

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**ESCUELA DE POSGRADO**



**UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
VETERINARIAS**

**PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS**

**TESIS:**

**SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE INFECCIÓN POR  
EL VIRUS DE LENGUA AZUL EN BOVINOS DEL PERÚ**

Para optar el Grado Académico de  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**MENCIÓN: SALUD ANIMAL**

Presentada por:  
**Bachiller: EDITH BETZABÉ INCIL ORTIZ**

Asesor:  
**Dr. PEDRO LUIS ORTIZ OBLITAS**

**Cajamarca, Perú**

**2023**

COPYRIGHT © 2023 by  
**EDITH BETZABE INCIL ORTIZ**  
Todos los derechos reservados

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSGRADO**



### **UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

#### **PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS**

#### **TESIS APROBADA:**

#### **SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LENGUA AZUL EN BOVINOS DEL PERÚ**

Para optar el Grado Académico de

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MENCIÓN: SALUD ANIMAL**

Presentada por:

**Bachiller: EDITH BETZABÉ INCIL ORTIZ**

#### **JURADO EVALUADOR**

Dr. Pedro Luis Ortiz Oblitas  
Asesor

Dr. José Fernando Coronado León  
Jurado Evaluador

Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez  
Jurado Evaluador

Dr. Gilberto Fernández Idrogo  
Jurado Evaluador

**Cajamarca, Perú**

**2023**



**Universidad Nacional de Cajamarca**  
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD  
**Escuela de Posgrado**  
CAJAMARCA - PERÚ



**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Siendo las 11:00 horas, del día 22 de junio de dos mil veintitrés, reunidos en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN, Dr. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ, Dr. GILBERTO FERNÁNDEZ IDROGO**, y en calidad de Asesor el **Dr. PEDRO LUIS ORTIZ OBLITAS**, actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada **“SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LENGUA AZUL EN BOVINOS DEL PERÚ”**, presentada por la **Bachiller en Medicina Veterinaria EDITH BETZABÉ INCIL ORTIZ**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó... APROBAL... con la calificación de Dieciocho (18)... la mencionada Tesis; en tal virtud, la **Bachiller en Medicina Veterinaria EDITH BETZABÉ INCIL ORTIZ**, está apta para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias, con Mención en **SALUD ANIMAL**.

Siendo las 12:15 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.

.....  
**Dr. Pedro Luis Ortiz Oblitas**  
Asesor

.....  
**Dr. José Fernando Coronado León**  
Jurado Evaluador

.....  
**Dr. Rodolfo Gustavo Gamarra Ramírez**  
Jurado Evaluador

.....  
**Dr. Gilberto Fernández Idrogo**  
Jurado Evaluador

## **DEDICATORIA**

A Dios, por su guía y su respaldo para poder culminar este proyecto personal en mi vida profesional.

A mi amado esposo Carlos Bladimir y mi querida hija Sofía Raphaela por su apoyo incondicional en el logro de este objetivo.

A mis padres: German Incil y Rosa Ortiz, son sin duda mi fuente de inspiración, llevándome siempre a dar el mayor esfuerzo en todo.

A mis hermanos: Elizabeth, Joel, Oscar, Ana, Luis, Diana y Diego: por su cariño y por todos los momentos de risas y alegrías compartidas; son y serán siempre parte de mi felicidad.

## AGRADECIMIENTO

Hago extensivo mi eterno agradecimiento a las siguientes personas e instituciones que sin su ayuda y apoyo no hubiese sido posible la culminación de esta investigación:

- En primer lugar, a la Mg. MV. Hermelinda Rivera Gerónimo, por su dirección y su confianza en mi persona para llevar a cabo esta investigación.
- Al Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), lugar donde se ejecutó parte del presente trabajo. En especial al Mg. MV. Dennis Alexander Navarro Mamani por su dirección dentro y fuera del laboratorio.
- Al laboratorio de Inmunología e Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca (UNC) donde se ejecutó parte del presente trabajo,
- Al PhD. Pedro Luis Ortiz Oblitas, por su dirección y asesoría en la realización del presente trabajo, así como por ser mi inspiración el área de la investigación y por brindarme las facilidades de acceso al laboratorio.
- Al Bach. César Andreé Murga Moreno por su apoyo incondicional dentro y fuera del laboratorio.
- Al M. Cs. Cristian Ángel Hobán Vergara, por su acompañamiento y asesoramiento en la parte estadística de la investigación.

El Autor

## CONTENIDO

CAPITULO I INTRODUCCION .....	1
CAPITULO II MARCO TEORICO.....	3
2.1. Antecedentes.....	3
2.1.1. Antecedentes históricos.....	3
2.1.2. Antecedentes internacionales.....	4
2.1.3. antecedentes nacionales.....	5
2.2. Lengua Azul.....	5
2.2.1. Etiología.....	5
2.2.2. Patogénesis.....	8
2.2.3. Signos y síntomas.....	9
2.2.4. Trasmisión.....	10
2.2.5. Diagnóstico.....	11
Inmunodifusión en Gel de Agar.....	12
ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) .....	12
Aislamiento viral .....	13
RT-PCR .....	14
2.2.6. Prevención y control .....	14
2.2.7. Importancia económica .....	16
2.2.8. Factores de riesgo .....	16
CAPITULO III DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPOTESIS .....	20
3.1. Tipo, diseño y nivel de investigación .....	20
3.2. Localización del estudio .....	20
3.3. Población y muestra .....	21
3.3.1. Población .....	21
3.3.2. Área geográfica .....	21
3.3.3. Unidad primaria de muestreo .....	21
3.3.4. Unidad elemental de muestreo .....	21
3.4. Diseño muestral .....	21
3.5. Tamaño de muestra .....	22
3.6. Material de laboratorio .....	25
3.7. Equipos .....	26

3.8. Metodología .....	26
3.8.1. Recolección de datos para determinar factores de riesgo .....	26
3.8.2. Toma de muestras sanguíneas y conservación .....	27
3.8.3. Detección de anticuerpos contra VLA .....	27
Descripción y principio de la prueba de ELISA .....	27
Procedimiento .....	28
3.8.4. Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	31
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	32
CAPITULO V CONCLUSIONES .....	47
LISTA DE REFERENCIAS .....	49
APENDICE .....	57
1. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA, mediante la prueba de ELISA de competición en bovinos del Perú, de acuerdo con la ubicación geográfica (Centro, Norte, Selva y Sierra).....	57
2. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos del Perú, por distritos en cada Región, mediante la prueba de ELISA de competición.....	58
3. Resultados del análisis estadístico de correlación entre la seroprevalencia y los factores de riesgo al VLA.....	64
4. Análisis de hipótesis: Prueba Z de proporciones.....	65

## LISTA DE ILUSTRACIONES

<b>Ítem</b>	<b>Pág.</b>
<b>Tablas:</b>	
Tabla 1. Distribución de Conglomerados y número de bovinos por Región para muestreo	<b>24</b>
Tabla 2. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos del Perú mediante la prueba de ELISA de Competición .....	<b>32</b>
Tabla 3. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos del Perú por región, mediante la prueba de ELISA de competición .....	<b>35</b>
Tabla 4. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en la selva del Perú.....	<b>36</b>
Tabla 5. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en el norte del Perú.....	<b>37</b>
Tabla 6. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en el centro del Perú .....	<b>39</b>
Tabla 7. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en el sur del Perú .....	<b>40</b>
Tabla 8. Altitud y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú .....	<b>40</b>
Tabla 9. Humedad y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú .....	<b>41</b>

Tabla 10. Precipitación y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú**42**

Tabla 11. Temperatura mínima y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú .....**43**

Tabla 12. Temperatura máxima y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú .....**44**

Tabla 13. Edad y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú .....**45**

**Figuras:**

Figura 1. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA, mediante la prueba de ELISA de  
competición en bovinos del Perú, de acuerdo con la ubicación geográfica.....**35**

## LISTA DE ABREVIACIONES

- ARN:** Ácido ribonucleico.
- ATPasa:** ATP sintasa.
- BHK-21:** Células de riñón de hámster bebé.
- BTV:** Bluetongue virus.
- C-ELISA:** ELISA competitiva.
- CENAGRO:** Censo nacional agropecuario.
- CID:** Coagulación intravascular diseminada.
- DOCN:** Densidad óptica media del control negativo.
- DOCP:** Densidad óptica media del control positivo.
- dsRNA:** Ácido ribonucleico bicatenario.
- ECP:** Efecto citopatogénico.
- ELISA:** Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.
- GB:** Glóbulos blancos.
- GR:** Glóbulos rojos.
- HRP:** Peroxidasa de rábano picante.
- IGDA:** Inmunodifusión en Gel de Agar.
- INEI:** Instituto nacional de estadística e informática.
- LA:** Lengua azul.
- MAb:** Anticuerpo monoclonal.
- NS:** Proteína no estructural.
- OBP:** Onderstepoort Biological Products.
- OIE:** Organización Mundial de sanidad Animal.
- RT-PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

**RT-qPCR:** Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa.

**SENASA:** Servicio Nacional de Sanidad Agraria.

**UEM:** Unidades elementales de muestreo.

**UPM:** La Unidad Primaria de Muestreo.

**VLA:** Virus de Lengua Azul.

**VP:** Proteína viral estructural.

## GLOSARIO

**Seroprevalencia:** Prevalencia total de un elemento patógeno en la sangre.

**Factor de riesgo:** Toda situación o circunstancia que aumenta las probabilidades de contraer una enfermedad.

**Enzoótica:** Enfermedad infecciosa que afecta de forma continua a una población animal durante periodos de tiempos prolongados en un área geográfica limitada.

