

4.2.4. Materiales auxiliares

4.2.4.1. Materiales de campo para la obtención de muestras

- ✓ Ficha clínica
- ✓ Soga
- ✓ Mocheta
- ✓ Mameluco
- ✓ Botas
- ✓ Marcador indeleble
- ✓ Casquete para las agujas vacutainer.
- ✓ Tubos con anticoagulante EDTA
- ✓ Tubos vacutainer con separador de suero
- ✓ Agujas vacutainer de 18G
- ✓ Alcohol de 70°
- ✓ Torundas de algodón
- ✓ Gradillas
- ✓ Cooler refrigerante
- ✓ Baterías de hielo
- ✓ Guantes desechables

4.2.4.2. Equipos de laboratorio

- ✓ Congeladora de -20 °C (Electrolux EU21)
- ✓ Congeladora de -86 °C (Biobase)
- ✓ Incubadora de 26 °C (Jiterbug-4, Boekel)
- ✓ Refrigeradora de 8 °C (LG)
- ✓ Lector de microplacas de ELISA (Biotek EPOCH 2)

- ✓ Equipo PCR en tiempo real (Step One Plus)
- ✓ Cabina de flujo laminar (AirClean)
- ✓ Vortex (GENIE 2)
- ✓ Centrifuga (Nuve 2000)
- ✓ Mini centrifuga (Warning)
- ✓ Cabina de PCR (Biobase)
- ✓ Cabina de PCR (Esco)

4.2.4.3. Instrumentos de laboratorio

- ✓ Micropipetas (1000 μ L)
- ✓ Micropipetas (300 μ L)
- ✓ Micropipetas (10 μ L)
- ✓ Cronómetro
- ✓ Probeta (100 - 1000 μ L)

4.2.4.4. Materiales de laboratorio

- ✓ Tips desechables de 300 μ L
- ✓ Tips desechables con filtro libre de nucleasas de 200 μ L
- ✓ Tips desechables con filtro libre de nucleasas de 10 μ L
- ✓ Tips desechables con filtro libre de nucleasas de 1000 μ L
- ✓ Viales criogénicos de 1.5 ml
- ✓ Pipetas Pasteur desechables
- ✓ Barbijo
- ✓ Gorro
- ✓ Mandil
- ✓ Guantes de Nitrilo
- ✓ Guantes de Latex
- ✓ Agua destilada

- ✓ Agua libre de nucleasas
- ✓ Parafilm
- ✓ Papel absorbente
- ✓ Marcadores
- ✓ Tubos de reacción para PCR (applied biosystems)
- ✓ Microplaca de 96 pocillos para PCR (applied biosystems)
- ✓ Base de soporte para Microplaca de 96 pocillos (applied biosystems)
- ✓ Rack magnético
- ✓ Mandiles PCR
- ✓ Gafas protectoras

4.2.4.5. Reactivos de laboratorio para método ELISA

- ✓ Microplacas sensibilizadas con la proteína VP7
- ✓ Conjugado concentrado (10X)
- ✓ Control negativo
- ✓ Control positivo
- ✓ Diluyente 2
- ✓ Solución de lavado concentrado (20X)
- ✓ Solución de revelación
- ✓ Solución de parada (0.5 M)

4.2.4.6. Reactivos de laboratorio para método RT-qPCR

- a. Kit de RT-qPCR para detectar el ARN del virus Lengua Azul
 - ✓ Mezcla de reacción de amplificación o master mix (Transcriptasa inversa, Taq polymerasa, oligonucleotidos para la detección del virus de la lengua azul y control positivo no diana endógeno).
 - ✓ Control positivo diana
- b. Kit extractor de ARN

- ✓ MagMAX™ CORE Lysis Solution
 - ✓ MagMAX™ CORE Binding Solution
 - ✓ MagMAX™ CORE Wash Solution 1
 - ✓ MagMAX™ CORE Wash Solution 2
 - ✓ MagMAX™ CORE Elution Buffer
 - ✓ MagMAX™ CORE Magnetic Beads
 - ✓ MagMAX™ CORE Proteinase K
- c. Suero sanguíneo 200 µL por cada muestra

4.3. Método

4.3.1. Coordinación con los productores del Centro Poblado de Pillcopata

Para la toma de muestras se realizó las coordinaciones pertinentes con los productores, explicándoles sobre el objetivo de la investigación y de qué forma les beneficia a ellos; habiendo accedido y brindado las facilidades los productores para la recolección de muestras de sangre de sus vacunos.

Figura 5

Coordinación con los productores de Centro Poblado de Pillcopata



4.3.2. Obtención de muestras de sangre.

El procedimiento para la recolección de muestras, fue mediante punción de la vena caudal, antes se desinfectó el área a intervenir con alcohol de 70° y se utilizó tubos vacutainer de 5 ml con anticoagulante EDTA y tubos con separador de suero. Las muestras recolectadas fueron rotuladas y conservadas en un cooler refrigerante con sus respectivas baterías de hielo. Asimismo, se registró los datos de cada animal muestreado (nombre, categoría, sexo, raza y fecha de muestreo) en la ficha clínica. Finalmente, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio Institucional de Investigación de “Sanidad Animal M.V. Atilio Pacheco Pacheco” para su respectivo procesamiento.

Figura 6

Recolección de muestras



4.3.3. Obtención del suero

Las muestras de sangre de vacunos con separador de suero se centrifugaron a 1500 RPM por 10 minutos, al obtener los sueros se vertieron en viales criogénicos de 1.5 ml para luego conservarlo a -20°C y las muestras obtenidas con EDTA (anticoagulante) se colocó en viales criogénicos de 1.5 ml los cuales se almacenaron en Ultracongeladora a una temperatura de -86 °C hasta el momento de la extracción del material genético.

Figura 7

Procesamiento y conservación de las muestras de sangre de vacunos



4.3.4. Metodología de laboratorio.

Se empleó el método de ELISA competitivo para detectar anticuerpos del virus Lengua Azul y RT- q PCR para detectar el genoma del ARN del virus.

4.3.4.1. Descripción del método de ELISA de competición, para detectar anticuerpos del Virus Lengua Azul (VLA).

A. Principio de la prueba

Durante la fase de incubación, la adición de muestras y controles a los pocillos posibilita la formación de complejos inmunes cuando existen anticuerpos específicos contra la proteína VP7. Estos complejos antígeno-anticuerpo ocultan los epítomos de la VP7. Posteriormente, se añade a todos los pocillos un conjugado anti-VP7 marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP), el cual se une específicamente a los epítomos de VP7 que permanecen accesibles, generando así complejos antígeno-conjugado-HRP.

Luego, se eliminó el exceso de conjugado mediante lavados y se incorporó la solución reveladora (TMD), que reacciona con la enzima del conjugado y dio

coloración a los pocillos, estando relacionada con la concentración de anticuerpos presentes en la muestra evaluada.

- Cuando no hay anticuerpos en la muestra, se observa una coloración azul que cambia a amarillo tras la incorporación de la solución de parada.
- Cuando hay anticuerpos en la muestra, no se manifiesta ninguna coloración.

B. Preparación de la solución de lavado y conjugado

Para ello, se requirió llevar la solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente (26 °C) y agitar adecuadamente hasta lograr la disolución completa de los cristales. Posteriormente, se preparó la solución de lavado diluida mezclando la solución concentrada (20X) con agua destilada en una proporción de 1:20.

El conjugado 1X se obtuvo al diluir el conjugado 10X en una proporción de 1:10 utilizando el diluyente 2.

C. Procedimiento de prueba

Todos los reactivos se colocaron en una incubadora a 26 °C antes de su uso y, posteriormente, se homogenizaron adecuadamente utilizando un vórtex.

1. Añadir:

- Se agregaron 50 µL del Diluyente 2 a cada uno de los pocillos.
- 50 µL del control positivo en los pocillos A1 y B1.
- 50 µL del control negativo en los pocillos C1 y D1.
- 50 µL de cada muestra (suero) a analizar en los pocillos restantes.

2. La placa fue cubierta e incubada durante 45 minutos a una temperatura de 26 °C
3. Después de la incubación se distribuyó 100 µL del Conjugado 1X en todos los pocillos.
4. Se cubrió la placa e incubó por 30 minutos a 26 °C.
5. Los pocillos fueron vaciados y lavados por 3 veces con 300 µL de la solución de lavado.
6. Se incorporaron 100 µL de la solución reveladora en cada pocillo, luego se cubrió la placa y se incubó durante 15 minutos a 21 °C en condiciones de oscuridad.

7. Pasado el tiempo de incubación se agregó 100 µL de solución de parada en cada pocillo.
8. Finalmente, se efectuó la lectura de la densidad óptica de cada pocillo de la placa a 450nm de longitud de onda.

D. Validación de prueba

El ensayo se validado si”:

- “La densidad óptica media del control negativo (DOcn) es superior a 0.7”.

$$\text{“DOcn} > 0.700$$

- “El cociente entre los valores promedios de las densidades ópticas del control positivo y negativo (DOcp y DOcn) es inferior a 0.3

$$\text{DOcp/DOcn} < 0.3$$

” (ID.vet-Innovative Diagnostics , 2008).

E. Cálculo de resultados

Se calculó “el porcentaje de competición (S/N %) de cada muestra” de acuerdo a la siguiente formula, como indica:

$$\frac{S}{N} \% = \frac{DOmuestra}{DOcn} \times 100$$

(ID.vet-Innovative Diagnostics , 2008).

F. Interpretación de resultados

- Se consideraron positivos si el valor de S/N % (porcentaje de competición) es inferior a 40 %
- Se consideraron negativos si el valor de S/N % (porcentaje de competición) es mayor o igual a 40 %.

Tabla 2

Interpretación de resultados de ensayo ELISA.

Resultado	Estado
S/N % < 40 %	Positivo
S/N % ≥ 40 %	Negativo

Fuente: (ID.vet-Innovative Diagnostics , 2008).

4.3.4.2. Método para la extracción del material genético del virus Lengua Azul

1. Se marcó LU en un vial criogénico (significa, solución de lisis unión), y se procedió a mezclar 385 µL de MagMAX™ CORE Lisis solución y 385 µL de MagMAX™ CORE Binding solución (por cada muestra).
2. Se marcó PM en un vial criogénico (significa: solución de perlas magnéticas), se mezcló 22 µL de MagMAX™ CORE Magnetic Beads y 11µL de MagMAX™ CORE Proteinasa K (por cada muestra).
3. Se rotularon los viales criogénicos con los números de las muestras correspondientes.
4. Se añadió 30 uL de solución de perlas magnéticas/proteinasa K a cada vial criogénico.
5. Se añadió 200 uL de cada muestra a cada vial criogénico.
6. Se realizó la respectiva mezcla mediante pipeteo de los componentes añadidos a cada vial criogénico y se incubó por 2 minutos a T° ambiente.
7. Se adicionó también 700 uL de solución lisis/unión a cada vial criogénico y se realizó los siguientes procedimientos:
 - a. En un vortex, se agitó a una velocidad moderada durante 3 minutos.
 - b. Luego en un rack magnético, se realizó la captura de las perlas, por 3 minutos.
 - c. Diligentemente se aspiró y descartó todo el sobrenadante sin agitar las

- perlas.
- d. Se retiró los tubos del rack magnético.
8. Se realizó el lavado de las perlas magnéticas con MagMAX™ CORE Wash Solution 1 de la siguiente manera:
- a. Se Adicionó 500 µL de MagMAX™ CORE Wash solution 1 a cada tubo.
 - b. Se agitó en un vortex a una velocidad moderada por 1 minuto.
 - c. Se colocó a un rack magnético para la captura de las perlas por un tiempo de 1 minuto.
 - d. Cuidadosamente se aspiró y descartó todo el sobrenadante sin remover las perlas.
 - e. Se retiró los tubos del rack magnético.
9. Lavado de las perlas con MagMAX™ CORE Wash Solution 2 según el siguiente detalle:
- a. Se adicionó 500 µL de MagMAX™ CORE Wash Solution 2 a cada tubo.
 - b. Se homogenizó en un vortex, agitando a una velocidad moderada por 1 minuto.
 - c. Se puso los tubos en un rack magnético para capturar las perlas, por 1 minuto.
 - d. Cuidadosamente se aspiró y descartó todo el sobrenadante sin remover las perlas.
 - e. Se retiró los tubos del rack magnético.
10. Secado de las perlas.
- a. Se dejó el tubo sin tapan a temperatura ambiente durante 2 minutos con el fin de que el alcohol restante de MagMAX™ CORE Wash Solución 2 se llegue a evaporar.
 - b. Se inspeccionó el tubo, para el caso que quede una solución residual se

quitó con la pipeta, y se dejó el tubo abierto en el rack magnético por otro minuto.

11. Elución de ácidos nucleicos.

- a. El tubo se dejó a temperatura ambiente en un lapso de 2 minutos con el fin de que el alcohol restante de MagMAX™ CORE Wash Solution 2 se evapore.
- b. Se añadió 90 µL de MagMAX™ CORE Elution Buffer pre calentado a 65°C a cada tubo.
- c. Se empleó un vortex, y se agitó vigorosamente en un periodo de 3 minutos, como resultado la muestra se tornó marrón, lo cual indicó que está completa la suspensión de las perlas.
- d. Se empleó un rack magnético para capturar las perlas por 2 minutos.
- e. Se transfirió 90 µL de sobrenadante a un vial criogénico estéril, evitando agitar las perlas, considerando que los ácidos nucleicos purificados se encuentran en el sobrenadante.

Fuente: APPLIED Bioystems (2021)

4.3.4.3. Método de RT - qPCR en tiempo real para la detección cualitativa del ARN viral del VLA.

A. Principio de la prueba

El kit RT-qPCR amplifica una secuencia diana en el genoma del virus de la lengua azul (BTV por sus siglas en inglés). Este kit es un ensayo dúplex, cualitativo, puesto que, Amplifica simultáneamente el ARN diana y el control interno endógeno. Este kit puede ser usado para analizar sangre completa de bovinos, ovinos, o caprinos recolectada en EDTA (ya sea en individual o mezclas de hasta 10 muestras) o muestras de bazo. El kit IDBTV contiene los reactivos que se muestran a continuación:

Tabla 3*Composición del kit de RT- q PCR y condiciones de almacenamiento*

Referencia	Componente	Volumen	Descripción
TPC – BTV	Control positivo diana	550 µL	Virus de BTV inactivado, diluido en una matriz de sangre completa negativa para el virus; liofilizado y calibrado entre 10 y 100 veces el límite de detección del método (MDL).
ARM – BTV	Mezcla de reacción de amplificación	400 µL (2 tubos)	Mezcla de reacción lista para usar que contiene la transcriptasa inversa, la Taq polimerasa, oligonucleótidos para la detección del virus BTV y del control positivo no-diana y endógeno.
NTC – BTV	Control negativo	500 µL	Agua libre de nucleasas o tampón sin plantilla, utilizado para verificar la ausencia de contaminación durante la amplificación.