**Serotipo:** Variedad de un microorganismo identificada mediante un análisis serológico.

**Brote:** Aparición repentina de una enfermedad debida a una infección en un lugar específico y en un momento determinado.

**Transcripción:** Es el primer proceso de la expresión genética, mediante el cual se transfiere la información contenida en la secuencia del ADN hacia la secuencia de proteína utilizando diversos ARN como intermediarios.

**Replicación:** Proceso mediante el cual se duplica una molécula de ADN.

**Viremia:** Presencia de virus en el torrente sanguíneo.

## RESUMEN

Lengua azul (LA) es una enfermedad de gran importancia a nivel de la económica mundial, así como para el comercio y tránsito internacional de animales. LA es causada por diferentes serotipos del virus de Lengua Azul (VLA), transmitida por mosquitos del género *Culicoides* a rumiantes y es endémica en zonas tropicales y subtropicales las cuales brindan las condiciones adecuadas para el desarrollo y reproducción del vector transmisor. Factores como el cambio climático y calentamiento global han permitido la diseminación del mosquito competente a zonas fuera de su rango habitual, representando un riesgo de infección del VLA en animales susceptibles como en bovinos y ovinos. En nuestro país se desconoce la situación actual del VLA en bovinos; por tanto, el objetivo del presente estudio fue establecer la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú, así como determinar los factores de riesgo involucrados en la presentación de la enfermedad. Para esto se utilizó 3,425 muestras de suero de bovinos procedentes de todo el país y la base de datos proporcionadas por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) durante el monitoreo de Brucelosis Bovina. Los anticuerpos contra el VLA se detectaron mediante la prueba de ELISA competitivo, se determinó que la seroprevalencia a nivel nacional se encuentra entre 17.75% y 20.38% con un 95 % de nivel de confianza, así mismo se determinó que la altitud, la temperatura, la humedad y la precipitación son los principales factores de riesgo relacionados con la presencia de anticuerpos contra VLA en bovinos del Perú.

**Palabras clave:** Seroprevalencia, bovinos, Virus Lengua Azul, factores de riesgo.

## ABSTRACT

Bluetongue (BT) is a disease of great economic importance at the global economic level, as well as for in international trade and transit of animals. BT is caused by different serotypes of the Blue Tongue Virus (BTV), transmitted by mosquitoes of the *Culicoides* genus to ruminants and is endemic in tropical and subtropical areas, which provide adequate conditions for the development and reproduction of the transmitting vector. Factors such as climate change and global warming have allowed the spread of the competent mosquito to areas outside its normal range, representing a risk of BTV infection in susceptible animals such as cattle and sheep. In our country, the current situation of BTV in bovines is unknown; therefore, the objective of this study was to establish the BTV seroprevalence in cattle in Peru, as well as to determine the risk factors involved in the presentation of the disease. For this, 3,425 bovine serum samples from all over the country and the database provided by the National Agrarian Health Service (SENASA) were used during the monitoring of Bovine Brucellosis. The antibodies against the BTV were detected by means of the competitive ELISA test, it was determined that the seroprevalence at the national level is between 17.75% and 20.38% with 95% of confidence level, likewise it was determined that the altitude, humidity, the precipitation and temperature are the main risk factors related to the presence of antibodies against VLA in cattle from Peru.

Keywords: Seroprevalence, cattle, Bluetongue Virus, risk factors

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

La lengua azul es una enfermedad infecciosa no contagiosa causada por un virus que pertenece al grupo Orbivirus, que afecta a rumiantes salvajes como búfalos, ciervos entre otros; y a rumiantes domésticos principalmente ovinos, pero también a bovinos, cabras, y es transmitida por ciertas especies de mosquitos del grupo *Culicoides*.

Factores como el calentamiento global y el cambio climático están favoreciendo el desplazamiento de muchas especies de mosquitos de su hábitat natural hacia zonas más altas donde antes no se encontraban. En cuanto a su impacto económico, reportes de brotes en los años 2006-2008 en Bélgica y en países de Europa produjeron graves pérdidas económicas que ascendieron a 180 millones de Euros así mismo se calculó que 800 000 cabezas de ovinos fueron afectadas. (Wilson & Mellor, 2009). La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) considera a la Lengua Azul como una enfermedad de declaración obligatoria, es decir de presentarse la enfermedad quedaría restringido el comercio del ganado lo cual afectaría potencialmente la economía. A esto se suma los sacrificios obligatorios del ganado enfermo y otros gastos con el fin de prevenir y controlar la enfermedad.

En nuestro País se desconoce la situación actual de esta enfermedad debido a que no se han realizado estudios de la presencia del virus de Lengua Azul (VLA) en bovinos. Existe una investigación realizada en la región de Junín (Chanchamayo) en Perú, que tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos contra VLA en muestras de suero sanguíneo de ovinos, encontrándose una prevalencia de 56.1% (Jurado et al., 2020); esto confirma la presencia del VLA circulando en nuestro territorio y dado que, la crianza mixta es común,

es decir animales de diferentes especies compartiendo el mismo predio, existe la posibilidad de que el VLA pueda estar presente en el ganado bovino. Es por ello la necesidad de realizar la presente investigación planteándose los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Establecer la prevalencia de anticuerpos contra el virus de Lengua Azul en ganado bovino del Perú y estudiar los factores de riesgo involucrados en su transmisión.

Objetivos Específicos:

- Determinar anticuerpos contra el virus de Lengua azul en muestras de suero de bovinos de las regiones del Perú.

- Determinar la correlación de la seroprevalencia de anticuerpos del VLA con la altitud, temperatura, humedad, precipitación pluvial y edad como factores de riesgo.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes:

##### 2.1.1. Antecedentes históricos:

En cuanto a la historia de la enfermedad de Lengua azul hallamos que fue reportada por primera vez en Sudáfrica cuando fueron introducidas las primeras ovejas a finales del siglo XVIII, se cree que probablemente la infección era endémica en los rumiantes salvajes africanos desde la antigüedad. Durante mucho tiempo se creyó que la infección estaba confinada solo en África, pero en 1943 fue descrita en Chipre, posteriormente se diagnosticó en Israel, Portugal, España, India, Pakistán y más recientemente en los Estados Unidos, América del Sur, noreste de Australia, así como Malasia e Indonesia. Actualmente la infección se encuentra presente en Bulgaria (serotipo 9); Grecia (serotipos 4 y 9); Túnez y Argelia (serotipo 2). En el año 2000 la enfermedad se diagnosticó en Cerdeña, Sicilia y Calabria, y en el 2001 ascendió hacia el norte de Italia, describiéndose en Toscana. Los serotipos aislados en Italia son: 2, 9. Es posible que la infección esté presente en otros países, pero que no haya sido diagnosticada por desconocimiento o no declarada por temor a restricciones comerciales (Erasmus, 1975).

La Lengua Azul es la enfermedad vírica transmitida por artrópodos más difundida en el mundo. Hasta los años 40 era una enfermedad endémica del continente africano, pero con la segunda guerra mundial se extendió y hoy en día es enzoótica en todos los continentes excepto en Europa. En España se reportó un foco en el año 1960 coincidiendo con la extensión de la enfermedad a otros países europeos, Portugal (1959), Suecia (1960), Grecia

(1989), y más recientemente España (2000, 2003 y 2004). La distribución del virus presenta una marcada regionalización. Esta enfermedad se describe en un área geográfica entre el paralelo 35° sur y el paralelo 42° norte en África, Europa, Asia, y Australia, y entre el paralelo 30° sur y el 50° América del Norte, con variaciones locales en relación a las condiciones climáticas y ambientales (Coetzee et al., 2012; Erasmus, 1975).

### **2.1.2. Antecedentes Internacionales:**

El VLA se detectó en Europa con poca frecuencia antes del año 1998, sin embargo, en la actualidad, algunos serotipos se encuentran regularmente al sur de Europa y podrían ser enzoóticos en esta región. En el 2006, el serotipo 8, que probablemente pudo provenir de África, causó brotes en Alemania, Bélgica y en Países Bajos. Debido a la adaptación de su vector, *Culicoides dewulfi*, a las condiciones climáticas europeas, este virus adquirió el potencial de expandirse por el norte de Europa. En lo que respecta a su distribución geográfica se ha encontrado en muchas partes del mundo, como África, Europa, Medio Oriente, Australia, el Sur del Pacífico, América del Norte y del Sur y partes de Asia. El virus se encuentra en algunas regiones sin enfermedad clínica asociada. En los Estados Unidos, las infecciones están limitadas a la distribución del vector hacia el sur y el oeste. La mayor parte de Canadá está libre. La presentación de cinco casos de lengua azul en el valle de Okanagan en los últimos 30 años, se les atribuyó a los mosquitos infectados provenientes de los Estados Unidos (Coetzee et al., 2012; Erasmus, 1975).

Hacia las últimas dos décadas, el VLA ha producido brotes severos en rumiantes domésticos y silvestres en algunos países europeos, los cuales se encuentran ubicados fuera del rango de 40°N y 35°S, como en España, Bélgica y Alemania, debido al desplazamiento de *Culicoides spp* a latitudes mayores donde los rumiantes son susceptibles (Méroc et al.,

2009; Purse et al., 2015). En brotes causados por un solo serotipo del VLA en países de Europa, donde más de 800 000 cabezas de ovinos fueron afectados. Así mismo, los brotes ocurridos en Bélgica entre 2006 y 2007 ocasionaron grandes pérdidas que ascienden a 180 millones de Euros al año (Wilson & Mellor, 2009).