B. Controles de la extracción y de la amplificación

- **Controles positivos**

Control positivo Diana (TPC-BTV): Este control consiste en BVT inactivado, diluido en una matriz de sangre completa negativa para el virus, calibrado entre 10 y 100 veces el MDL. Permite validar la extracción y amplificación de la diana. Este control se preparó y extrajo de la misma manera que las muestras.

Control positivo no diana endógeno (NTPCen): Este control está presente de manera constitutiva en las células de la muestra a analizar. Su propósito fue validar la lisis celular y la amplificación de un gen no diana. Además, permitió confirmar la presencia de células y proporcionó una indicación sobre la calidad de la muestra.

- **Controles negativos**

Control negativo de la extracción (NEC): Este control se preparó y extrajo de la misma forma que las muestras, y en la PCR no mostró ningún ARN diana; el volumen correspondiente a la muestra fue sustituido por una matriz no reactiva (agua libre de nucleasas).

Control negativo de la amplificación (NAC): Este control contiene 8 μL de mezcla de reacción (ARM- BTV) y 5 μL de agua libre de nucleasas. Este control se incluyó en cada ciclo de corrida de PCR en tiempo real para controlar la presencia de cualquier aerosol contaminante.

C. Procedimiento de amplificación

➤ Preparación de la reacción de amplificación de la RT-q PCR

1. Se preparó un plan experimental para el análisis de las muestras y controles en una plantilla.
2. Se descongeló el kit IDBTV en una gradilla refrigerada hasta llegar a 5°C.
3. Se homogenizó el contenido del tubo ARM-BTV (master mix) en un vortex y se centrifugó brevemente.
4. Se distribuyó los controles y las muestras en los tubos PCR de acuerdo a la ubicación asignada en la plantilla.
 - 5 μL de ARN extraído del TPC-BTV (Control positivo)
 - 5 μL del control negativo (NEC) extraído
 - 5 μL de agua libre de nucleasas (NAC)
 - 5 μL de ARN extraído de las muestras
5. Se calentó el ARN extraído de las muestras y los controles por 3 minutos a 95 °C, con el fin de desnaturalizar el virus ARN bicatenario (también llamado virus dsRNA) de BTV.
6. Inmediatamente después de calentar, se colocó los extractos desnaturalizados en hielo a 5°C.
7. Seguidamente se distribuyó 8 μL de master mix (ARM-BTV) a cada pocillo, haciendo un total de 13 μL de mezcla de reacción.
8. Se cubrió los tubos PCR con sus respectivas tapas, sellándolo correctamente.

9. Se colocó las muestras en el termociclador habiendo realizado la programación previa de la fase de amplificación, tal como se detalla en el ítem D.

D. Programación de la fase de ampliación

1. Se programó el termociclador para detectar los siguientes canales de lectura en cada pocillo.

Tabla 4

Programación del termociclador

Diana	Canal capaz de leer	Quencher o silenciador
Secuencia específica para BTV	FAM	No fluorescente
Secuencia específica de la célula NTPCen	VIC/HEC	No fluorescente

Fuente: ID.vet-Innovative Diagnostics (2008)

2. Se eligió el programa de amplificación estándar de acuerdo a la tabla 4.

Tabla 5

Programas de amplificación

Paso	Programa estandar	Numero de ciclos
(1) Transcripción de inversa	10 min a 45 °C	1
(2) Activación de la polimerasa	10 min a 95 °C	1
(3) Desnaturalización del ARN	15 s a 95 °C 60 s a 60 °C	40

Fuente: ID.vet-Innovative Diagnostics (2008).

E. Validación e interpretación de resultados

Validación del ensayo

El ensayo se validó de acuerdo con los criterios descritos en la tabla 5:

Tabla 6

Validación de ensayo

Control	Resultado esperado	Criterios de aceptabilidad
TPC-BTV	Detectado en FAM y VIC/HEC	Presencia de una curva característica. Referirse al valor de Cq dado en la ficha de control de calidad del lote correspondiente.
NTPCen	Detectado en VIC/HEC en cada muestra.	Presencia de una curva característica.
NEC	No hay detección si se utiliza agua. Detectado en VIC/HEC si se utiliza una muestra de virus negativa.	Ausencia completa de una curva característica. Presencia de una curva característica.
NAC	No hay detección	Ausencia completa de una curva característica

Fuente: ID.vet-Innovative Diagnostics (2008)

F. Interpretación sugerida de resultados

La interpretación de resultados se realizó de acuerdo a los criterios mostrados en la tabla 6.

Tabla 7

Interpretación de resultado

Muestra	Señal VLA	Señal NTPC	Interpretación
Mezclas	Detectada.	Detectado o no detectada	Al menos un animal de la mezcla es positivo para VLA.
	No detectada	Detectada	Mezcla de muestras negativas.
	No detectada	No detectada	Se produjo un problema durante la distribución de la muestra o el proceso de extracción/ la reacción de PCR fue inhibida.

Fuente: ID.vet-Innovative Diagnostics (2008)

4.4. Análisis estadístico

Para evaluar la posible asociación entre la presencia de anticuerpos contra el virus de lengua azul (VLA) y las variables categóricas evaluadas (origen, raza, categoría y sexo), se aplicó la prueba de Chi-cuadrado de independencia (χ^2) con el SOFTWARE STATA, la cual permite determinar si existe relación estadísticamente significativa entre dos variables cualitativas, para lo cual se estableció un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. En los casos donde el número de observaciones por grupo fue reducido, se aplicó la prueba exacta de Fisher. Los resultados fueron expresados en frecuencias absolutas, porcentajes e intervalos de confianza al 95%.

$$\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Donde:

χ^2 : Estadístico Chi-cuadrado, que mide la diferencia entre los valores observados y esperados

O_i : Frecuencia observada en la celda i de la tabla de contingencia

E_i : Frecuencia esperada en la celda i

Σ : Suma de todas las celdas de la tabla de contingencia

V. RESULTADOS Y DISCUCION

5.1. Prevalencia de anticuerpos contra el virus Lengua Azul en vacunos del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco.

Los resultados cuantitativos de las densidades ópticas (DO) obtenidos mediante el lector ELISA se muestran en la Tabla 8 y 9, de los cuales las posiciones A1 y B1 corresponden a los controles positivos (CP), mientras que las posiciones C1 y D1 corresponden a los controles negativos (CN). El resto de las posiciones representan muestras de suero de los animales evaluados.

Tabla 8

Valores de Densidad Óptica de placa I

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.072	0.055	0.046	0.049	0.048	0.046	0.138	0.044	0.052	0.068	0.075	0.065
B	0.072	0.051	0.045	0.047	0.046	0.051	0.047	0.045	0.054	0.046	0.114	0.053
C	2.155	0.05	0.05	0.047	0.051	0.049	0.049	0.081	0.073	0.055	0.051	0.086
D	2.07	0.055	0.046	0.047	0.046	0.047	0.048	0.094	0.047	0.073	0.046	0.091
E	0.046	0.052	0.047	0.044	0.045	0.045	0.044	0.054	0.055	0.052	0.045	0.056
F	0.059	0.053	0.059	0.052	0.047	0.045	0.047	0.043	0.045	0.051	0.052	1.743
G	0.053	0.049	0.048	0.05	0.044	0.045	0.044	0.092	0.043	0.044	0.052	1.736
H	0.043	0.045	0.068	0.05	0.045	0.046	0.043	0.052	0.047	0.044	0.044	0.053

Tabla 9

Valores de Densidad Óptica de Placa II

	1	2	3	4	5
A	0.075	1.683	0.134	0.214	0.042
B	0.077	0.132	0.073	0.067	0.047
C	1.882	0.063	0.045	0.046	0.043
D	1.92	0.058	0.047	0.043	0.044
E	0.086	0.062	0.043	0.042	0.043
F	1.935	0.056	0.043	0.046	0.044
G	1.89	0.044	0.042	0.044	
H	2.008	0.049	0.043	0.044	

En la tabla 8 y 9, se observa que los controles positivos presentan valores bajos de DO, lo cual se debe a una alta presencia de anticuerpos específicos, ya que estos compiten eficazmente con el conjugado secundario por los sitios de unión, resultando en una menor lectura de densidad óptica.

En contraste, los controles negativos presentan valores elevados de DO, lo cual indica ausencia de anticuerpos específicos en estas muestras, permitiendo que el conjugado secundario se una libremente a los antígenos del VLA en la placa, generando así una señal más alta.

Los resultados del porcentaje de competición (S/N %) se determinaron en función a las DO de los controles y las muestras, los mismos que permiten determinar la presencia o ausencia de anticuerpos frente al VLA (ver tabla 10 y 11).

Tabla 10

Valores de porcentaje (S/N %) de competición de cada muestra de placa I.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	3.423	2.604	2.187	2.31	2.282	2.163	6.538	2.097	2.443	3.238	3.574	3.072
B	3.423	2.395	2.154	2.216	2.178	2.424	2.234	2.116	2.575	2.201	5.387	2.495
C	102.024	2.367	2.353	2.22	2.433	2.32	2.305	3.839	3.461	2.618	2.438	4.048
D	97.976	2.613	2.173	2.239	2.159	2.211	2.249	4.436	2.239	3.465	2.201	4.289
E	2.168	2.448	2.225	2.088	2.13	2.116	2.092	2.552	2.594	2.471	2.121	2.642
F	2.803	2.495	2.788	2.466	2.23	2.111	2.23	2.05	2.145	2.438	2.443	82.534
G	2.49	2.296	2.253	2.367	2.102	2.111	2.078	4.346	2.055	2.107	2.485	82.179
H	2.04	2.14	3.214	2.358	2.121	2.173	2.059	2.448	2.23	2.064	2.069	2.5

Tabla 11*Valores de porcentaje de competición de cada muestra de la placa II*

	1	2	3	4	5
A	3.945	88.554	7.059	11.241	2.209
B	4.05	6.949	3.819	3.54	2.456
C	99.006	3.314	2.378	2.414	2.278
D	100.994	3.051	2.483	2.272	2.293
E	4.55	3.277	2.262	2.215	2.257
F	101.804	2.946	2.257	2.409	2.299
G	99.421	2.33	2.225	2.325	
H	105.639	2.562	2.241	2.335	

En las Tablas 10 y 11, las posiciones C1 y D1 corresponden a los controles negativos (CN) y presentan porcentajes de competencia mayores al 40 %, lo cual confirma la ausencia de anticuerpos específicos en estas posiciones, que permitió la unión libre del conjugado al antígeno, lo cual valida correctamente la sensibilidad y especificidad de la prueba. Por otro lado, los controles positivos (CP) en las posiciones A1 y B1 presentan valores de competición menores a 40 %, ya que los anticuerpos presentes en estas muestras compiten eficazmente con el conjugado por los sitios de unión en el antígeno de la placa, confirmando su alta positividad por la presencia de anticuerpos frente al VLA.

Los resultados cuantitativos se corroboran con los resultados cualitativos evidenciados en los pocillos de la placa ELISA (ver figura 8 y 9). Donde la coloración que resulta en estas placas está vinculada a la cantidad de anticuerpos presentes en las muestras, en ausencia de anticuerpos en la muestra aparece una coloración amarilla y en presencia de anticuerpos no aparece ninguna coloración, así como se muestra en las figuras 8 y 9.

Figura 8

Resultados cualitativos para la detección de anticuerpos contra VLA, placa I

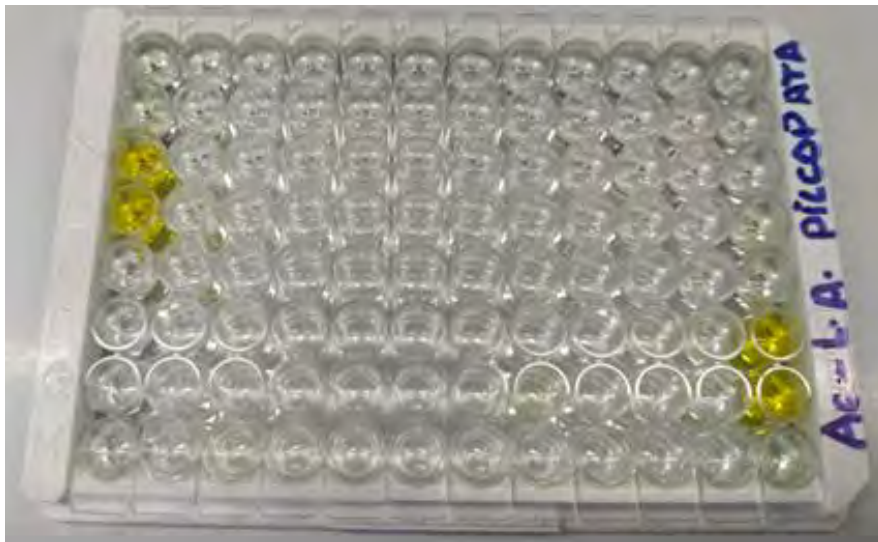


Figura 9

Resultados cualitativos para la detección de anticuerpos contra VLA, placa II

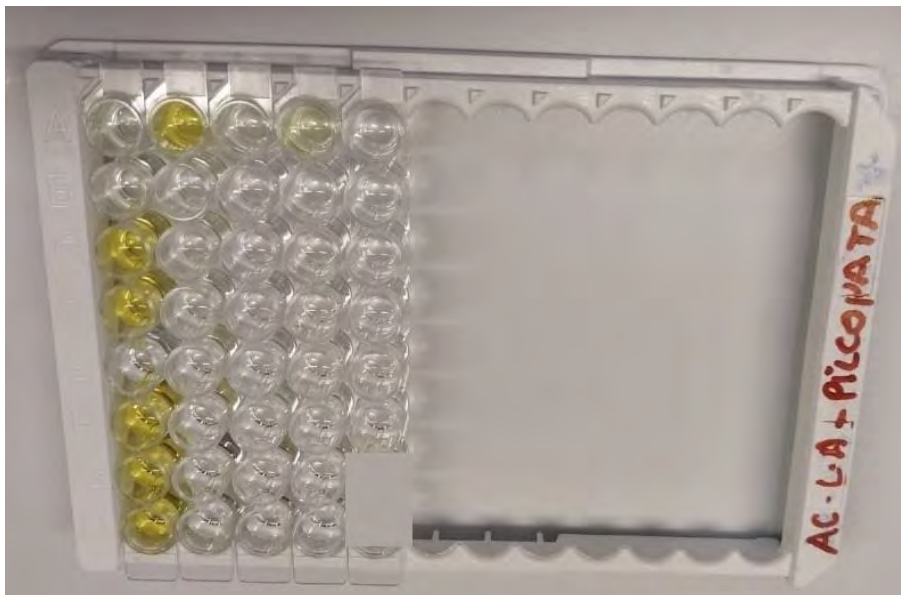


Tabla 12

Seroprevalencia de anticuerpos contra VLA en bovinos del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco, 2022.

Variable	n	Anticuerpos contra VLA			p
		positivo	%	IC 95 %	
Origen					
Anta	6	2	33.33	4.32 – 77.72	<0.001
Pillcopata	116	114	98.27	93.91 – 99.78	
Tarapoto	4	4	100.00	39.76 – 100.00	
Sexo					
Hembra	104	98	94.23	87.86 – 97.85	0.589
Macho	22	22	100.00	84.56 – 100.00	
Categoría					
Torete	18	18	100.00	81.47 – 100.00	0.125
Toro	6	6	100.00	54.07 – 100.00	
Vaquilla	24	20	83.33	62.62 – 95.27	
Vaquillona	22	21	95.46	77.16 – 99.89	
Vaca	55	54	98.18	90.28 – 99.95	
Raza					
Brown Swiss	23	19	82.61	61.22 – 95.05	0.054
Cebú	61	60	98.36	91.20 – 99.95	
Criollo	11	11	100.00	71.51 – 100.00	
Híbrido	18	17	94.44	72.71 – 99.86	
Holstein	13	13	100.00	75.29 – 100.00	
TOTAL	126	120	95.23	89.92 – 98.23	

IC: intervalo de confianza al 95 %, nivel de significancia $p < 0.05$

En la tabla 12, se muestra que la seroprevalencia del VLA en bovinos aparentemente sanos del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco fue de 95.23 % [IC 95 % 89.92 – 98.23 %]. Además, se observó una asociación significativa ($p < 0.001$) entre la frecuencia de anticuerpos contra el VLA y el origen de los bovinos, donde se evidenció una mayor frecuencia en bovinos que procedieron de Pillcopata (98.27 %) y Tarapoto (100 %). Por otro lado, no se evidencia asociación significativa como se muestra en la Tabla 15, entre las variables sexo, categoría y razas con la presencia de anticuerpos contra el virus de LA.

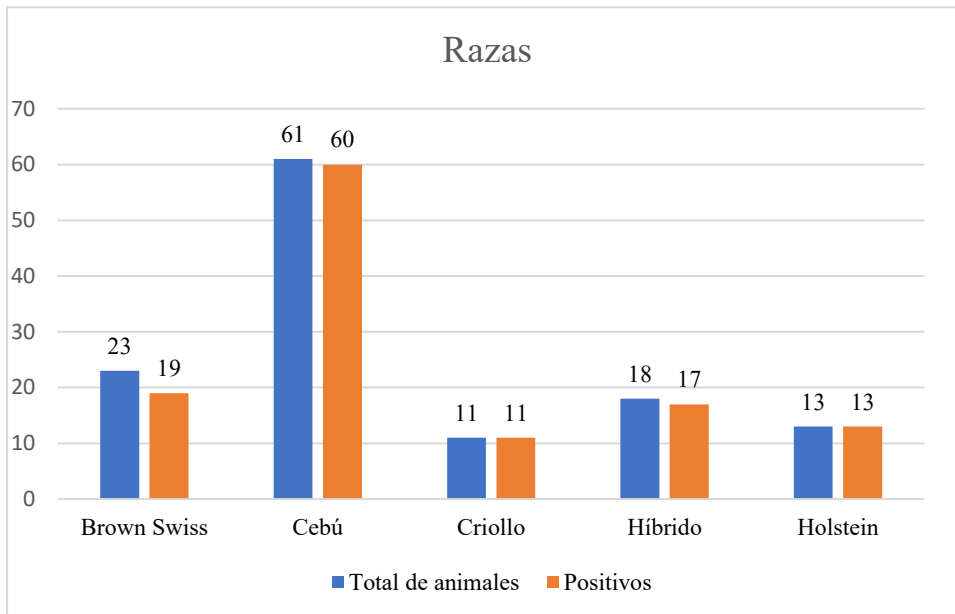
Los resultados son similares a lo obtenido por Ramos (2023), con una seroprevalencia de 70.5 % (IC 95 %: 65.17 – 76.00), en donde se analizaron 272 muestras de suero de bovinos de la región selva (Iquitos, Ucayali, Madre de Dios, San Martín y Amazonas) del Perú. Además,

otros estudios han demostrado una elevada seroprevalencia por encima del 50 % en bovinos y ovinos de la región selva, tal como lo muestran los estudios realizados en Pucallpa por Navarro *et al.* (2019) y en Chanchamayo Junín por Jurado *et al.* (2019); los resultados coinciden debido a que el Parque de reserva del Manu, se caracterizaba por una elevación de 485 m s.n.m., temperatura de 25 a 30 °C, y precipitación de 190 mm, las cuales son consideradas ideales para la circulación del mosquito vector y por tanto del virus, como lo señala Purse *et al.*, (2015), quien indica que los mosquitos del género *Culicoides* mantienen la transmisión del virus en zonas sub tropicales y tropicales del mundo, que en muchas ocasiones son consideradas endémicas.

Los resultados concuerdan con Eschbaumer *et al.* (2012) y Oura *et al.*, (2012), quienes han demostrado la presencia de anticuerpos contra VLA hasta un tiempo de 3 años e incluso durante toda la vida del animal, esto debido a que se mencionó que dichas zonas pertenecen a la región selva, cuyas características medio ambientales permiten la circulación del virus. Por lo que, se evidencio asociación significativa con la variable edad, mostrando una frecuencia del 100 % en animales mayores a 2 años. Investigaciones han demostrado que la edad es un factor de riesgo para la infección/reinfección por VLA pues a mayor tiempo de vida del animal mayor probabilidad de exposición al mosquito vector. Entre algunos estudios que han obtenido similares resultados tenemos los de Ramos *et al.* (2023) en bovinos de la región selva, Escano *et al.* (2021) en cabras de la región norte, y De Campos *et al.*, (2016) en bovinos de Sao Paulo, Brasil que evidenciaron mayor seroprevalencia en animales mayores.

Figura 10

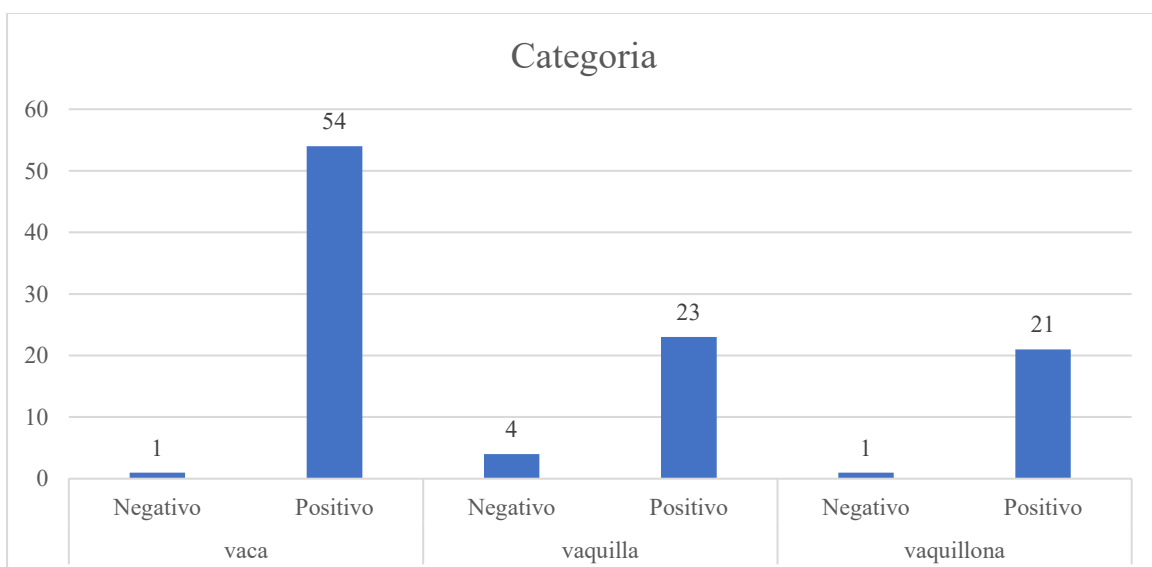
Cantidad de vacunos positivos a anticuerpos contra VLA por raza.



Se observa en la figura 10, que la mayor cantidad de animales positivos fueron de las razas Holstein (n=13, 100 %) y criollos (n=11, 100 %) seguido de la raza Cebú (Gyr) (n=61, 98.36 %) y los híbridos (n=18, 94.44 %).

Figura 11

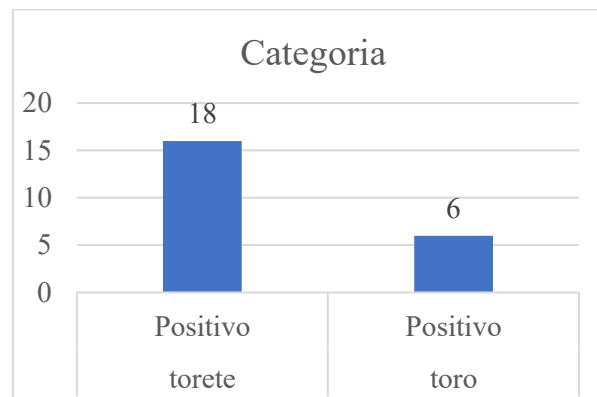
Cantidad de vacunos hembras positivas y negativas a anticuerpos contra VLA.



Se observa en la figura 11, que la mayor cantidad de animales positivos fueron de la categoría vaca (n=55, 98.18 %) que se considera cuando el vacuno tiene su primer parto seguido de las vaquillas y vaquillonas con aproximadamente 20 positivos cada una; por lo que la prevalencia sugiere, las vacas al haber pasado por al menos un parto han estado más tiempo en contacto con factores de riesgo ambientales. Asimismo, las categorías vaquilla y vaquillona mostraron un menor número de casos positivos, lo que podría reflejar una menor exposición al vector.

Figura 12

Cantidad de vacunos machos positivos y negativos a anticuerpos contra VLA.



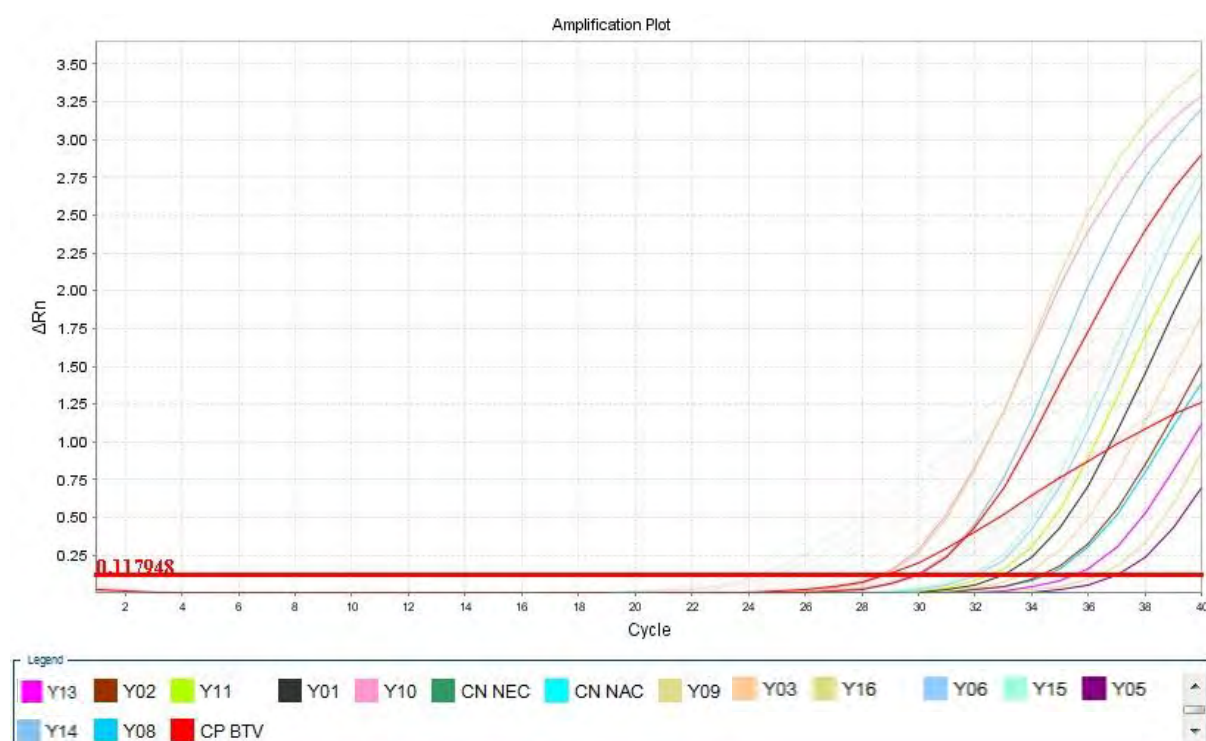
En la figura 12, se muestra que la investigación reveló la presencia de anticuerpos contra VLA en toros (n=6, 100 %) y toretes (n=18, 100 %); podría estar vinculada a una mayor exposición previa o a una respuesta inmunológica detectable en el momento del muestreo.

5.2 Análisis molecular: Prevalencia del genoma ARN de VLA por productor

El análisis molecular trabajado por pooles (mezcla de muestras), evidenció que 13 (81.25 %) de los 16(100 %) productores de vacunos evaluados del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco fueron positivos al genoma del ARN de VLA (Tabla 13), y que la media de los valores de Ct fue de 32.94 con valores tempranos como 28.63, 28.79 y 29.91 correspondiente a los productores 9, 10 y 14 respectivamente (Ver figura 13); estos valores de Ct tempranos podrían estar asociados a una infección reciente por el virus de LA y a animales con sintomatología clínica reciente o silenciosa.