### **2.1.3. Antecedentes nacionales:**

La presencia de VLA en el Perú ha sido detectada serológicamente en ovinos (Dennis Navarro et al., 2019; Rosadio et al., 1984) y en huanganas (*Tayassu pecari*) en áreas del trópico (Rivera et al., 2013). Recientemente, un estudio realizado en nuestro país, donde el objetivo fue detectar el ARN del VLA en ovinos seropositivos y en *Culicoides insignis* capturados en áreas cercanas a los ovinos el cual encontró que *Culicoides insignis*, vector del VLA, fue la especie de mayor frecuencia, seguido de *C. foxi*, *C. ocumarensis* y *C. pseudodiabolics*. (Navarro et al., 2018).

## **2.2. Lengua Azul:**

### **2.2.1. Etiología:**

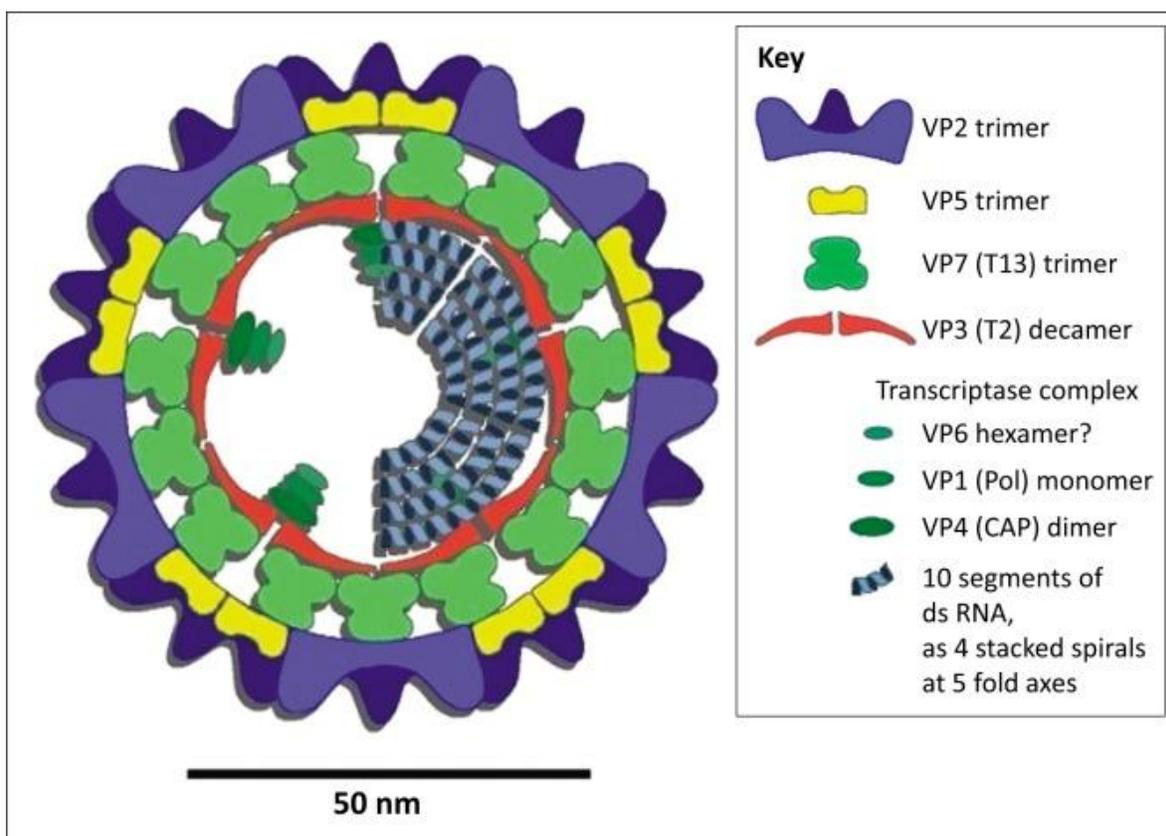
La enfermedad de Lengua Azul es causada por un *Orbivirus* que pertenece a la familia Reoviridae. El genoma del virus consta de 10 segmentos de ácido ribonucleico bicatenario (dsRNA) que codifica siete proteínas virales estructurales (VP1, VP2, VP3, VP4, VP5, VP6 y VP 7) y cinco proteínas no estructurales (NS) como se muestra en la Figura 1 (NS 1, NS 2, NS 3 / 3a y NS 4) (Mertens et al., 2004). La VP 3 estructural codificada por el segmento 3 forma la capa del subnúcleo del virus. La capa externa del virión consta de VP 2 codificada por el segmento 2. La función de VP 1, la ARN polimerasa dependiente de ARN codificada

por el segmento 1, es la transcripción y replicación (Boyce et al., 2012). El VP 4 estructural encapsula el ARN mensajero recién sintetizado (enzima trans-metilasa y de protección, codificada por el segmento 4) (Ramadevi et al., 1998) y VP 6 (codificado por el segmento 9) se desenrolla y vuelve a aparear el ARNdc durante la transcripción y replicación (ARN dependiente de ATPasa y helicasa, codificada por el segmento 9) (Stäuber et al., 1997). El VP 7 estructural es un ligando para el receptor de la célula de insecto y parece ser capaz de mediar en la unión entre el BTV y las proteínas de membrana de las células (Basak et al., 1997). Las proteínas de la cápside externa participan en la unión (Hassan & Roy, 1999) y la liberación (VP 5) del virus en el citoplasma de las células de mamíferos (Hassan et al., 2001).

La proteína no estructural NS 1 (codificada por el segmento 5) es la más abundante en las células infectadas y forma estructuras tubulares en el citoplasma celular; el NS 1 también es un regulador positivo de la expresión del virus que aumenta la síntesis de proteínas (Boyce et al., 2012). La proteína no estructural 2 (codificada por el segmento 8) ensambla las proteínas y los ácidos nucleicos en el virión maduro (Kar et al., 2007). La proteína no estructural 3 y la proteína no estructural alternativa NS3a (codificada por el segmento 10) facilitan la liberación del virus de la célula infectada. Las proteínas también funcionan como un mecanismo puente de VP 2 y los componentes del citoesqueleto. Las partículas virales se liberan por lisis de las células infectadas o por gemación de la membrana celular (Hyatt et al., 1993). La proteína no estructural 3 actúa como antagonista del interferón tipo I, una respuesta celular antiviral que se produce in vitro e in vivo cuando el huésped está infectado con Blue Tongue Virus (Doceul et al., 2014). La proteína no estructural 4 (codificada por el segmento 9) modula la inmunidad del huésped inhibiendo la transcripción de genes de

interferón. Esto protege al virus y le da tiempo suficiente para replicarse y propagarse por todo el hospedador (Ratinier et al., 2011).

Actualmente hay 27 serotipos de BTV descritos en todo el mundo, con 21 serotipos endémicos de Sudáfrica (SA) (Gerdes, 2004). El VLA se transmite entre huéspedes vertebrados por la picadura de mosquitos *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) y la aparición de la enfermedad depende de la presencia y abundancia de vectores competentes (Mellor et al., 2000)



Source: Mertens, P.P., Diprose, J., Maan, S., Singh, K.P., Attoui, H. & Samuel, A.R., 2004, 'Bluetongue virus replication, molecular and structural biology', *Veterinaria Italiana* 40(4), 426–437

Figura 1: Representación esquemática del virus de la lengua azul que ilustra las interacciones de las diferentes proteínas. VP, proteínas virales; ARN, ácido ribonucleico; CAP, enzima de protección; Pol, polimerasa.

### **2.2.2. Patogénesis:**

El VLA es transmitido por la picadura de mosquitos del género *Culicoides*; por lo tanto, el vector es la clave de la transmisión de la enfermedad entre los animales, siendo contagiados con el virus al ingerir la sangre de animales infectados. Después del ingreso del virus al organismo del animal, ocurre una replicación inicial en los ganglios regionales produciéndose una diseminación hematógica, acompañado de un aumento de temperatura; mientras tanto el virus se va a localizar y a replicar en el endotelio de los vasos de las mucosas oral y nasal, así como en piel y músculos, donde daña el endotelio y se produce una trombosis y una necrosis. Así mismo se evidencia la presencia de inflamación (edemas), fragilidad y hemorragias severas. En las hembras gestantes se transmite el virus por vía transplacentaria produciendo abortos espontáneos o malformaciones al nacer.

El ganado vacuno en ocasiones suele ser asintomático presentando leves alteraciones en el recuento de leucocitos y linfocitos. La causa de las lesiones normalmente no es la misma en todas las especies susceptibles. En las ovejas y venados los signos se presentan por el daño en el endotelio y por la presencia de coagulación intravascular diseminada (CID). La replicación del virus inicia en el sitio donde pica el vector y en los ganglios linfáticos, seguido de esto se disemina el virus por medio de los glóbulos rojos (GR), glóbulos blancos (GB) y plaquetas, hasta las células blanco que son las células endoteliales. La concentración del virus se encuentra en los endotelios de la microvasculatura del epitelio bucal y las lesiones se evidencian en zonas donde se produce mayor alteración, dado que la hiperplasia e hipertrofia de las células endoteliales producen oclusión vascular e insuficiencia de oxígeno (MacLachlan et al., 2009).