Figura 13

Curvas de amplificación del genoma del VLA de 13/16 productores.



En la figura 13 se muestra una curva de amplificación para el Control positivo Diana (TPC-BTV) asimismo para las 13 muestras pertenecientes a los productores 1,2,3,5,6,8,9,10,11,13,14,15 y 16, que fueron positivos a la presencia del genoma del virus de lengua azul, estos detectados en el canal FAM y VIC. De igual forma se evidencia una curva de amplificación para el control positivo no diana endógena (NTPCen) que se detectó en el

canal VIC. Nuestro resultado indica que en las muestras existe la presencia del genoma del VLA, validando así la veracidad del ensayo. Sin embargo, no se observó ninguna curva característica para el control negativo de extracción (CN-NEC), control negativo de amplificación (CN-NAC) y para las muestras de los productores 4, 7 y 12.

Tabla 13

Valor de ciclo umbral (Ct) de muestras de bovinos positivos en pooles por productor al genoma del virus Lengua Azul del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco.

Identificación del productor	Número de bovinos	PCR-resultado	Ct-value
Productor 1	8	Positivo	32.99
Productor 2	8	Positivo	34.38
Productor 3	8	Positivo	33.69
Productor 4	8	Negativo	N/A
Productor 5	8	Positivo	36.98
Productor 6	10	Positivo	32.08
Productor 7	7	Negativo	N/A
Productor 8	5	Positivo	34.53
Productor 9	6	Positivo	28.79
Productor 10	6	Positivo	28.63
Productor 11	8	Positivo	32.58
Productor 12	7	Negativo	N/A
Productor 13	10	Positivo	35.52
Productor 14	10	Positivo	29.91
Productor 15	8	Positivo	31.84
Productor 16	9	Positivo	36.39
TOTAL: 16	126	13	32.94

Así mismo, los valores de Ct estuvieron ampliamente distribuidos con 3 de ellos por debajo del Ct-value de 30, así como 3 de ellos por encima de 35, mientras que la mayoría (7) estuvo en el rango intercuartílico, lo cual correspondería al 50 % de los casos (Tabla 13); esta dispersión indica que el genoma del virus puede encontrarse en cargas virales de diferentes fases de infección, posiblemente a factores como al momento de la infección, respuesta inmune o tipo de muestra tomada.

Los resultados concuerdan con lo reportado por Santiago (2024), quien menciona la presencia del virus en bovinos de la región de San Martín con un 18.06 % en Alto Biavo y 22.22 % en Alto Saposoa; se evidencia que esta frecuencia obtenida es moderada y representa que el virus está circulando constantemente en la población de animales; esto debido a que el VLA se adhiere a los glóbulos rojos manteniendo una viremia de al menos 90 días favoreciendo su transmisión cuando un mosquito hematófago se alimenta de un hospedero infectado. Da Silva *et al.* (2018) obtuvo una frecuencia de infección similar a lo reportado en un brote de Cérvidos en Brasil de 16.66 % (7/42) los cuales mostraron sinología clínica compatible con VLA. Sin embargo, Rojas *et al.* (2023) realizó su estudio en ovinos, los cuales no mostraron manifestaciones clínicas en México con una frecuencia de 3.75 % (12/320) a VLA por PCR convencional; esta diferencia podría deberse a la técnica empleada, pues el PCR en tiempo real tiene una mayor sensibilidad comparada a PCR convencional.

Estos resultados se alinean a lo reportado en Australia, donde hubo brotes de VLA por el serotipo VLA-16 y se observó una media de Ct: 22.1 (rango 19.02–24.68), y en Dinamarca por el serotipo VLA-8 con una media Ct: 25.46 (rango 22.1- 31.1) (Rasmussen *et al.*, 2010; Gestier *et al.*, 2023). No obstante, hasta la fecha no se han registrado notificaciones oficiales de la enfermedad de lengua azul en la región del Cusco, permaneciendo esta de forma asintomática en el ganado bovino, ovino y caprino. Esta situación podría estar relacionada con el serotipo del virus de la lengua azul (VLA). Por ello, resulta fundamental continuar con estudios y monitoreos serológicos y moleculares para la vigilancia del VLA en zonas que limitan con la región selvática, como el área de Pillcopata, Cusco.

VI. CONCLUSIONES

- Este estudio determino 95.23 % de positivos a la prevalencia de anticuerpos según el estudio serológico y un 81.25 % de positivos al genoma del ARN del virus de lengua azul según el estudio molecular.
- La prevalencia de anticuerpos contra el virus de la lengua azul en vacunos del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco, fue de 95.23 % con (120/126) [IC 95 %: 89.92–98.23 %], con asociaciones significativas según el origen y la categoría, lo que refleja una exposición al virus generando así anticuerpos contra el virus de lengua azul, probablemente debido a la circulación del vector biológico en la zona.
- La prevalencia del genoma (ARN) del virus de la lengua azul en vacunos del centro poblado de Pillcopata, distrito de Kosñipata-Cusco, por productor fue de 81.25 % (13/16), un valor considerable para interpretar que si se encuentra la presencia del genoma ARN del virus de lengua azul en la zona de estudio, pero ni un animal muestreado evidencio sintomatología clínica.

VII. RECOMENDACIONES

El control de las enfermedades transmitidas por vectores es complicado, y una opción es el confinamiento de los animales. Sin embargo, esta medida es difícil de realizar pues el tipo de crianza suele ser extensiva. Para controlar la posible aparición de brotes, es importante el control del movimiento de animales mediante pruebas serológicas y moleculares.

Se debe continuar realizando estudios de VLA en la región a fin de monitorear la época en la cual, la prevalencia del virus de lengua azul baja o incrementan. Además, es recomendable estudiar al vector, realizando muestreos temporales.

Por otro lado, también es importante realizar estudios de serotipificación de VLA para esclarecer por qué no hay evidencia de signos clínicos en animales con alta prevalencia a anticuerpos y al genoma del ARN de VLA.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, A., Curiel, M., Relova, D., & Perera, C. (2020). Virus de la lengua azul: actualización de la situación en las Américas, el Caribe y Cuba. *Revista de Salud Animal*, 42(2), 1-9. <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v42n2/2224-4700-rsa-42-02-e06.pdf>
- AMCC. (2017). Razas cebú. Obtenido de Asociación Mexicana de Criadores de Cebu: <https://www.cebumexico.com/home/index.php/amcc/razas-cebu>
- Allen, S., Vigil, S., Furukawa, T., Colucci, N., Ambagala, A., Pearl, D., Nemeth, N. (2023). Abundance and diversity of *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) in southern Ontario, Canada. *Parasites & Vectors*, 16(201), 1-16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13071-023-05799-w>
- Alvarez, C., Sánchez, S., Rummenhoeller, K., & Zeballos, O. (2012). Guía de estimación de riesgo para el distrito de Kcosñipata, provincia de Paucartambo, Región Cusco. Asociación para la Conservación de la Naturaleza / APECO. Obtenido de <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000225965>
- APPLIED Biosystems. (2021). Sistema de biosistemas aplicados Geneamp PCR 9700 N8050200. 805s2120903. https://ec.ebay.com/b/Applied-Biosystems-Other-Medical-LabEquipment/185256/bn_17650364
- Arenas, A. (2013). Estudio epidemiológico de lengua azul y enfermedad hemorrágica epizootica en ecosistemas mediterráneos del sur de España. Tesis doctoral, Universidad de Córdoba. <https://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/10754/785.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arévalo, F. (2014). Texto básico de ganado de leche. ESPOCH.
- Aydin, S., Emre, E., Akbulut, T., Ugur, K., Aydin, M. A., Sahin, İ., & Cinar, V. (2025). An overview of ELISA: a review and update on best laboratory practices for quantifying

- peptides and proteins in biological fluids. *Journal of International Medical Research*, 53(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.1177/03000605251315913>
- Aziz, M., Iheanacho, F., & Hashmi, M. (01 de Mayo de 2023). *Physiology, Antibody*. National Library of Medicine: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546670/?utm_source
- Balasuriya, U. B. R., Nadler, S. A., Wilson, W. C., Pritchard, L. I., Smythe, A. B., Savini, G., Monaco, F., De Santis, P., Zhang, N., Tabachnick, W. J., & MacLachlan, N. J. (2008). The NS3 proteins of global strains of bluetongue virus evolve into regional topotypes through negative (purifying) selection. *Veterinary Microbiology*, 126(1), 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.07.006>
- Baldet, T., Delecolle, J., Cetre, C., Mathieu, B., & Meiswinkel, R. (2008). Indoor activity of *Culicoides* associated with livestock in the bluetongue virus (BTV) affected region of northern France during autumn 2006. *Preventive Veterinary Medicine* 87, 84–97. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.06.014>
- Barceló, C. (2023). ¿Cómo se transmite el virus de la Lengua Azul? *DCiencia, ciencia para todos*. <https://www.dciencia.es/como-se-transmite-el-virus-de-la-lengua-azul/>
- Bianchi, R., Panziera, W., Faccin, T., Almeida, G. d., Cargnelutti, J., Flores, E., Figuera, R. (2017). Clinical, pathological and epidemiological aspects of outbreaks of bluetongue disease in sheep in the central region of Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, 37(12), 1443-1452. <https://www.scielo.br/j/pvb/a/z3DwgftyzPwtWjRXvXBkXLw/>
- Bonneau, K., Topol, J., Gerry, A., Mullens, B., Velten, R., & MacLachlan, N. (2002). Variation in the NS3/NS3A gene of bluetongue viruses contained in *Culicoides sonorensis* collected from a single site in southern California. *Virus Res.*, 84(1-2), 59-65. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(01\)00415-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/s0168-1702(01)00415-4)
- Boukraa, S., Grandiere, M. d., Bawin, T., Raharimalala, F., Zimmer, J., Haubruge, E., Francis, F. (2016). Diversity and ecology survey of mosquitoes potential vectors in Belgian

- equestrian farms: A threat prevention of mosquito-borne equine arboviruses. *Prev Vet Med*, 1(124), 58-68. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.12.013>
- Bouwknegt, C., Rijn, P. v., Schipper, J., Hölzel, D., Boonstra, J., Nijhof, A., Jongejan, F. (2010). Potential role of ticks as vectors of bluetongue virus. *Exp Appl Acarol.*, 52(2), 183–192. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10493-010-9359-7>
- Caporale, M., Gialleonardo, L. D., Janowicz, A., Wilkie, G., Shaw, A., Savini, G., Palmarini, M. (2014). Virus and Host Factors Affecting the Clinical Outcome of Bluetongue Virus Infection. *Journal of Virology*, 88(18), 10399–10411. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/JVI.01641-14>
- CFSPH. (2023). Bluetongue. www.cfsph.iastate.edu. The Center for Food Security and Public Health. <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/bluetongue.pdf>
- Coetzee, P., Stokstad, M., Myrmel, Mutowembwa, P., Loken, T., Venter, H., & Van Vuuren, M. (2012). Transplacental infection in goats experimentally infected with a European strain of bluetongue virus serotype 8. *Vet J.*, 197(2), 335–341. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.01.005>
- Coetzee, P., Stokstad, M., Venter, E., Myrmel, M., & Vuuren, M. V. (2012). Bluetongue: a historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virology Journal* volume, 9(198), 1-9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/1743-422x-9-198>
- Coetzee, P., Vuuren, M., Venter, E., & Stokstad, M. (2014). A review of experimental infections with bluetongue virus in the mammalian host. *Virus Res.* , 182, 21–34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.044>
- Conraths, F., Gethmann, J., Staubach, C., Mettenleiter, T., Beer, M., & Hoffmann, B. (2009). Epidemiology of bluetongue virus serotype 8, Germany. *Emerging Infectious Diseases*, 15(3), 433-435. doi: <https://doi.org/10.3201/eid1503.081210>
- DeMaula, C., Jutila, M., Wilson, D., & MacLachlan, N. (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(4), 787-794. doi: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-4-787>
- Darpel, E., Monaghan, P., Anthony, J., Takamatsu, H., & Mertens, C. (2009). Chapter 12— Bluetongue virus in the mammalian host and the induced immune response. Academic Press. pp. 265-284.
- Darpel, K., Batten, C., Veronesi, E., Shaw, A., Anthony, S., Bachanek, K., . . . Oura, C. (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. *Veterinary Record*, 161(8), 253-261. <https://doi.org/10.1136/vr.161.8.253>
- Da Silva, G., Lima, S., Spedicato, M., Carmine, I., Teodori, L., Leone, A. & Pituco, M. (2018). Prevalence and risk factors for bluetongue in the State of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary Medicine and Science*, 4(4), 280-287. doi:<https://doi.org/10.1002/vms3.113>
- De Campos, A., Stefano, E. D., Nunes, M., Santos, L. H., Silva, T. d., Heinz, O., Maristela, E. (2016). Prevalence of Bluetongue virus serotype 4 in cattle in the State of Sao Paulo, Brazil. *Veterinaria Italiana*, 52(3-4), 319-323. doi:10.12834/VetIt.570.2721.1
- Drew, C., Heller, M., Mayo, C., Watson, J., & Maclachlan, J. (2010). Bluetongue virus infection activates bovine monocyte-derived macrophages and pulmonary artery endothelial cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 136(3-4), 292-296. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.03.006>
- Ducheyne, E., De Denken, R., Becu, S., & Codina, B. (2007). Quantifying the wind dispersal of *Culicoides* species in Greece and Bulgaria. *Geospatial Health* 2, 177–189. doi: 10.4081/gh.2007.266
- Echeverry, J., Salazar, V., & Múnera, D. (2006). El cruzamiento como estrategia para mejorar la rentabilidad de hatos lecheros. *Revista Lasallista de Investigación*, 3(2), 48-52. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/695/69530209.pdf>