Las lesiones que presenta el ganado bovino están asociadas a una respuesta de hipersensibilidad de tipo I, mediada por IgE con un aumento de la histamina y leucotrienos. En el ganado bovino presenta mayor tropismo por los eritrocitos que por las células endoteliales, lo que los hace mucho más resistentes a la enfermedad; por ello son considerados como el reservorio natural del virus ya que, sin manifestar la enfermedad, presentan una viremia muy prolongada (MacLachlan et al., 2009).

### **2.2.3. Signos y síntomas**

Entre los signos y síntomas clínicos que suele presentar el ganado bovino enfermo especialmente los ovinos incluyen fiebre, salivación excesiva, depresión, dificultad para respirar, sed y jadeo. Los animales infectados al inicio de la enfermedad presentan secreciones nasales líquidas abundantes. Con el pasar de los días esta secreción se vuelve mucopurulenta y se seca en los orificios nasales; en el hocico, labios y orejas se presenta un aumento del flujo sanguíneo desencadenando una inflamación en la lengua, la cual en algunas ocasiones se vuelve cianótica, es decir se torna a un color azulado. La presencia de úlceras a nivel bucal puede llegar a extenderse a diferentes partes del cuerpo, generando molestias en el ganado (MacLachlan et al., 2009).

Por otra parte, el animal presenta dolor, vómitos, neumonía, cojera, conjuntivitis y en casos más avanzados se puede visualizar el desprendimiento de las pezuñas al momento de caminar. En cuanto a las ovejas que se encuentran en gestación normalmente abortan y ocasionalmente pueden llegar a parir corderos, pero con defectos genéticos siendo corderos discapacitados o “tontos”. Las formas agudas se pueden observar mayormente en ovinos y las formas subagudas y crónicas en bovinos y caprinos.

En la mayoría de los animales que presentan infección aguda mueren aproximadamente a los 14 días después del inicio de los síntomas de la enfermedad; en cuanto a los animales que logran recuperarse tienen un período de recuperación extenso, durante el cual pueden mostrar pérdida y reducción de la fertilidad, la producción de leche y la calidad de la lana en caso de los ovinos (Erasmus, 1975).

#### **2.2.4. Trasmisión y diseminación**

La transmisión y diseminación del VLA se da por un vector del género *Culicoides*, un mosquito el cual pertenece al orden Díptera, de la familia Ceratopogonidae. El cual tiene alrededor de 1400 especies clasificadas en 31 subgéneros. Los *Culicoides* son dípteros de 1 a 5 mm de longitud; por lo general se encuentran en zonas tropicales y en áreas agrícolas, ganaderas y en zonas húmedas y boscosas y en zonas altitudinales que van desde el nivel del mar hasta los 4200 msnm (Spinelli et al., 2009).

Estos vectores se han identificado mundialmente tras ser los encargados de transmitir el virus al ingerir sangre del ganado infectado y pasarlo a otros. La infección en el ganado bovino presenta un tiempo prolongado de viremia; de esta manera el ganado bovino es un factor importante en la transmisión del virus, siendo un reservorio por tiempo prolongado, permitiendo que al ser picado por muchos mosquitos éstos se infecten y transmitan la enfermedad a gran parte del ganado que se encuentra en la misma zona. Así también, ha sido comprobada la transmisión transplacentaria en bovinos y de machos a hembras por medio del semen, al practicar la monta natural (Kirkland et al., 2004).

Los mosquitos adultos se alimentan normalmente del dulce de las frutas y polen de las flores; sin embargo, las hembras son hematófagas para poder completar su ciclo de vida, al

picar al animal logran infectarlo y éstos desarrollan la enfermedad denominada lengua azul; los vectores del género *Culicoides* demuestran preferencia por cierto tipo de hospedero, principalmente por los rumiantes domésticos (vacas, cabras, ovejas, venados, búfalos, entre otros). Cuentan con un sistema olfativo en las antenas y palpos maxilares y es bastante sensible, esto le permite localizar fácilmente a los hospedadores (Braverman et al., 2012). En cuanto al sitio de alimentación, los vectores eligen con preferencia ingerir sangre de sus hospedadores de zonas como debajo del vientre, en las patas y alrededores de la pezuña y cabeza (Elbers & Meiswinkel, 2015; Mellor et al., 2000).

Un estudio realizado en Pucallpa, Perú logró capturar 7,930 ejemplares de *Culicoides*; de los cuales 7,839 fueron hembras, la principal especie hallada fue *C. insignis* (94.8%), seguido por *C. foxi* (3.2%) y *C. ocumarensis* (1.3%) (Navarro et al., 2018). Otras especies como *C. pseudodiabolicus*, *C. hylas* y *C. leopoldoi* se presentaron en densidades menores de 0.5%. El hallazgo en mayor proporción de la especie de *C. insignis*, descrito como vector del VLA y posiblemente de otras especies de Orbivirus en América Latina (Lager, 2004) y este vector tiene una amplia presencia en la Amazonía peruana (Felippe-Bauer et al., 2008).

#### **2.2.5. Diagnóstico**

La evidencia de los signos y síntomas como edema, ulceraciones y lesiones epiteliales, el tipo de lesión y la distribución sobre el animal infectado nos pueden guiar hacia un diagnóstico diferencial de Lengua Azul (MacLachlan et al., 2009; Wilson & Mellor, 2009).

### **2.2.5.1. Pruebas diagnósticas**

El serogrupo del VLA incluye 27 serotipos, el genoma del VLA consiste en 10 moléculas de ARN bicatenario, que codifican para siete proteínas estructurales y cuatro no estructurales. VP2 y VP5 son dos proteínas variables localizadas en la cápside externa del virión que determinan la variabilidad antigénica del virus y el serotipo. La VP7 es el antígeno inmunodominante principal del serogrupo y se usa generalmente para la identificación del serogrupo del VLA mediante ensayos serológicos (Anthony et al., 2007).

#### **• Inmunodifusión en Gel de Agar (IGDA)**

La prueba de IGDA, la cual detecta anticuerpos anti-VLA, es de desarrollo simple y el antígeno utilizado en la prueba es relativamente fácil de generar. Desde 1982, la prueba ha sido el procedimiento estándar de ensayo para controlar el movimiento internacional de rumiantes. Sin embargo, una de las desventajas de la IGDA utilizada para VLA es su falta de especificidad, por la que puede detectar anticuerpos contra otros Orbivirus, en particular los del serogrupo EHD. Por tanto, los sueros positivos por IGDA deben ser probados de nuevo utilizando una prueba específica para el serogrupo VLA. La falta de especificidad y la subjetividad que se ejerce durante la lectura de los resultados ha promovido el desarrollo de procedimientos basados en ELISA para la detección específica de anticuerpos anti-BTV (Afshar et al., 1991).

#### **• ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)**

La prueba competitiva ELISA, o prueba ELISA bloqueante para VLA, se desarrolló para medir anticuerpos específicos contra VLA sin que detecte anticuerpos de reacción cruzada

con otros Orbivirus. La especificidad es el resultado de utilizar uno de varios anticuerpos monoclonales con reactividad al serogrupo VLA, como MAb-3-17-A3 (Anderson, 1984) o MAb 20E9 (Lelli et al., 2004). Los anticuerpos proceden de varios laboratorios y, aunque son diferentes, todos parecen unirse a la región amino-terminal de la principal proteína de la cápside, VP7. En la prueba C-ELISA, los anticuerpos de los sueros de ensayo compiten con los MAbs para unirse al antígeno. La sensibilidad diagnóstica y la especificidad de esta prueba se estiman en 87.8% (95% IC: 85.1-91.1) y 98.2% (95% IC: 96.3-99.6) respectivamente, basadas en un análisis bayesiano de muestras de campo de animales con un status infeccioso desconocido durante la epidemia de VLA 8 en Bélgica (Vandenbussche et al., 2008).

- **Aislamiento viral**

Se puede llevar a cabo el aislamiento del virus en huevos de pollo embrionados seguido de entre uno y tres pasajes ciegos. Los huevos inoculados se incuban durante cinco días a 35°C y se examinan diariamente utilizando un ovoscopio. Los embriones que mueren entre dos y cinco días tras la infección se homogenizan individualmente en 10 volúmenes de Eagle Medium y se clarifican por centrifugación para ser inoculados en células de riñón de hámster bebé (BHK-21). Las monocapas de células se incuban durante cinco días a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> con humedad, y se observan regularmente para comprobar la aparición de efecto citopatogénico (ECP). Si no aparece el ECP, se realiza un segundo pasaje en cultivo de células después de congelarlas y descongelarlas. El virus se puede identificar utilizando un test de neutralización de virus (Bréard et al., 2003).

## • RT-PCR

La detección del genoma viral por RT-PCR es un método rápido y conveniente para la detección del ARN del VLA. Se han desarrollado varios protocolos de RT-PCR que detectan los segmentos 1, 2, 3, 6, 7 o 10 en los últimos 20 años (Billinis et al., 2001; Shaw et al., 2007; Zientara et al., 2002). Estos test están reconocidos por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), que recomienda la PCR anidada para amplificar el segmento cinco del VLA (Toussaint et al., 2007). RT-PCR suele tener más sensibilidad que el aislamiento del virus y puede dar un resultado positivo aún varias semanas después de la infección (Maclachlan et al., 2009) . Los métodos convencionales de RT-PCR requieren electroforesis en gel de agarosa, lo que limita el número de muestras que se pueden analizar en un día. Durante los últimos tres años, se han desarrollado los ensayos cuantitativos en tiempo real por RT-PCR (RT-qPCR) para la detección de ciertas vacunas y/o cepas de VLA. Recientemente se han descrito dos ensayos universales RT-qPCR que permiten la detección de todos los serotipos de VLA (Shaw et al., 2007).

### 2.2.6. Prevención y vacunación

Una de las formas más eficaces de prevenir la enfermedad y el contagio del ganado es la vacunación; las vacunas son eficaces, seguras y con precio moderado teniendo en cuenta la cantidad de animales que van a necesitarlas (OMSA, 2021). El VLA tiene diferentes serotipos los cuales están distribuidos por el mundo. Geográficamente se han identificado los serotipos 1,2,3,5,10,11,14,17,18,22 y 23 en América del Norte y los serotipos 1,3,4,6,8,12 y 17 en América Central y el Caribe (N. James MacLachlan & Guthrie, 2010).

Sin embargo, en América del Sur, la información sobre VLA es limitada, evidencia serológica ha sido reportada en Argentina (Legisa et al., 2013; Puntel et al., 1999) Brasil (Kawanami et al., 2018) y Ecuador (Verdezoto et al., 2016). Asimismo, mediante técnicas serológicas los serotipos determinados en Brasil son el 4, 6, 14, 17, 19 y 20 (Da Silva et al., 2018) y en Colombia el 12, 14 y 17 (Homan et al., 1985).

La vacuna actual contra VLA producida por Onderstepoort Biological Products (OBP), maneja un esquema de vacunación que consiste en 3 vacunas pentavalentes. El paquete A contiene protección contra los serotipos 1, 4, 6, 12 y 14; el paquete B contra los serotipos 3, 8, 9, 10 y 11; y el paquete C contra los serotipos 2, 5, 7, 13 y 19. La vacuna debe administrarse en periodos de 3 semanas, con vacunación de refuerzo cada año. Las cepas más atenuadas se incluyen en el paquete A, previniendo con esto signos clínicos negativos, mientras que la atenuación de los otros paquetes no da lugar a signos clínicos debido a la previa protección parcial. Es importante tener en cuenta que las ovejas preñadas no deben ser vacunadas, ya que los fetos pueden desarrollar malformaciones congénitas (Feenstra & Van Rijn, 2016).

No obstante, es importante incluir otras maneras de prevención con el fin de evitar la proliferación de los vectores y la propagación de la enfermedad. Los ganaderos y el personal encargado de estos animales en especial los veterinarios, pueden contribuir a disminuir la proliferación de los mosquitos, evitando que se formen charcos de agua en diferentes superficies u objetos como llantas, hojas caídas, neumáticos, desagües, pilas, piscinas, entre otros. De igual manera cambiando constantemente el agua que se les proporciona a los animales para el consumo y llevando control de la calidad de árboles que se encuentren cerca, dado que los vectores suelen ubicarse en los agujeros de los troncos. También puede ser

favorable implementar mallas en las puertas o ventanas impregnadas con insecticidas, con el fin de reducir la exposición del ganado al vector (Mogajane, 2004).

### **2.2.7. Importancia económica**

Las pérdidas económicas de la lengua azul están asociadas con la mortalidad de rumiantes domésticos y salvajes como ovejas, cabras, bovinos, búfalos, ciervos, entre otros; presentando pérdidas en la producción de carne de estos para el comercio y la disminución de la cantidad de lana, teniendo en cuenta que es una enfermedad con gran impacto en las ovejas. La OIE informa que la complicación de la enfermedad cambia según la especie, presentándose los síntomas más graves en el ganado ovino llevándolo a la muerte. En el ganado ovino altamente susceptible, la morbilidad puede llegar hasta el 100% y la mortalidad media está entre 2% y 30%, pero puede alcanzar el 70%. Demostrando así que los ovinos al adquirir la enfermedad tienden a diseminarla con más facilidad entre ellos mismos, y así también este tipo de ganado tiene más probabilidad de morir según las estadísticas (OMSA, 2021).

### **2.2.8. Factores de Riesgo**

Epidemiológicamente, los factores que están relacionados con el virus, el vector, el medio ambiente, así como el huésped pueden influir en la aparición y gravedad de los brotes (Gibbs & Greiner, 1994). Los virus de LA se caracterizan por una notable diversidad genética; Además, debido al hecho que la enfermedad no es contagiosa, el insecto vector es fundamental para la transmisión y supervivencia del virus, y la infección por VLA solo ocurre cuando los vectores competentes se encuentran presentes (N. James MacLachlan, 1994).

Las condiciones climáticas son un factor de riesgo importante para la aparición de LA (Goulda, E.A. and Higgs, 2008). Las enfermedades transmitidas por vectores son muy sensibles a los cambios de clima y pueden afectar su distribución geográfica y la incidencia de los mismos (Medlock & Leach, 2015). Estos incluyen áreas de clima cálido, con alta humedad y un ambiente deseable para el desarrollo de larvas de mosquitos, como aguas estancadas con materia orgánica (N. James MacLachlan, 1994). Las estaciones cálidas y lluviosas favorecen la aparición de Culicoides y por tanto la transmisión del virus. Por lo tanto, en zonas templadas, también llamadas áreas epidémicas, los brotes a menudo son estacionales. La enfermedad se suele ver durante el verano y principios de otoño y los brotes cesan después de la primera helada del invierno (Gibbs & Greiner, 1994; MacLachlan, 2011; MacLachlan, 1994).

Se han realizado muchos estudios a razón de la aparición de VLA en Brasil, con reportes de alta prevalencia en ovinos como en bovinos, lo que nos demuestra que el virus es endémico y que está ampliamente distribuido en todo el estado de Sao Paulo. Este estado se encuentra ubicado en una región de clima tropical y, con alta temperatura y humedad durante todo el año, estas características climáticas asociadas a la producción ganadera intensiva en la región permiten la multiplicación y el mantenimiento constante de vectores. Se menciona a la entrada de nuevos bovinos a los rebaños como un factor de riesgo, lo que indica la importancia del control sanitario de los animales que pueden estar en viremia cuando se introducen en el hato (Da Silva et al., 2018).

La presencia y abundancia de vectores, una población de huéspedes susceptibles, asociados a cambios climáticos en la zona como aumento de la media de precipitación anual y temperaturas mínimas, son características que pondrán en riesgo a una determinada zona para la ocurrencia de brotes del VLA (Mayo et al., 2012).

También se considera a los factores del huésped, los cuales influyen en la gravedad de la enfermedad, como el estado inmunológico y nutricional del animal, la exposición a factores de estrés, la raza y la edad. Se consideran que las ovejas mayores de 3-4 años son las más afectadas por VLA. Sin embargo, observamos que los corderos menores de un año tenían mayores tasas de morbilidad, mortalidad y letalidad que ovejas de un año o más (Gibbs & Greiner, 1994; MacLachlan, 1994; Maclachlan et al., 2009).

Además, factores como el manejo intensivo, los bajos niveles de nutrición y el endoparasitismo severo (*Haemonchus contortus*) pueden contribuir a las infecciones y a la enfermedad clínica en algunas granjas. Estos factores pueden debilitar el sistema inmunológico de las ovejas perjudicar una respuesta inmunitaria adecuada contra el virus (Maclachlan et al., 2009).

Diversos estudios relacionados a los factores de riesgo que estarían contribuyendo a la presentación de la enfermedad nos ayudan a adquirir las herramientas para la vigilancia y el control de esta. Debido a la aparición del serotipo 8 del VLA circulando en Holanda en el 2006, el gobierno decidió establecer una red centinela para monitorear el resurgimiento de BTV-8 en el 2007, donde 275 hatos lecheros con 8901 vacas seronegativas al inicio, se estimó la prevalencia mensual dentro del rebaño por región (sur, centro y norte), este centinela se utilizó para determinar los factores de riesgo asociados a BTV-8. Se utilizó información sobre prácticas de manejo, vivienda que se hipotetizó que estaban relacionadas con el aumento en la prevalencia de BTV-8; los resultados finales revelaron que cuatro factores de riesgo permanecían en los rebaños en la región central y sur de los Países Bajos tuvieron un aumento mensual más alto en la seroprevalencia del 6,4% (IC del 95%: 3,1–9,9) y 10,1% (IC del 95%: 6,2–14,3), respectivamente, en comparación con los rebaños en la región del norte (Santman-Berends et al., 2010).

Además, hubo una fuerte asociación con el pastoreo es decir que hubo un aumento mensual de la seroprevalencia en el ganado que pastan unas pocas horas al día a lo largo del día, que fue del 5,6% (IC del 95%: 1,4–10,2) a 11. 4% (IC del 95%: 6,0–17,3) más alto, en relación con el ganado criado en interiores. Para el ganado que pastaba al aire libre durante el día y la noche, el aumento mensual de la seroprevalencia fue del 13,6% (IC del 95%: 7,2-20,8). Este estudio indicó que había algunos factores de manejo que pueden ayudar a limitar la exposición al VLA y sus consecuencias (Santman-Berends et al., 2010).

Del mismo modo (Mayo et al., 2012) menciona en cuanto a la abundancia del vector competente, el cual podría variar como resultado de las prácticas de manejo de aguas residuales y de riego de cada finca, favoreciendo la expansión de las poblaciones residentes de *Culicoides* y su posterior transmisión estacional del VLA al ganado, concluyendo que los resultados de su estudio confirman que no solo los factores climáticos sino también los antropogénicos son importantes para determinar la prevalencia de LA en el ganado (Qin et al., 2020).