- Egido, F. (2008). Síntomas y lesiones asociados a la Lengua Azul. <http://www.colvet.es/leon/centenario/sintomasLenguaAzul.pdf>
- Eckstein, D., Kunzel, V., Schafer, L., & Wings, M. (2019). Global Climate Risk Index 2020. Who Suffers Most from Extreme Weather Events? Weather-Related Loss Events in 2018 and 1999 to 2018. Germanwatch e.V. Office Bonn. https://germanwatch.org/sites/germanwatch.org/files/20-2-01e%20Global%20Climate%20Risk%20Index%202020_10.pdf
- El Peruano (15 de enero de 2024). Ganado bovino, ovino y caprino en Perú resisten el virus de Lengua Azul. <https://www.elperuano.pe/noticia/233484-ganado-bovino-ovino-y-caprino-en-peru-resisten-el-virus-de-lengua-azul>
- Elbers, 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.06.004>
- Erram, D., & Burkett, N. (2021). Oviposition of *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae) under laboratory conditions with notes on the developmental life history traits of its immature stages. *Parasites & Vectors*, 14(522), 1-9. https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-021-05025-5?utm_source
- Escano, J., Navarro, D., Jurado, J., Ara, M., Mantilla, J., Ramírez, M., & Rivera, H. (2022). Seroprevalencia del virus de Lengua Azul en cabras (*Capra hircus*) de la Región Norte del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 33(6), 1-10. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v33i6.24096>
- Escano, J. A. (2021). Seroprevalencia del virus de Lengua Azul en caprinos de los departamentos del norte: Tumbes, Piura, Lambayeque, La Libertad y Cajamarca. Tesis

de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/17683/Escano_lj.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Eschbaumer, M., Hoffmann, B., König, P., Teifke, J., Gethmann, J., Conraths, F., Beer, M. (2009). Efficacy of three inactivated vaccines against bluetongue virus serotype 8 in sheep. *Vaccine*, 27(31), 4169-4175. doi:<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.04.056>

Garros, C., Gardès, L., Allène, X., Rakotoarivony, I., Viennet, E., Rossi, S., & Balenghien, T. (2011). Adaptation of a species-specific multiplex PCR assay for the identification of blood meal source in *Culicoides* (Ceratopogonidae: Diptera): applications on Palaearctic biting midge species, vectors of Orbiviruses. *Infect Genet Evol*, 11(5), 1103- 1110. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.002>

German Livestock Association (BRS). (2018). Pardo Suizo Alemán. Obtenido de <https://www.asr-rind.de/services/files/rassebroschueren/P-201910-3-1%20BRS%20Broschuere%20Braunvieh%20Spanisch.pdf>

Gestier, S., Finlaison, D., Parrish, K., & Kirkland, P. (2023). The potential for bluetongue virus serotype 16 to cause disease in sheep in New South Wales, Australia. *Australian Veterinary Journal*, 101(12), 510–521. doi:10.1111/avj.13288

Gómez-Tejedor, C. (2004). Brief overview of the bluetongue situation in Mediterranean Europe, 1998-2004. *Veterinaria Italiana*, 40(3), 57-60. Obtenido de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20419636/>

Google earth. (2022). C.P. Pilcopata. <https://earth.google.com/web/search/pilcopatapaucartambo/@-12.46051813,-71.08500527,301.83709477a,524773.19875874d,35y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCcVBAW02SSzAEe8-FHMOZizAGdtjBCE2T1HAISmT9rejVVHA>

- Groschupp, S., Kampen, H., & Werner, D. (2024). Winter activity of Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) inside and outside stables in Germany. *Medical and Veterinary Entomology*, 38(4), 552-565. <https://doi.org/10.1111/mve.12756>
- Holzhauser, M., & Vos, J. (2009). «Blue eyes» in newborn calves associated with bluetongue infection. *The Veterinary Record*, 164(13), 403-404. doi: <https://doi.org/10.1136/vr.164.13.403>
- Humphry, E., & Armstrong, C. (2022). Physiology of red and white blood cells. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 23(2), 118-122. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2021.10.019>
- Hwang, J., Kim, J., & Yeh, J. (2019). Serological evidence of bluetongue virus infection and serotype distribution in dairy cattle in South Korea. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 255. doi: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2000-z>
- ID.vet-Innovative Diagnostics (2008). Prueba IDEXX Bluetongue competition Ab. <https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/laboratorios-sanidadgenetica/referencia-ue/diagnostico/diagnostico-lengua-azul-primer-paso>
- Jauniaux, T., De Clercq, K., Cassart, D., Kennedy, S., Vandebussche, F., Vandemeulebroucke, E., Vanbinst, T., Verheyden, B., Goris, N., & Coignoul, F. (2008). Bluetongue in Eurasian lynx. *Emerging Infectious Diseases*, 14(9), 1496-1498. doi: <https://doi.org/10.3201/eid1409.080434>
- Johnson, D., Ostlund, E., Harris, S., Stallknecht, D., Goekjian, V., & Moore, M. (2006). First Report of Bluetongue Virus Serotype 1 Isolated from a White-Tailed Deer in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18(4), 398-401. <https://doi.org/https://doi.org/10.1177/104063870601800415>
- Johnson, D., Mertens, P., Maan, S., & Ostlund, E. (2007). Exotic bluetongue viruses identified from ruminants in the southeastern US from 1999-2006. *Proc Annu Conf Am Assoc*

- Vet Lab Diagn, 50, 118-120. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC588090989882081/>
- Jurado, J., Navarro, D., Ramírez, M., Santiago, M., & Rivera, H. (2020). Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul en ovinos de dos localidades de Junín, Perú. *Rev Inv Vet Perú*, 31(2), 1-8. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17850>
- Kelling, C. (2007). *Viral Diseases of the Fetus. Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (Second Edition). <https://www.sciencedirect.com/topics/agriculturaland-biological-sciences/bluetongue-virus?>
- Kirkland, P., & Hawkes, R. (2004). A comparison of laboratory and 'wild' strains of bluetongue virus--is there any difference and does it matter? *Veterinaria Italiana*, 40(4), 448-455. https://doi.org/https://www.izs.it/vet_italiana/2004/40_4/448.pdf
- Kiseleva, O., Kurbatov, I., Ilgisonis, E., & Poverennaya, E. (2021). Defining Blood Plasma and Serum Metabolome by GC-MS. *Metabolites*, 12(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/metabo12010015>
- Kundlacz, C., Pourcelot, M., Fablet, A., Amaral, D., & Moraes, R. (2019). Novel function of bluetongue virus NS3 protein in regulation of the MAPK/ERK signaling pathway. *J. Virol*, 39(16), 1-2. <https://doi.org/10.1128/JVI.00336-19>
- Lastre, L., Silva, A. D., Porto, J., & Negrín, M. (2023). Identificación anatomopatológica de la pleuroneumonía contagiosa bovina en la provincia de Huambo, Angola. *Revista Veterinaria Argentina*, 40(424), 1-13. <https://www.veterinariargentina.com/revista/2019/12/identificacionanatomopatologica-de-la-pleuroneumonia-contagiosa-bovina-en-la-provincia-dehuambo-angola/>
- Lear, A. (febrero de 2022). *Bluetongue in Ruminants. Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Tennessee.* Obtenido de

<https://www.msdsvetmanual.com/generalized-conditions/bluetongue/bluetongue-inruminants>

- Lee, J., Kopanke, J., Carpenter, M., Reed, K., Rodgers, C., Burton, M., Perkins, A. (2022). Bluetongue Research at a Crossroads: Modern Genomics Tools Can Pave the Way to New Insights. *Annual Review of Animal Biosciences*, 10 (1), 303-324. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-animal-051721-023724>
- Liu, J., Dai, S., Wang, M., Hu, Z., Wang, H., & Deng, F. (2016). Virus like particle-based vaccines against emerging infectious disease viruses. *Virol Sin.*, 31(4), 279–287. doi:<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12250-016-3756-y>
- Lozano, J. (2015). Identificación e incriminación de potenciales especies de vectores (Diptera: Ceratopogonidae) del virus lengua azul (Orbivirus) en venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y especies de ganado en el estado de Nuevo León, México. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/13654/1/1080238036.pdf>
- Luengo, J., Aros, C., & Gómez, L. (1990). Determinación de la edad del bovino según las características morfológicas de los dientes incisivos. Contribución a la aplicación de la Norma Chilena 1423 of. 84. Terminología y clasificación. *Avances de Medicina Veterinaria*, 5(1), 1-6. Obtenido de https://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/denticion_y_protosis/16-chile.pdf
- Maan, S., Tiwari, A., Chaudhary, D., Dalal, A., Bansal, N., Kumar, V., Batra, K., Kumar, A., Kakker, K., & Maan, S. (2017). A comprehensive study on seroprevalence of bluetongue virus in Haryana state of India. *Veterinary World*, 10(12), 1464-1470. doi:<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1464-1470>
- MacLachlan, J., Mayo, E., Daniels, W., Savini, G., Zientara, S., & Gibbs, P. (2015). Bluetongue. *Rev Sci Tech.*, 34 (2), 329-340. doi: <https://doi.org/10.20506/rst.34.2.2360>

- Maclachlan, N., & Osburn, B. (2017). Teratogenic bluetongue and related orbivirus infections in pregnant ruminant livestock: timing and pathogen genetics are critical. *Curr Opin Virol.*, 27, 31-35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2017.10.002>
- Maclachlan, N., Drew, C., Darpel, K., & Worwa, G. (2009). The Pathology and Pathogenesis of Bluetongue. *Journal of Comparative Pathology*, 141(1), 1-16. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.04.003>
- MacLachlan, N., Crafford, J., Vernau, W., Gardner, I., Goddard, A., Guthrie, A., & Venter, E. (2008). Experimental reproduction of severe bluetongue in sheep. *Veterinary Pathology*, 45(3), 310-315. doi: <https://doi.org/10.1354/vp.45-3-310>
- MacLachlan, N., & Osburn, B. (2006). Impact of bluetongue virus infection on the international movement and trade of ruminants. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(9), 1346-1349. doi: <https://doi.org/10.2460/javma.228.9.1346>
- Maclachlan, J., & Osburn, I. (2008). Induced brain lesions in calves infected with bluetongue virus. *The Veterinary Record*, 162(15), 490-491. doi: <https://doi.org/10.1136/vr.162.15.490-b>
- Maclachlan, N., Zientara, S., Wilson, W., Richt, J., & Sabini. (2019). Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses: recent developments with these globally reemerging arboviral infections of ruminants. *Curr Opin Virrol*, 34, 56-62. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.12.005>
- Malesios, C., Chatzipanagiotou, M., Demiris, N., Kantartzis, A., Chatzilazarou, G., Chatzinikolaou, S., & Kostoulas, P. (2020). A quantitative analysis of the spatial and temporal evolution patterns of the bluetongue virus outbreak in the island of Lesbos, Greece, in 2014. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(5), 2073-2085. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/tbed.13553>

- Martinez, N., Alfonso, A., & Barrera, M. (2011). Primer reporte de bovinos seroreactores al virus lengua azul en Cuba. *Rev Salud Anim.*, 33(2), 131-133. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2011000200011&script=sci_abstract
- Martinez, E. (2017). Centro Poblado de Patria para El Mundo. Obtenido de <https://es.scribd.com/document/372673300/CENTRO-POBLADO-DE-PATRIAPARA-EL-MUNDO>
- Mathew, J., Sankar, P., & Varacallo, M. (04 de Abril de 2023). Physiology, Blood Plasma. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531504/>
- Mayo, C., Stenglein, M., Carpenter, M., McDermott, E., Lee, J., Reed, K., Perkins, T. (2020). Ecological Dynamics Impacting Bluetongue Virus Transmission in North America. *Frontiers*, 7 (186), 1-13. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00186>
- Mellor, S. J., & Baylis, M. (2000). Culicoides biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology*, 45, 307-340. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.307>
- Melville, F., Hunt, T., Davis, S., & Weir, P. (2004). Bluetongue virus does not persist in naturally infected cattle. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 502-507. Obtenido de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20422577/>
- Menzies, D., McCullough, J., McKeown, M., Forster, L., Jess, C., Murchie, K., Pelgrim, W. (2008). Evidence for transplacental and contact transmission of bluetongue virus in cattle. *Vet Rec.*, 163(7), 203–209. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1136/vr.163.7.203>
- Meyer, G., Lacroux, C., Léger, S., Top, S., Goyeau, K., Deplanche, M., & Lemaire, M. (2009). Lethal bluetongue virus serotype 1 infection in llamas. *Emerging Infectious Diseases*, 15(4), 608-610. doi: <https://doi.org/10.3201/eid1504.081514>
- Mullens, A., Gerry, A., Maclachlan, 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*, 38(2), 197–209. doi: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.197>
- Municipalidad Distrital de Kosñipata. (01 de enero de 2018). Plan de Desarrollo Concertado Kosñipata al 2021. Municipalidad Distrital de Kosñipata: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/7842634/6613665-plan-de-desarrollolocal-concertado.pdf?v=1743121773>
- Muñoz, C., Ferreira, S., Sánchez, P., Santander, S., Pérez, M., & Valenzuela, J. (2012). Características psicométricas de una escala para caracterizar la motivación por la lectura académica. *Revista electrónica de investigación educativa*, 14(2), 118-132. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/155/15525013009.pdf>
- Navarro, D., Rojas, M., Jurado, J., & Manchego, A. (2019). Molecular detection of Bluetongue virus in *Culicoides insignis* and sheep of Pucallapa, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 30(1), 465-476. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15690>
- Oliveira, M. d., Vitorino, B., Malegoni, A., Bolsan, T., Cassaro, L., Moscon, L., Marcolongo, C. (2021). Bluetongue Virus Infection in Ruminants: A Review Paper. *Scientific Research An Academic Publisher*, 8 (2), 1-7. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.4236/oalib.1107150>
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2025). Lengua azul . Obtenido de <https://www.woah.org/es/enfermedad/lengua-azul/>
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (15 de Enero de 2021). Lengua azul. Obtenido de <https://www.woah.org/es/enfermedad/lengua-azul/>
- Oura, C., Wood, J., Floyd, T., Sanders, A., Bin, A., Henstock, M., Batten, C. (2010). Colostral antibody protection and interference with immunity in lambs born from sheep