El historial de aborto y la raza del animal fueron determinados en cabras y ovejas de Nepal, dentro de los factores asociados significativamente a la seropositividad de LA (Gaire et al., 2014; Ma et al., 2018).

Mediante un estudio realizado en Jordania se determinó a la ubicación geográfica, el no uso de desinfectantes en las fincas, así como la falta de servicios veterinarios como los factores de riesgo asociados a una alta seropositividad de infección por el VLA en ovinos (Hijazeen et al., 2020).

## CAPITULO III

### DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### 3.1. Tipo, diseño y nivel de investigación

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

#### 3.2. Localización del estudio

El presente trabajo de investigación se realizó solo en 22 de las 24 regiones del Perú, ya que no se contó con muestras de las regiones de Tacna y Ancash debido a dificultades logísticas de muestreo por el personal de SENASA. Perú posee 38 tipos de climas, según el método de Clasificación Climática de Warren Thornthwaite – SENAMHI (Ministerio del Ambiente; Senamhi, 2020). Entre los climas de mayor extensión tenemos al árido y templado en la costa, lluvioso y frío en la sierra, y muy lluvioso y cálido en la selva los cuales tienen variedad en sus características meteorológicas, es por ello que consideraremos las regiones naturales: Costa, Sierra y Selva.

**Costa:** Representa el 11.6% del territorio nacional, es una franja que está situada entre el océano Pacífico y los contrafuertes de la cordillera occidental de los Andes. Con altitudes de 0 a 500 msnm, temperaturas que van desde 24 °C a 27 °C con precipitaciones de 200 mm/año.

**Sierra:** Esta región ocupa el 28.1% del territorio peruano, su configuración orográfica está determinada por la Cordillera de los Andes, conformada por tres ramales geomorfológicos principales: las cordilleras occidental, central y oriental, que se extienden de norte a sur, con aproximadamente 40 picos que tienen altitudes mayores a 6 000 msnm. Su clima varía desde los templados cálidos (Región Yunga), templado (Región Quechua), templado frío (Región

Puna) y glacial (Región Janca o Cordillera) con una altitud que va desde los 1000 msnm hasta los 5000 msnm, con temperaturas por debajo de 6 °C a 15 °C, con precipitaciones de 700 mm/año.

**Selva:** La Selva amazónica es la región más extensa de nuestra geografía, ocupa el 60.3% del territorio del país. Su relieve es relativamente uniforme en la denominada Selva baja o llano amazónico, lo que favorece la existencia de extensiones amplias con climas uniformes y la cobertura de bosques tropicales húmedos.

El clima de la selva alta y baja es tropical. En la Selva Alta la temperatura media anual fluctúa de 22°C y 26°C, con abundantes lluvias con máximas superiores a 8000 mm/año). En la Selva Baja, las temperaturas son más altas, la media anual es de 31°C, con lluvias superiores a 1000 mm/año (Ministerio del Ambiente; Senamhi, 2020)

### **3.3. Población y muestra**

**3.3.1. Población:** Bovinos del Perú

**3.3.2. Área geográfica:** Conglomerado

**3.3.3. Unidad primaria de muestreo (UPM):** propietario

**3.3.4. Unidad elemental de muestreo (UEM):** bovino

### **3.4. Diseño Muestral**

Para estimar la seroprevalencia a nivel nacional del VLA en ganado bovino se utilizó el muestreo aleatorio al azar por conglomerados en dos etapas (Segura C & Honhold, 2000):

**Primera etapa:** se seleccionaron los predios.

**Segunda etapa:** se seleccionaron los animales a ser muestreados en cada predio.

### **3.5. Tamaño de muestra**

La UPM se definió como el conjunto de predios o propietarios de bovinos con una o más características en común y suficientes para que todos ellos tengan la misma probabilidad de presentar la enfermedad. Cada predio o propietario aportó al estudio un número mínimo determinado de bovinos los cuales fueron UEM para llegar a conformar el número de animales requeridos por conglomerado.

Por medio del software C-Survey 2.0 se calculó el tamaño mínimo de conglomerados para el estudio bietápico. Los parámetros del modelo fueron: una proporción estimada del 50% con una precisión de  $\pm 5\%$ , a un nivel de confianza del 95%. El tamaño de conglomerados estimado se distribuyó proporcionalmente a la densidad poblacional en el área de estudio, en los cuales se seleccionaron en promedio cinco predios o propietarios con bovinos, los cuales cada uno aportaron un mínimo de 6 bovinos en promedio para la conformación del conglomerado; es decir cada conglomerado estuvo conformado por lo menos por 30 bovinos. Una vez distribuido el número de conglomerados en las provincias de las Regiones en estudio, se ajustó el número mínimo de conglomerados a ser considerado y el total de bovinos a ser muestreados.

Se consideró que el número de conglomerados que se formó es una cantidad mayor a los predios registrados en el CENAGRO 2012 (INEI, 2012), que para fines del cálculo de tamaño mínimo de muestra para los conglomerados y unidades elementales de muestreo se consideró como no finita; entonces, se usó la siguiente fórmula:

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

**Donde:**

Z: Nivel de confianza al 95%

p: Proporción estimada 50%

e: Error muestral 5%

n: Tamaño de la muestra

**n = Número de conglomerados 384**

Tabla 1: Distribución de Conglomerados y número de bovinos por Región para muestreo.

Región	Población de Bovinos	No. Conglomerados por Región**	No. Mínimo de bovinos	No. De muestras
Cajamarca	724,478	57	6	344
La Libertad	215,224	17	8	136
Lambayeque	95,061	7	6	42
Piura	208,181	16	8	132
Tumbes	12,494	1	34	34
Ica	32,598	2	25	50
Junín	194,230	15	9	138
Lima	289,679	23	6	137
Pasco	106,566	8	6	51
Apurímac	298,214	24	12	283
Ayacucho	414,066	33	13	425
Cuzco	407,267	32	7	225
Callao	118	1	10	10
Moquegua	26,303	2	16	33
Puno	617,163	49	14	683
Huancavelica	184,267	15	6	87
Huánuco	254,342	21	6	126
Arequipa	235,092	18	6	108
Amazonas	157,166	12	6	75
Loreto	46,646	4	15	55
Madre de Dios	50,145	4	16	63
San Martín	228,826	18	8	145
Ucayali	60,913	5	9	43
<b>Total</b>	<b>4,859,039</b>	<b>384</b>		<b>3,425</b>

\*Total de población de Bovinos / 384 Conglomerados = 12,653.75

\*\*Población de bovinos de cada Región/12,653.75 = número de conglomerados por región x número de bovinos = número de bovinos a muestrear por región.

Total de muestras de suero de bovinos procesados fue de 3,425.

### **Criterios de inclusión**

Se consideró a todos los bovinos de diferente edad, raza, estado productivo y reproductivo de predios con crianza extensiva, intensiva y mixta.

### **Criterios de exclusión**

Dentro de las Regiones se excluyó a las provincias que tuvieron una población menor a 5000 animales.

### **3.6. Materiales de laboratorio:**

- Kit de ELISA ID Screen® Bluetongue Competition, IDVet, Montpellier, France
- Pipetas automáticas canal simple y multicanal
- Puntas de pipetas desechables
- Agua destilada
- Botella para enjuagar
- Recipiente de 1 – 2 litros para PBS
- Papel absorbente
- Probeta de 100 a 1000 ml
- Mascarillas o barbijos
- Parafilm
- Viales de 2 ml
- Guantes desechables

- Mandiles

### **3.7. Equipos**

- Estufa incubadora 37°C
- Balanza analítica
- Refrigeradora
- Congeladora de -20°C
- Cronómetro de tiempo
- Lector de ELISA
- Vortex.

Se contó con los equipos e instalaciones del Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) y el Laboratorio de Inmunología e Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca (UNC).

### **3.8. Metodología**

#### **3.8.1. Recolección de datos para determinar factores de Riesgo**

Se aplicó un cuestionario a cada uno de los predios de los cuales se colectó las muestras de sangre. El cuestionario fue diseñado por el personal del Programa de Control de Brucelosis del SENASA. Los factores de riesgo a evaluar fueron: altitud, temperatura, humedad, precipitación y edad.

### **3.8.2. Toma de muestras sanguíneas y conservación**

Las muestras de sangre fueron colectadas por el personal del SENASA al azar, de cada predio o clúster durante el Monitoreo Serológico Nacional de Brucelosis Bovina (junio a octubre 2018), una vez procesadas las muestras (sueros) fueron donados para el desarrollo de la presente investigación; gracias a un convenio interinstitucional entre SENASA y la UNMSM.

Los sueros sanguíneos de bovinos de todo el país fueron conservados en viales de 2 ml a -20 °C, luego se analizaron serológicamente mediante un ELISA competitivo en dos grupos, en el primer grupo estuvieron las muestras del sur y centro del país que se analizaron en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM, y el segundo grupo incluyó las muestras del norte del país las cuales se procesaron en el Laboratorio de Inmunología e investigación de la UNC.

### **3.8.3. Detección de anticuerpos contra VLA**

Los anticuerpos específicos contra el VLA fueron detectados mediante el kit comercial de ELISA competitivo para suero (ID Screen® Bluetongue Competition, IDVet, Montpellier, France) según las instrucciones del fabricante.

#### **- Descripción y Principio de la prueba de ELISA**

Los pocillos de la placa de ELISA están sensibilizados con la proteína recombinante VP7 del VLA. Las muestras analizadas y los controles fueron distribuidos en los pocillos. En presencia de anticuerpos contra la proteína VP7, se forma un complejo antígeno-anticuerpo que encubre los epítomos de la VP7. Un conjugado anti-VP7 marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés) fue distribuido en los pocillos. Éste se fijó a

los epítomos VP7 libres restantes, formando un complejo antígeno-conjugado-HRP. Después de la eliminación del conjugado en exceso mediante lavados, se añadió la solución de revelado (TMB). La coloración que resulta está vinculada a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra analizada:

- En ausencia de anticuerpos en la muestra, aparece una coloración azul que se convierte en amarillo después de la adición de la solución de parada.

- En presencia de anticuerpos en la muestra, no aparece ninguna coloración. La densidad óptica de la microplaca fue leída a 450 nm.

## **Procedimiento**

### **- Preparación de la Solución de Lavado (Vandenbussche et al., 2007)**

Es necesario equilibrar la solución de lavado concentrada (20X) a temperatura ambiente ( $21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ), la cual se agitó correctamente para obtener la disolución de los cristales.

Se preparó la solución de lavado (1X) diluyendo 1:20 la solución de lavado concentrada (20X) en agua destilada / desionizada. Los resultados pueden ser influenciados dependiendo de la calidad del lavado. Es necesario asegurarse que los pocillos se encuentren completamente vacíos entre cada lavado.

### **- Preparación de las muestras**

Las muestras de suero sanguíneo fueron colocadas a temperatura ambiente para su descongelación.

- **Desarrollo de la prueba de ELISA**

Se colocó todos los reactivos a temperatura ambiente ( $21^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) antes de utilizarlos, luego se homogenizó bien por inversión utilizando un vortex.

1. Se añadió:

- 50  $\mu\text{l}$  del Diluyente de la muestra en todos los pocillos.

- 50  $\mu\text{l}$  del Control Positivo en los pocillos A1 y B1.

- 50  $\mu\text{l}$  del Control Negativo en los pocillos C1 y D1.

- 50  $\mu\text{l}$  de cada muestra a analizar en los pocillos restantes.

2. Se cubrió la placa e incubó por 45 minutos  $\pm$  4 minutos a  $21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

3. Luego se preparó el Conjugado 1X diluyendo el Conjugado 10X al 1:10 con el diluyente de la muestra

4. Se distribuyó 100  $\mu\text{l}$  del Conjugado 1X en todos los pocillos.

5. Se cubrió la placa e incubó 30 minutos  $\pm$  3 minutos a  $21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

6. Se lavó todos los pocillos 3 veces con al menos 300  $\mu\text{l}$  de la solución de lavado, evitando que los pocillos se sequen entre los lavados.

7. Luego se distribuyó 100  $\mu\text{l}$  de solución de revelado en todos los pocillos.

8. Se cubrió la placa y se incubó por 15 minutos  $\pm$  2 minutos a  $21^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) en la oscuridad.

9. Después se distribuyó 100  $\mu\text{l}$  de solución de parada en cada pocillo, en el mismo orden que en el paso N°7 para detener la reacción.

10. Finalmente se realizó la lectura de la densidad óptica a 450 nm.

- **Validación**

El ensayo fue validado si:

La densidad óptica media del control negativo (DOCN) es superior a 0.77

$$\text{DOCN} > \mathbf{0.77}$$

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

$$\text{DOCP/DOCN} < 0.3$$

- **Interpretación:** Para cada muestra se calculó el porcentaje de competición (S/N%).

$$SN\% = \frac{DO \text{ Muestra}}{DO \text{ CN}} \times 100$$

- **Interpretación de los Resultados:**

$$S/N \% < 40 \% \text{ POSITIVO}$$

$$S/N \% \geq 40 \% \text{ NEGATIVO}$$

### 3.8.4. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

- La determinación de la seroprevalencia del VLA se realizó mediante la fórmula: (Thursfield, 2005).

$$\text{Seroprevalencia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{N}^\circ \text{ de muestras analizadas}} \times 100$$

- Para el análisis de la hipótesis se realizó la prueba de Z de proporciones (Apéndice).

- El análisis estadístico para los Factores de Riesgo de VLA se procesó de la siguiente manera:

Las variables recolectadas en campo a través de los formatos de registro y antecedentes de los predios seleccionados fueron sometidas a la prueba R de Pearson para determinar la intensidad de la correlación, con la ayuda del siguiente cuadro donde se presentan los rangos para la interpretación de los resultados (Cohen, J. 1988).

<b>Rango de valores de <math>r_{xy}</math></b>	<b>Interpretación</b>
$0.00 \leq  r_{xy}  < 0.10$	Correlación nula
$0.10 \leq  r_{xy}  < 0.30$	Correlación débil
$0.30 \leq  r_{xy}  < 0.50$	Correlación moderada
$0.50 \leq  r_{xy}  < 1.00$	Correlación fuerte

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Seroprevalencia:

En el análisis para determinar la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú (con excepción de Tacna y Ancash) mediante la prueba de ELISA de competición se halló que, de un total de 3,425 muestras de suero 653 fueron positivas y 2,772 fueron negativas a anticuerpos contra el VLA. Por lo tanto, la seroprevalencia a nivel nacional es del 19.1% con intervalos de confianza entre 17.75 y 20.38%; y con un nivel de confianza del 95% (Apéndice).

Tabla 2. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos del Perú mediante la prueba de ELISA de Competición.

Resultado	Frecuencia	Porcentaje %
Positivo	653	19.1
Negativo	2,772	80.9
Total	3,425	100

Debido a la falta de estudios sobre prevalencia del VLA en bovinos del Perú, citaremos un primer reporte de una encuesta serológica realizada en varios países de Sudamérica donde se incluyó a Perú, hallándose una prevalencia para ovinos del norte (87.5%), centro (41%) y sur (55.5%) de nuestro País; para determinar la seroprevalencia del VLA se utilizó la técnica

de inmunodifusión en gel de agar (AGID), estos resultados difieren con la prevalencia obtenida en este estudio 19.1% como lo muestra la Tabla 2. Es muy probable que se deba a que algunos animales seropositivos al VLA estuvieran realmente infectados con otros orbivirus relacionados, como el virus de la enfermedad hemorrágica epizoótica, ya que son muy comunes las reacciones cruzadas con AGID (Lager, 2004) .

Otros estudios realizados en bovinos reportaron una seroprevalencia del 51.8% para Córdova y Antioquía, dos departamentos del norte de Colombia (Homan et al., 1985), así mismo se halló una seroprevalencia del VLA en bovinos desde el 10.3% en la provincia de El Oro al sur de Ecuador (López et al., 1985) hasta el 99% en la provincia de Manabí al norte de Ecuador (De la Torre et al., 2021); Para el estado de Aragua al centro de Venezuela se detectó una seroprevalencia del 74.8% por AGID y de 94.7% por cELISA en 1996 (González & Pérez, 2001), En cuanto a Chile, Lager reportó una seroprevalencia del VLA en bovinos del 19.6% (Lager, 2004); en cuanto a Bolivia se realizó una encuesta de enfermedades del ciervo gris en libertad donde también evaluaron al VLA mediante AGID hallándose una seroprevalencia del 0% en el Gran Chaco, una región al sureste de Bolivia, a pesar de ser una zona caracterizada por condiciones climáticas adecuadas para el ciclo de vida del vector (Deem et al., 2004).

Brasil es el país más grande de América del Sur, cuenta con una superficie de 8,514.877  $km^2$  que representa casi el 50% del área total de América del Sur; además limita con la mayoría de los países de este continente, su clima es mayormente tropical. Varios informes han demostrado que el VLA está extendido por todo Brasil, reportándose prevalencias en ovinos que van desde 0.43% hasta 65% mediante la técnica AGID (Souza et al., 2010) y

74.1% mediante la prueba ELISA CFS (Nogueira et al., 2009); para bovinos se reportaron prevalencias alrededor del 52% (Haas et al., 2020; Tomich et al., 2009), estos resultados sugieren que el VLA se disemina en estas regiones, probablemente se deba a las condiciones de temperatura y humedad de las zonas, las cuales favorecen el ciclo de vida del vector.

Argentina es el segundo país más grande de América del Sur, con una superficie de 2,780.400  $km^2$ ; Lager en sus estudios detectó valores de seroprevalencias desde 0.7 – 2.7% en la provincia de Corrientes hasta 40.7% en bovinos y 95% en ovinos, ambos reportados de la provincia de Misiones (Lager, 2004), hallazgos como estos podemos observar en la tabla 2 de nuestro estudio donde se muestra la distribución de anticuerpos contra VLA en bovinos en cada región del País, hallándose la seroprevalencia en los departamentos como Madre de Dios, Ucayali, San Martín, Loreto, Tumbes y Piura con prevalencias que van del 70 a 100%, mientras que Apurímac, Ayacucho, Arequipa, Callao, Ica, La Libertad y Moquegua se obtuvo una prevalencia de 0%; Esto podría deberse a las condiciones climáticas que afectan la distribución del agente vector y a su vez la exposición al VLA, esto podría explicar el riesgo limitado de exposición al VLA en zonas con estas características climáticas y geográficas (Green et al., 2005)

En la mayoría de los predios de producción animal es común la presencia de varias especies es por ello que al encontrarse los caprinos conviviendo con los bovinos en un área determinada nos da más posibilidades de que en presencia del vector se pueda transmitir con mayor facilidad el VLA (Temoche Socola, 2019).