- vaccinated with an inactivated Bluetongue serotype 8 vaccine. *Vaccine*, 28(15), 2749 - 2753. doi:<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.01.028>
- Paslaru, L., Mathis, A., Torgerson, P., & Veronesi, E. (2018). Vector competence of pre-alpine *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) for bluetongue virus serotypes 1, 4 and 8. *Parasites Vectors*, 11 (466), 1-12. doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3050-y>
- Patel, A., & Roy, P. (2014). The molecular biology of Bluetongue virus replication. *Virus Res* (182), 5-20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.017>
- Pioz, M., Guis, H., Crespin, L., Gay, E., Calavas, D., & Durand, B. (2012). Why Did Bluetongue Spread the Way It Did? Environmental Factors Influencing the Velocity of Bluetongue Virus Serotype 8 Epizootic Wave in France. *PLoS ONE*, 7(8), 1-14. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043360>
- Pritchard, L., Sendow, I., Lunt, R., Hassan, S., Kattenbelt, J., Gould, A., Daniels, P., & Eaton, B. (2004). Genetic diversity of bluetongue viruses in south east Asia. *Virus Research*, 101(2), 193-201. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2004.01.004>
- Purse, B., Nedelchev, N., Georgiev, G., Veleva, E., Boorman, J., Denison, E., Mellor, P. (2006). Spatial and temporal distribution of bluetongue and its *Culicoides* vectors in Bulgaria. *Med Vet Entomol*, 20(3), 335 - 344. doi:10.1111/j.1365-2915.2006.00636.x.
- Purse, B., Brown, H., Harrup, L., Mertens, P., & Rogers, D. (2008). 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. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18819670/>
- Purse, B. V., Carpenter, S., Venter, G. J., Bellis, G., & Mullens, A. (2015). Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annual Review of Entomology*, 60(1), 373-392. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020614>

- 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. doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2543>
- Ramos, H. (2023). Distribución espacial y seroprevalencia del virus Lengua Azul en bovinos de los departamentos de la selva del Perú. Tesis para optar al título de Médico Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/6ac8e3cc-a25f-482bac54-9ec5e7186503/content>
- Rasmussen, D., Rasmussen, B., Belsham, J., Strandbygaard, B., & Botner, A. (2010). Bluetongue in Denmark during 2008. *Veterinary Record*, 166(23), 714-718. doi: <https://doi.org/10.1136/vr.b4847>
- Ries, C., Vöggtlin, A., Hüßy, D., Jandt, T., Gobet, H., & Hilbe, M. (2021). Putative Novel Atypical BTV Serotype '36' Identified in Small Ruminants in Switzerland. *Viruses*, 13(5), 721. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/v130507212>.
- Rodríguez, B., Iglesias, I., Martínez, M., & Sánchez, 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. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01029.x>
- Rodríguez, B., Gortázar, C., Ruiz, F., & Sánchez, M. (2010). Bluetongue virus serotypes 1 and 4 in red deer, Spain. *Emerg Infect Dis.*, 16(3), 518-520. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.3201/eid1603.090626>
- Rojas, J., Martín, V., & Sevilla, N. (2021). Vaccination as a Strategy to Prevent Bluetongue Virus Vertical Transmission. *Pathogens*, 10(11), 1528. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/pathogens10111528>

- Rojas, E., Cerón, F., Yáñez, L. A., Gutiérrez, J. L., Sarmiento, E., & Loza, E. (2023). Molecular detection of a fragment of bluetongue virus in sheep from different regions of Mexico. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 14(1), 110-121. doi:<https://doi.org/10.22319/rmcp.v14i1.6014>
- Rosemberg, M. (13 de febrero de 2018). La ganadería bovina en Perú. Obtenido de <https://www.veterinariadigital.com/articulos/la-ganaderia-bovina-en-peru/>
- Santiago, M. (2024). Frecuencia de la infección por el virus de lengua azul en bovinos de dos distritos del departamento de San Martín. Tesis para optar el título de Médico Veterinaria; Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/b3a0fc57-cb45-4bae832b-9dad660a346e/content>
- Saegerman, C., Berkvens, D., & Mellor, P. (2008). Bluetongue Epidemiology in the European Union. *Emerging Infectious Diseases*, 14(4), 539-544. doi: <https://doi.org/10.3201/eid1404.071441>
- Saminathan, M., Pal, K., Hajibhai, J., Dinesh, M., Vineetha, S., Saminathan, M., Dhama, K. (2020). An updated review on bluetongue virus: epidemiology, pathobiology, and advances in diagnosis and control with special reference to India. *Veterinary Quarterly*, 40, 258-321. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1831708>
- Saminathan, M., Pal, K., Hajibhai, J., Dinesh, M., Vineetha, S., Maity, M., Dhama, K. (2020). An updated review on bluetongue virus: epidemiology, pathobiology, and advances in diagnosis and control with special reference to India. *The Veterinary Quarterly*, 40(1), 258–321. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1831708>
- Serrano, J. (2014). Edad y dientes de los bovinos. BM Editores. Obtenido de https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/denticion_y_protesis/36-Edad_y_dientes.pdf

- Sierra, I. (2001). El concepto de raza: Evolución y realidad. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 50, 547-564. doi:https://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/razas_bovinas/48-concepto_de_raza.pdf
- Saminathan, M., Singh, K., Vineetha, S., Maity, M., Biswas, S., Manjunathareddy, G., Mertens, P. (2020). Virological, immunological and pathological findings of transplacentally transmitted bluetongue virus serotype 1 in IFNAR1-blocked mice during early and mid gestation. *Sci Rep.*, 10(1), 2164. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-020-58268-0>
- Stewart, J. (2012). Immunological principles. *Medical Microbiology*. Obtenido de https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/antigen?utm_source
- Samy, A., & Peterson, A. (2016). Climate Change Influences on the Global Potential Distribution of Bluetongue Virus. *PLOS ONE*, 11(3), 1-12. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150489>
- Santman, B., Wuijckhuise, L., Vellema, P., & Van, R. (2010). Vertical transmission of bluetongue virus serotype 8 in Dutch dairy herds in 2007. *Veterinary Microbiology* 141 (1-2), 31–35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.010>
- Singer, R., MacLachlan, N., & Carpenter, E. (2001). Maximal Predicted Duration of Viremia in Bluetongue Virus—Infected Cattle—Randall S. Singer, N. James MacLachlan, 13(1), 43-49. doi: <https://doi.org/10.1177/104063870101300109>
- Sohail, T., Yaqub, T., Abbas, T., Rabbani, M., Nazir, J., Maqbool, S., Yaqub, S., Habib, M., Ul-Rahman, A., Mukhtar, N., Shahbaz, M., Zahoor, M., & Shabbir, M. (2019). Seroprevalence of Bluetongue virus in small and large ruminants in Punjab province, Pakistan. *Acta Tropica*, 189, 22-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.020>

- Szmaragd, C., Wilson, A., Carpenter, S., Mertens, P., Mellor, P., & Gubbins, S. (2007). Mortality and case fatality during the recurrence of BTV-8 in northern Europe in 2007. *The Veterinary Record*, 161(16), 571-572. doi: <https://doi.org/10.1136/vr.161.16.571-e>
- Tabachnick, W. (2004). Culicoides and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Epidemiology and vectors*, 40(3), 144-150. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/43343964_Culicoides_and_the_global_epidemiology_of_Bluetongue_virus_infection
- Takamatsu, H., Mellor, P., Mertens, P., Kirkham, P., Burroughs, J., & Parkhouse, R. (2003). A possible overwintering mechanism for bluetongue virus in the absence of the insect vector. *J. Gen Virol*, 84(1), 227-235. doi: <https://doi.org/10.1099/vir.0.18705-0>
- Tessaro, V., & Clavijo, A. (2001). Duration of bluetongue viremia in experimentally infected American bison. *J Wildl Dis.*, 37(4), 722-729. doi: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-37.4.722>
- Thabet, S., & Lajnef, R. (2024). Potential mechanisms underlying bluetongue virus emergence and spread. *Frontiers in Virology*, 4, 1-10. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fviro.2024.1448192>
- Thiry, E., Saegerman, C., Guyot, H., Kirten, P., Losson, B., Rollin, F., Bodmer, M., Czaplicki, G., Toussaint, J., De Clercq, K., Dochy, J., Dufey, J., Gillemans, J., & Messemann, K. (2006). Bluetongue in northern Europe. *The Veterinary Record*, 159 (10), 327. doi: <https://doi.org/10.1136/vr.159.10.327>
- Thrusfield, M., & Christley, R. (2018). *Veterinary Epidemiology* (4^o edición ed.). Elsevier.
- Van der Suijs, T., de Smit, J., & Moormann, J. (2016). Vector independent transmission of the vector-borne bluetongue virus. *Crit. Rev. Microbiol.*, 42 (1), 57–64. doi: <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.879850>
- Vercauteren, G., Miry, C., Vandenbussche, F., Ducatelle, R., Heyden, S. V.,

- Vandemeulebroucke, E., De Leeuw, I., Deprez, P., Chiers, K., & De Clercq, K. (2008).
Bluetongue virus serotype 8-associated congenital hydranencephaly in calves.
Transbound Emerg Dis., 55(7), 293-298. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01034.x>
- Veronesi, E., Darpel, E., Hamblin, C., Carpenter, S., Takamatsu, H., & Anthony, J. (2010).
Viraemia and clinical disease in Dorset Poll sheep following vaccination with live
attenuated bluetongue virus vaccines serotypes 16 and 4. *Vaccine*, 28 (5), 1397-1403.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.10.107>
- Verwoerd, W., & Erasmus, J. (2004). *Bluetongue*. 2da edición, Oxford Press.
<https://doi.org/CapeT658u7hguown>
- Vinomack, C., Rivière, J., & Breard, E. (2019). Clinical cases of Bluetongue serotype 8 in
calves in France in the 2018-2019 winter. *Transboundary and Emerging Diseases*,
67(3), 1401-1405. doi: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13466>
- Wages, J. (2005). Polymerase chain reaction. *Encyclopedia of Analytical Science*. (pp.243-
250) <https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetarysciences/polymerase-chain-reaction?>
- Wilson, A., Darpel, K., & Mellor, S. (2008). Where Does Bluetongue Virus Sleep in the
Winter? *PLoS Biology*, 6(8), 210. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060210>
- Wilson, A., & Mellor, P. (2008). Bluetongue in Europe: vectors, epidemiology and climate
change. *Parasitology Research*, 103 (1), 69-77. doi: <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1053-x>

ANEXOS

Anexo 1. Operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Indicador	Técnica o medida
Variable dependiente:	- Prevalencia	✓ Presencia del	
Virus de la Lengua azul	serológica	virus	Método ELISA
	- Prevalencia	✓ Ausencia del virus	Método PCR-TR
	molecular	✓ Sospechoso	
Variable Independiente:		✓ Leve +	
✓ Raza		✓ Moderado ++	
✓ Categoría		✓ Grave +++	
✓ Sexo			

Anexo 2. Posición de los controles y las muestras en la placa ELISA, placa I

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CP Control Positivo	SPL5	SPL13	SPL21	SPL29	SPL37	SPL45	SPL53	SPL61	SPL69	SPL77	SPL85
B	CP Control Positivo	SPL6	SPL14	SPL22	SPL30	SPL38	SPL46	SPL54	SPL62	SPL70	SPL78	SPL86
C	CN Control Negativo	SPL7	SPL15	SPL23	SPL31	SPL39	SPL47	SPL55	SPL63	SPL71	SPL79	SPL87
D	CN Control Negativo	SPL8	SPL16	SPL24	SPL32	SPL40	SPL48	SPL56	SPL64	SPL72	SPL80	SPL88
E	SPL1	SPL9	SPL17	SPL25	SPL33	SPL41	SPL49	SPL57	SPL65	SPL73	SPL81	SPL89
F	SPL2	SPL10	SPL18	SPL26	SPL34	SPL42	SPL50	SPL58	SPL66	SPL74	SPL82	SPL90
G	SPL3	SPL11	SPL19	SPL27	SPL35	SPL43	SPL51	SPL59	SPL67	SPL75	SPL83	SPL91
H	SPL4	SPL12	SPL20	SPL28	SPL36	SPL44	SPL52	SPL60	SPL68	SPL76	SPL84	SPL92

Anexo 3. Posición de los controles y las muestras en la placa ELISA, placa I

	1	2	3	4	5
A	CP Control Positivo	SPL97	SPL105	SPL113	SPL121
B	CP Control Positivo	SPL98	SPL106	SPL114	SPL122
C	CN Control Negativo	SPL99	SPL107	SPL115	SPL123
D	CN Control Negativo	SPL100	SPL108	SPL116	SPL124
E	SPL93	SPL101	SPL109	SPL117	SPL125
F	SPL94	SPL102	SPL110	SPL118	SPL126
G	SPL95	SPL103	SPL111	SPL119	
H	SPL96	SPL104	SPL112	SPL120	

Anexo 4. Ejecución de la prueba serológica en laboratorio



Fotografía 01. Organización de las muestras de suero y sangre.



Fotografía 02. Preparación de la solución de lavado.



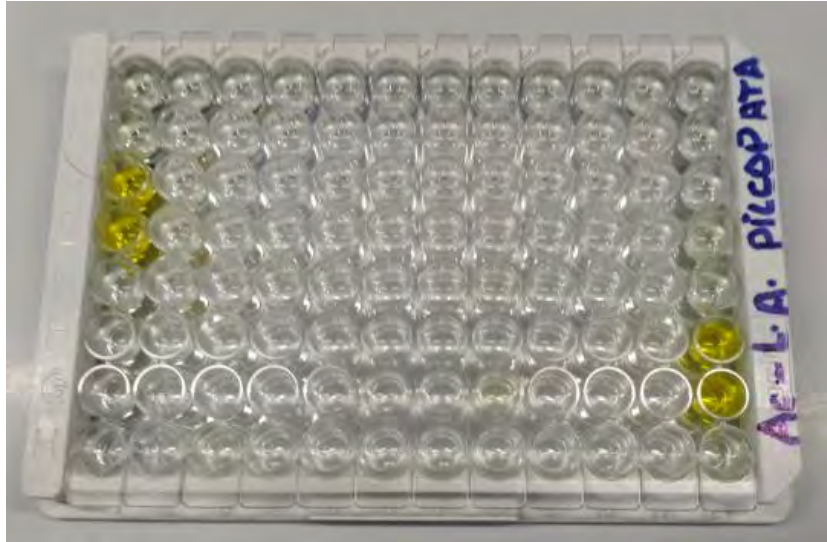
Fotografía 03. Homogenización de las muestras previo al ensayo ELISA.



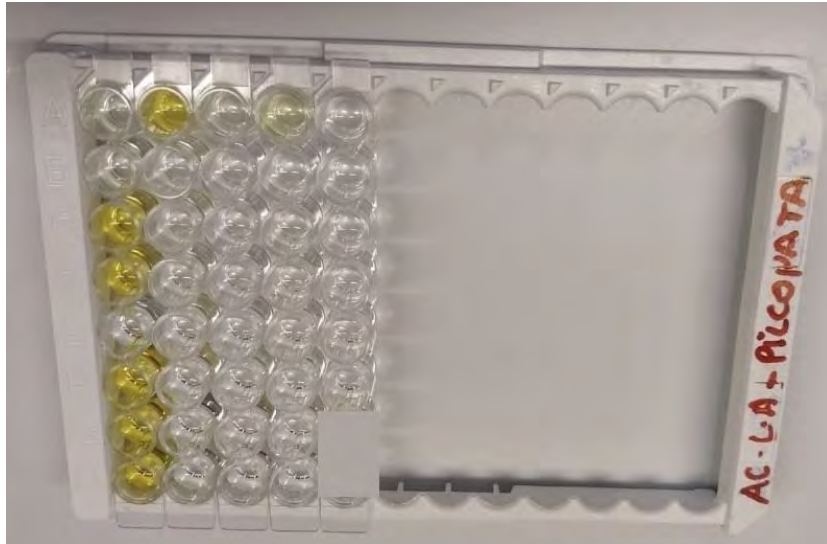
Fotografía 04. Dispensación del tampón de dilución en placa antigenada.



Fotografía 05. Adición de conjugado a los pocillos de la placa ELISA.



Fotografía 06. Coloración de los pocillos de la placa ELISA, placa I.

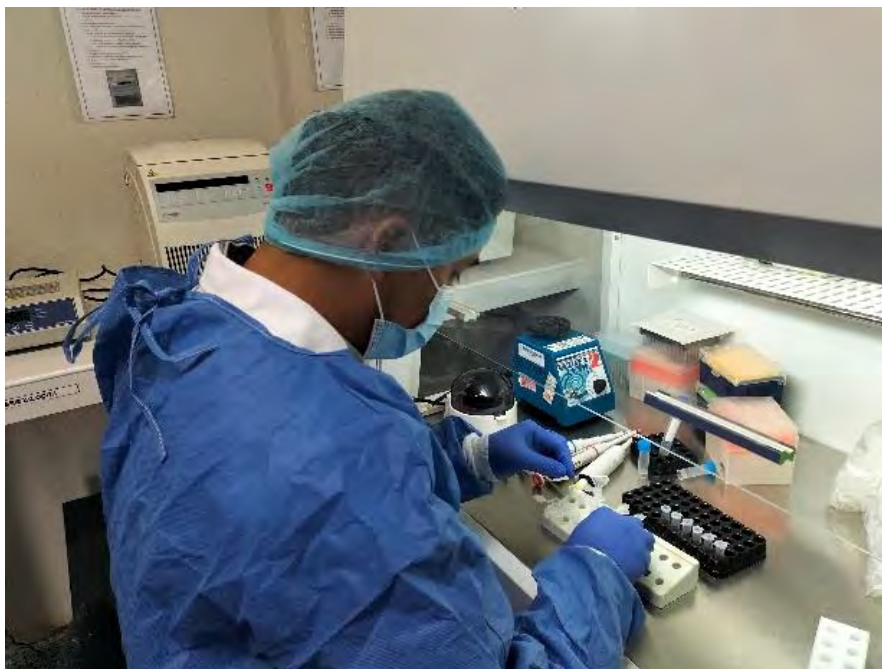


Fotografía 07. Coloración de los pocillos de la placa ELISA, placa II.

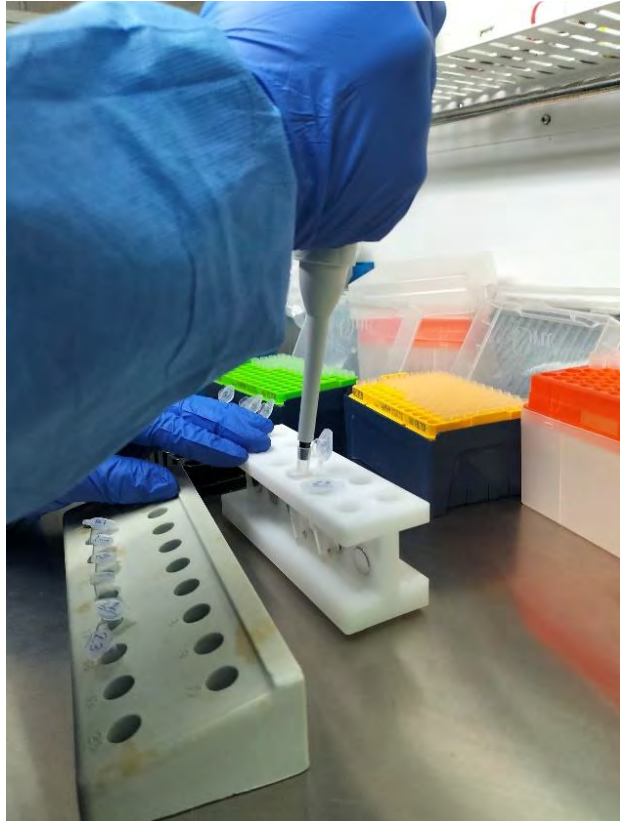


Fotografía 08. Lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro.

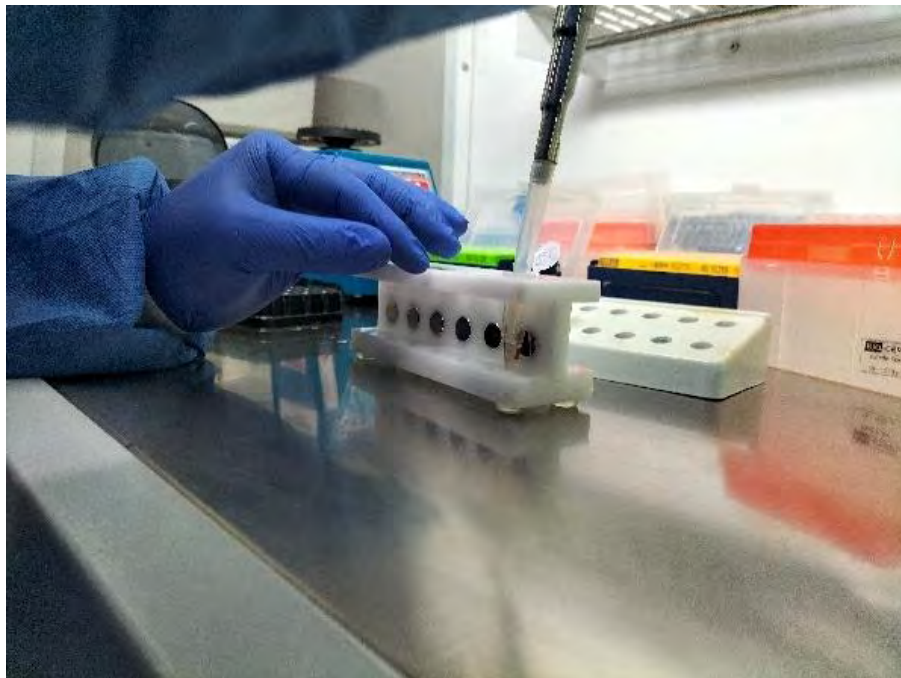
Anexo 3. Ejecución de extracción del material genético para la detección del ARN viral de VLA



Fotografía 09. Preparación y lisis de las muestras de sangre



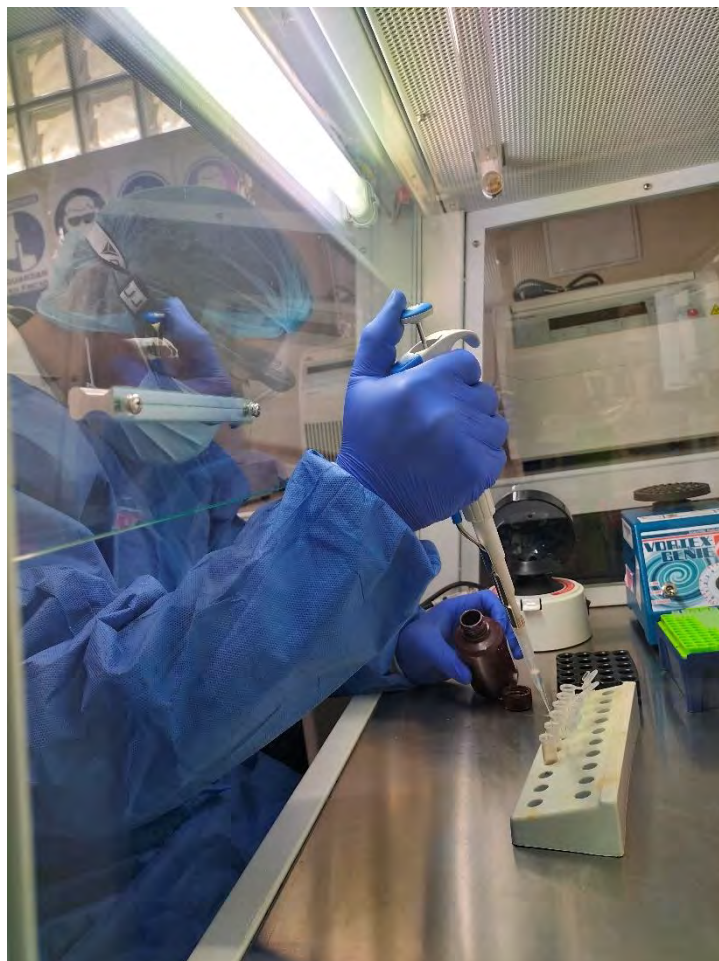
Fotografía 10. Adición de las perlas magnéticas



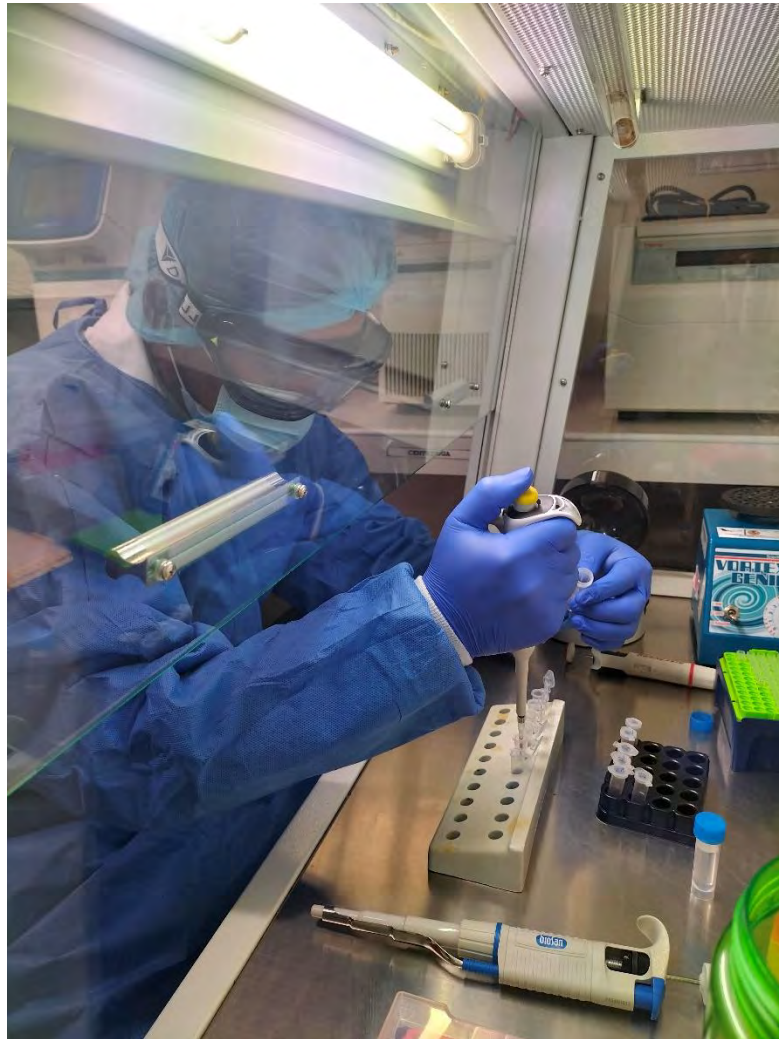
Fotografía 11. Lavado de las perlas y eliminación de buffer de lavado



Fotografía 12. Incubación a temperatura ambiente para el magnetismo



Fotografía 13. Adición del buffer de lavado



Fotografía 14. Adición del buffer de elución.



Fotografía 15. Obtención de los ácidos nucleicos.

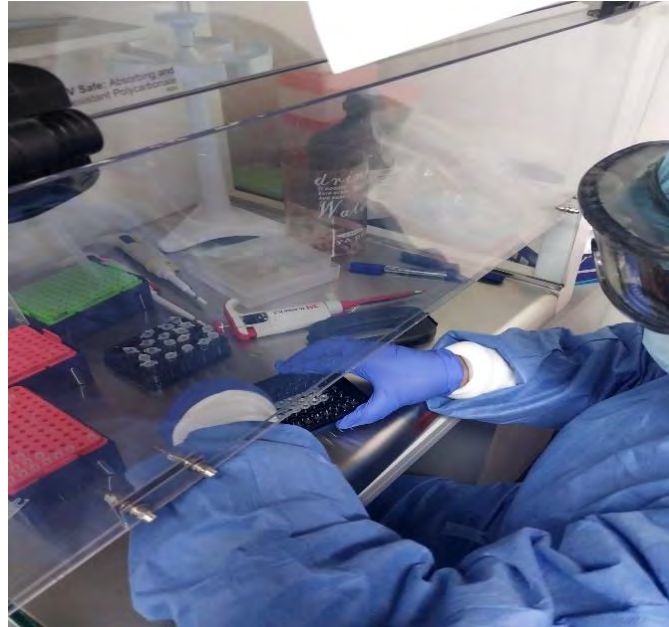
Anexo 4. Preparación de la reacción de amplificación de la RT-q PCR.



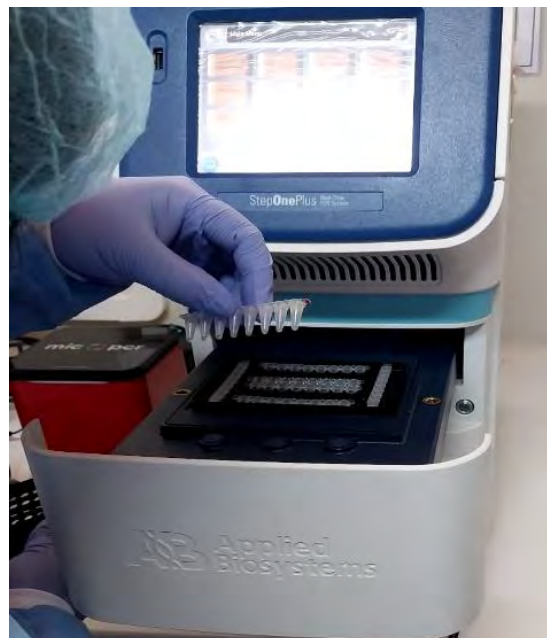
Fotografía 16. Homogenización del tubo ARM-BTV (master mix)



Fotografía 17. Distribución de los controles y las muestras en los tubos de PCR.



Fotografía 18. Tapado y sellado de los tubos de PCR



Fotografía 19. Colocación las muestras en el termociclador habiendo realizado la programación correspondiente.

PLANTILLA ENSAYO PCR

Anexo 05: Ubicación de las muestras de pooles por productor en la placa PCR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D			CP	CN NEC	CN NAC	01	02	03	04	05		
E			06	07	08	09	10	11	12	13		
F			14	15	16							
G												
H												

Anexo 06: Base de datos de las muestras evaluadas para la detección de anticuerpos y genoma del virus de la lengua azul en bovinos del C.P. Pillcopata-Kosñipata.

Fechas de muestreo: 09/02/2023-10/02/2023

N°	Propietario	Nombre/N° de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	N° de partos	Procedencia	Resultado ELISA competitiva para detección de anticuerpos contra el virus de la lengua azul			Resultado de la detección cualitativa del virus de lengua azul (VLA) en RT-qPCR en tiempo real.		
									Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
1	1	Estrella	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.046	2.168	Positivo	8	32.99	Positivo
2		Dominga	Hibrido (Holstein x criollo)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.059	2.803	Positivo			
3		Canela	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaquillon	-	Pillcopata	0.053	2.49	Positivo			
4		Luna	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaquillon	-	Pillcopata	0.043	2.04	Positivo			
5		Maritza	Cebú (raza Gyr)	H	8 años	vaca	3	Tarapoto	0.055	2.604	Positivo			
6		Eyla	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	2	Pillcopata	0.051	2.395	Positivo			
7		Cori	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaca	1	Pillcopata	0.05	2.367	Positivo			
8		Quilla	Cebú (raza Gyr)	H	7 años	vaca	3	Tarapoto	0.055	2.613	Positivo			
9	2	Flor	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	2	Pillcopata	0.052	2.448	Positivo	8	34.38	Positivo
10		Chaska	Cebú (raza Gyr)	H	5 años	vaca	2	Pillcopata	0.053	2.495	Positivo			
11		Blanca	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	2	Pillcopata	0.049	2.296	Positivo			
12		Mimosa	Cebú (raza Gyr)	H	8 años	vaca	3	Pillcopata	0.045	2.14	Positivo			
13		Boni	Cebú (raza Gyr)	H	5 años	vaca	2	Pillcopata	0.046	2.187	Positivo			
14		Cria de Quilla	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.045	2.154	Positivo			
15		Marabilla	Cebú (raza Gyr)	H	8 años	vaca	3	Tarapoto	0.05	2.353	Positivo			
16		Yeni	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	1	Pillcopata	0.046	2.173	Positivo			

N°	Propietario	Nombre/N° de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	N° de partos	Procedencia	Resultado ELISA			Resultado RT-qPCR		
									Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
17	3	Luz	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.047	2.225	Positivo	8	33.69	Positivo
18		Gloria	Holstein	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.059	2.788	Positivo			
19		Cori	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.048	2.253	Positivo			
20		Quinilla	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaquillona	-	Pillcopata	0.068	3.214	Positivo			
21		Capirona	Cebú (raza Gyr)	H	8 años	vaca	3	Tarapoto	0.049	2.31	Positivo			
22		Blanca II	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.047	2.216	Positivo			
23		Dayda	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.047	2.22	Positivo			
24		Dayra	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.047	2.239	Positivo			
25	4	Marron	Criollo	H	2 años	vaquillona	-	Pillcopata	0.044	2.088	Positivo	8	N/A	Negativo
26		Brown mocha	Brown Swiss	H	2 años	vaquillona	-	Pillcopata	0.052	2.466	Positivo			
27		Vaquillona Holstein	Holstein	H	3 años	vaca	-	Pillcopata	0.05	2.367	Positivo			
28		Blanca	Criollo	H	2 años	vaquillona	-	Pillcopata	0.05	2.358	Positivo			
29		Negro	Criollo	M	3 años	toro	-	Pillcopata	0.048	2.282	Positivo			
30		Marron Cachuda	Criollo	H	2 años	vaquillona	-	Pillcopata	0.046	2.178	Positivo			
31		Frente Blanca negra	Criollo	H	1 año	vaquilla	-	Pillcopata	0.051	2.433	Positivo			
32		Manto Rojo	Criollo	H	2 años	vaquillona	-	Pillcopata	0.046	2.159	Positivo			

N°	Propietario	Nombre/N° de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	N° de partos	Procedencia	Resultado ELISA			Resultado RT-qPCR		
									Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
33	5	Pequeño	Holstein	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.045	2.13	Positivo	8	36.98	Positivo
34		Negro Cachudo	Criollo	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.047	2.23	Positivo			
35		Salvaje	Hibrido (Holstein/Criollo)	H	4 años	vaca	1	Pillcopata	0.044	2.102	Positivo			
36		Tofi	Criollo	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.045	2.121	Positivo			
37		Mora Hierro	Hibrido (Gyr/criollo)	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.046	2.163	Positivo			
38		Perci	Holstein	M	1 año	torete		Pillcopata	0.051	2.424	Positivo			
39		Franja Blanca Lucero	Holstein	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.049	2.32	Positivo			
40		Pequeño	Holstein	M	1 año	torete		Pillcopata	0.047	2.211	Positivo			
41	6	Torete Blanco	Criollo	M	1 año	torete		Pillcopata	0.045	2.116	Positivo	10	32.08	Positivo
42		Ternero	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.045	2.111	Positivo			
43		Castaño	Criollo	M	1 año	torete		Pillcopata	0.045	2.111	Positivo			
44		Chato	Brown Swiss	M	1 año	torete		Pillcopata	0.046	2.173	Positivo			
45		Manto Rojo	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.138	6.538	Positivo			
46		Cachos Grandes	Brown Swiss	M	1 año	torete		Pillcopata	0.047	2.234	Positivo			
47		Rojo	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.049	2.305	Positivo			
48		Negrin	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.048	2.249	Positivo			
49		Yon negro	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.044	2.092	Positivo			
50		Lucero	Cebú (raza Gyr)	H	9 meses	ternera		Pillcopata	0.047	2.23	Positivo			

N°	Propietario	Nombre/N° de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	N° de partos	Procedencia	Resultado ELISA			Resultado RT-qPCR		
									Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
51	7	Shantal	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.044	2.078	Positivo	7	N/A	Negativo
52		Maya	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	1	Pillcopata	0.043	2.059	Positivo			
53		Tiklosa	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	1	Pillcopata	0.044	2.097	Positivo			
54		Lumpa	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.045	2.116	Positivo			
55		Blanca	Cebú (raza Gyr)	H	6 años	vaca	2	Pillcopata	0.081	3.839	Positivo			
56		Golondrina	Cebú (raza Gyr)	H	5 años	vaca	2	Pillcopata	0.094	4.436	Positivo			
57		Picchu	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca	1	Pillcopata	0.054	2.552	Positivo			
58	8	13570	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.043	2.05	Positivo	5	34.53	Positivo
59		13565	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.092	4.346	Positivo			
60		13564	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.052	2.448	Positivo			
61		13561	Hibrido (brown Swiss/cebu)	H	2 años	vaquillon		Pillcopata	0.052	2.443	Positivo			
62		Marrona	Brown Swiss	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.054	2.575	Positivo			
63	9	Negra	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.073	3.461	Positivo	6	28.79	Positivo
64		12561	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.047	2.239	Positivo			
65		12563	Cebú (raza Gyr)	H	5 años	vaca		Pillcopata	0.055	2.594	Positivo			
66		12566	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.045	2.145	Positivo			
67		12564	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.043	2.055	Positivo			
68	12562	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaca		Pillcopata	0.047	2.23	Positivo				
69	10	Amanda	Holstein	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.068	3.238	Positivo	6	28.63	Positivo
70		Pasca	Holstein	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.046	2.201	Positivo			
71		Sami	Holstein	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.055	2.618	Positivo			
72		Pluvia	Holstein	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.073	3.465	Positivo			
73		Carmela	Holstein	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.052	2.471	Positivo			
74		12006	Holstein	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.051	2.438	Positivo			

N°	Propietario	Nombre/N° de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	N° de partos	Procedencia	Resultado ELISA			Resultado RT-qPCR		
									Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
75	11	13980	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.044	2.107	Positivo	8	32.58	Positivo
76		Luren	Cebú (raza Gyr)	H	2 Años	vaquillon a		Pillcopata	0.044	2.064	Positivo			
77		13975	Hibrido (Gyr/Brown)	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.075	3.574	Positivo			
78		Marron	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.114	5.387	Positivo			
79		Oreja Partida	Hibrido (Brown/Cebu)	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.051	2.438	Positivo			
80		Amarillo con negro	Hibrido (Brown/Cebu)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.046	2.201	Positivo			
81		13978	Criollo	H	2 años	vaquillon a		Pillcopata	0.045	2.121	Positivo			
82		Blanca cachuda	Cebú (raza Gyr)	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.052	2.443	Positivo			
83	12	Blanca orejuda	Cebú (raza Gyr)	H	2 Años	vaquillon a		Pillcopata	0.052	2.485	Positivo	7	N/A	Negativo
84		Caramelo	Cebú (raza Gyr)	H	2 Años	vaquillon a		Pillcopata	0.044	2.069	Positivo			
85		Marron con blanco	Cebú (raza Gyr)	H	2 Años	vaquillon a		Pillcopata	0.065	3.072	Positivo			
86		Marron mocha	Cebú (raza Gyr)	H	2 Años	vaquillon a		Pillcopata	0.053	2.495	Positivo			
87		Caramelo con 1 cacho	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.086	4.048	Positivo			
88		Negra y Blanca	Cebú (raza Gyr)	H	2 Años	vaquillon a		Pillcopata	0.091	4.289	Positivo			
89		Roja	Holstein	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.056	2.642	Positivo			

Nº	Propietario	Nombre/Nº de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	Nº de partos	Procedencia	Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
90	13	4672	Brown Swiss	H	2 Años	vaquillon a		Anta	1.743	82.534	Negativo	10	35.52	Positivo
91		Yaneli	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Anta	1.736	82.179	Negativo			
92		Luz	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Anta	0.053	2.5	Positivo			
93		13097	Brown Swiss	H	2 Años	vaquillon a		Anta	0.086	4.55	Positivo			
94		Aurora	Brown Swiss	H	6 años	vaca		Anta	1.935	101.80 4	Negativo			
95		Luzmi	Cebú (raza Gyr)	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	1.89	99.421	Negativo			
96		4682	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Anta	2.008	105.63 9	Negativo			
97		30661	Híbrido (Brown/Holstein)	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	1.683	88.554	Negativo			
98		13102	Brown Swiss	H	2 años	vaquillon a		Pillcopata	0.132	6.949	Positivo			
99		13105	Cebú (raza Gyr)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.063	3.314	Positivo			
100	14	13106	Híbrido (Gyr/Brown)	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.058	3.051	Positivo	10	29.91	Positivo
101		13074	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaquillon a		Pillcopata	0.062	3.277	Positivo			
102		13101	Brown Swiss	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.056	2.946	Positivo			
103		13072	Brown Swiss	H	3 años	vaca		Pillcopata	0.044	2.33	Positivo			
104		13107	Brown Swiss	M	3 años	toro		Pillcopata	0.049	2.562	Positivo			
105		13103	Cebú (raza Gyr)	M	4 años	toro		Pillcopata	0.134	7.059	Positivo			
106		13079	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.073	3.819	Positivo			
107		13075	Híbrido (Brown/Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.045	2.378	Positivo			
108		13077	Híbrido (Brown/Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.047	2.483	Positivo			
109		13078	Cebú (raza Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.043	2.262	Positivo			

N°	Propietario	Nombre/N° de brete	Raza	Sexo	Edad	Categoría	N° de partos	Procedencia	Resultado ELISA			Resultado RT-qPCR		
									Densidad Óptica (DO)	S/N%	Diagnóstico	Numero de bovinos	Ct-value	Diagnóstico
110	15	13095	Hibrido (Brown/Cebu)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.043	2.257	Positivo	8	31.84	Positivo
111		13091 Graniso	Cebú (raza Gyr)	M	3 años	toro		Pillcopata	0.042	2.225	Positivo			
112		13073	Cebú (raza Gyr)	H	2 años	vaquillon a		Pillcopata	0.043	2.241	Positivo			
113		13108	Hibrido (Holstein/Gyr)	M	2 años	toro		Pillcopata	0.214	11.241	Positivo			
114		13104	Hibrido (Brown/Gyr)	M	1 año	torete		Pillcopata	0.067	3.54	Positivo			
115		13096	Brown Swiss	M	1 año	torete		Pillcopata	0.046	2.414	Positivo			
116		13098	Brown Swiss	H	4 años	vaca		Pillcopata	0.043	2.272	Positivo			
117		13080	Cebú (raza Gyr)	M	3 años	toro		Pillcopata	0.042	2.215	Positivo			
118	16	Chuiquita	Brown Swiss	H	8 años	vaca	4	Pillcopata	0.046	2.409	Positivo	9	36.39	Positivo
119		Maya	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.044	2.325	Positivo			
120		Roja	Brown Swiss	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.044	2.335	Positivo			
121		Chica	Hibrido (Brown/Holstein)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.042	2.209	Positivo			
122		Canela	Hibrido (Brown/Holstein)	H	8 años	vaca	3	Pillcopata	0.047	2.456	Positivo			
123		Preciosa	Brown Swiss	H	4 años	vaca	1	Pillcopata	0.043	2.278	Positivo			
124		Evita	Hibrido (Brown/Holstein)	H	3 años	vaca	1	Pillcopata	0.044	2.293	Positivo			
125		Lupe	Brown Swiss	H	1 año	vaquilla		Pillcopata	0.043	2.257	Positivo			
126		Cruce	Hibrido (Brown/Holstein)	H	2 años	vaquillon a		Pillcopata	0.043	2.257	Positivo			