Tabla 3. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos del Perú por región, mediante la prueba de ELISA de competición.

<b>Regiones</b>	<b>No. Total de Muestras</b>	<b>No. Casos Positivos</b>	<b>No. Casos Negativos</b>	<b>Prevalencia %</b>
Madre de Dios	70	70	0	100
Ucayali	43	43	0	100
San Martín	137	132	5	96.35
Loreto	62	54	8	87.10
Tumbes	34	29	5	85.29
Piura	137	101	36	73.72
Pasco	44	25	19	56.82
Huánuco	130	57	73	43.85
Lambayeque	29	12	17	41.38
Cajamarca	366	94	272	25.68
Amazonas	80	9	71	11.25
Junín	134	15	119	11.19
Huancavelica	68	3	65	4.41
Lima	109	3	106	2.75
Cusco	228	4	224	1.75
Puno	685	2	683	0.29
Apurímac	294	0	294	0
Arequipa	120	0	120	0
Ayacucho	422	0	422	0
Callao	11	0	11	0
Ica	50	0	50	0
La Libertad	138	0	138	0
Moquegua	34	0	34	0
<b>TOTALES</b>	<b>3425</b>	<b>653</b>	<b>2772</b>	<b>19.07</b>

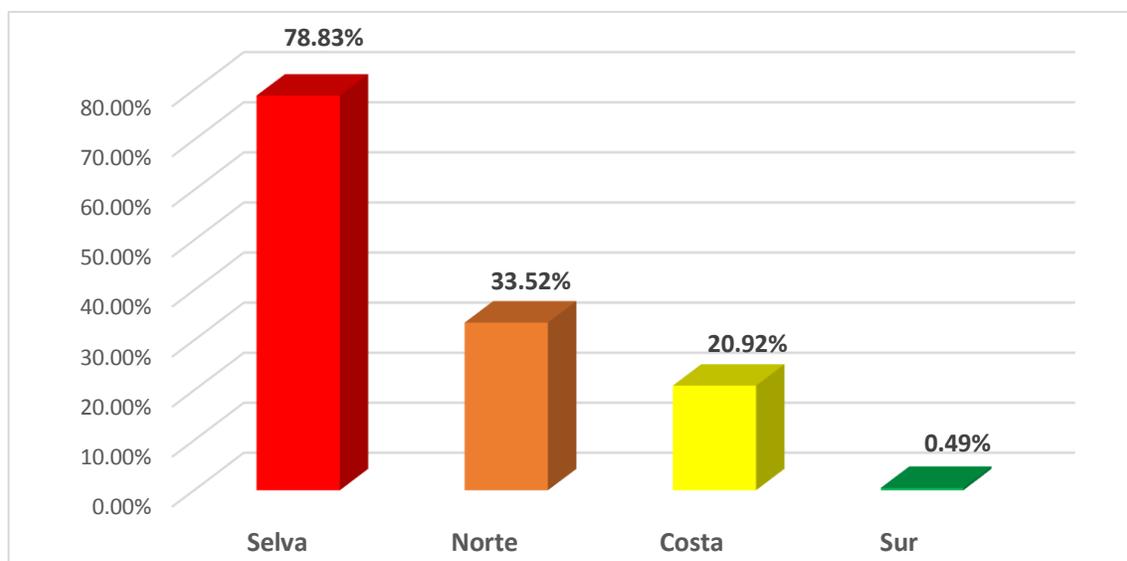


Figura 2: Seroprevalencia de anticuerpos del VLA, mediante la prueba de ELISA de competición en bovinos del Perú, de acuerdo con la ubicación geográfica.

En la figura 2 observamos la distribución de anticuerpos de VLA en las diferentes regiones del Perú, de acuerdo con su ubicación geográfica. Se aprecia una seroprevalencia del 78.83% en las regiones de la selva, del 33.52% para las regiones del norte, 20.92% para las regiones del centro, y 0.49% para las regiones del sur de nuestro país.

Tabla 4: Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en la selva del Perú.

Ubicación	Regiones	No. Muestras	Positivos	Negativos	Seroprevalencia %
Selva	Amazonas	80	9	71	11.25
	Loreto	62	55	7	88.71
	Madre de Dios	70	70	0	100
	San Martín	137	132	5	96.35
	Ucayali	43	43	0	100
		<b>392</b>	<b>309</b>	<b>83</b>	<b>78.83</b>

Para la zona selva del Perú, nuestro estudio halló una prevalencia del 78.83%, con prevalencias del 100%, 100%, 96.35%, 88.71% y 11.25 para las regiones de Ucayali, Madre de Dios, San Martín, Loreto y Amazonas respectivamente (Figura 2). Esta zona tiene un territorio el cual es el más extenso de nuestra geografía con cobertura de bosques tropicales húmedos, con temperaturas que fluctúan entre 22 °C y 31 °C, con abundantes lluvias (máximas superiores a 8000 mm/año), con altitud que puede ir desde los 500 msnm hasta los 3000 msnm. Todas estas condiciones favorecen la presencia del VLA en bovinos porque se encuentra el hospedero susceptible, el reservorio del virus y las condiciones climáticas para el vector competente (Da Silva et al., 2018; Tabachnick, 2010).

Tabla 5: Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en el norte del Perú.

<b>Ubicación</b>	<b>Regiones</b>	<b>No. Muestras</b>	<b>Positivos</b>	<b>Negativos</b>	<b>Seroprevalencia %</b>
<b>Norte</b>	Cajamarca	366	94	272	25.68
	La Libertad	138	0	138	0
	Lambayeque	29	12	17	41.38
	Piura	137	101	36	73.72
	Tumbes	34	29	5	85.29
		<b>704</b>	<b>236</b>	<b>468</b>	<b>33.52</b>

Un estudio sobre prevalencia del VLA en Perú, fue realizado en caprinos de las 5 regiones ubicadas en el norte del país mediante la prueba de ELISA de competición, el cual halló una seroprevalencia del 23.8% para las regiones del norte del país, donde el 34.9% fue para la región de Piura, Tumbes 20.9%, Cajamarca con el 9.5% y Lambayeque con un 6.0%, no se detectó anticuerpos en caprinos de la Libertad (Escano L., 2022) estos datos difieren con

los hallados en este estudio (Tabla 5) sin embargo debemos tener en cuenta que no se trata de la misma especie y la cantidad de la muestra debido a la diferencia de poblaciones de caprinos y bovinos, estos datos nos dan una idea de cómo está la distribución del VLA en bovinos en esta zona del país, Así mismos esta zona está comprendida dentro del espacio geográfico de 40° latitud norte y 35° latitud sur, donde el VLA es endémico (Purse et al., 2015).

De igual manera, en el presente estudio se obtuvo una seroprevalencia de 0.49% (Tabla 7) en las regiones del sur del Perú, lo cual estaría coincidiendo con lo reportado en el estudio antes mencionado para la región de la Libertad, donde no se detectó anticuerpos contra VLA, esto podría deberse a sus condiciones climáticas que afectan la distribución del agente vector y a su vez la exposición al VLA, lo cual podría explicar el limitado riesgo de exposición al VLA en zonas con estas características climáticas y geográficas (Green et al., 2005), sin embargo hubo animales que resultaron positivos en el presente estudio lo que se podría deber a la introducción de animales nuevos al rebaño con el fin de mejorar su producción (Da Silva et al., 2018).

Tabla 6: Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en el centro del Perú.

Ubicación	Regiones	No. Muestras	Positivos	Negativos	Seroprevalencia %
<b>Centro</b>	Huánuco	130	57	73	43.85
	Ica	50	0	50	0
	Junín	134	15	119	11.19
	Lima Callao	120	3	117	2.48
	Pasco	44	25	19	56.82
		<b>478</b>	<b>100</b>	<b>378</b>	<b>20.92</b>

Para el centro del País obtuvimos una seroprevalencia del 20.92%, esta zona se encuentra conformado por las regiones Huánuco, Ica, Junín, Lima y Pasco con prevalencias del 43.85%, 0%, 11,19%, 2.48%, 56.82% respectivamente (Tabla 5); Se realizó un estudio donde se detectó anticuerpos contra el VLA en una población de ovinos de raza Junín criados a 3800 msnm en la provincia de Jauja, y en ovinos de raza Blackbelly criados a 600 msnm en la provincia de Chanchamayo, Junín, Perú. La detección de anticuerpos contra el VLA se hizo mediante la prueba de ELISA de competición. El 100% (306/306) de las muestras de los ovinos Junín resultaron negativos a anticuerpos contra el VLA, mientras que 56.1% (46/82) de las muestras de ovinos Blackbelly tuvieron anticuerpos contra el virus. La ausencia de anticuerpos contra el VLA en ovinos criados a 3800 msnm indica que no estuvieron expuestos al VLA, sugiriendo que las condiciones geográficas y climáticas como la altitud y bajas temperaturas constituyen una barrera para la biología del vector transmisor del virus, en tanto que los ovinos criados a 600 msnm estuvieron expuestos, indicando la presencia del vector competentes para la transmisión del VLA (Jurado et al., 2020).

Tabla 7: Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos de las regiones ubicadas geográficamente en el sur del Perú.

Ubicación	Regiones	No. Muestras	Positivos	Negativos	Seroprevalencia %
<b>Sur</b>	Apurímac	294	0	294	0
	Arequipa	120	0	120	0
	Ayacucho	422	0	422	0
	Cusco	228	4	224	1.75
	Huancavelica	68	3	65	4.41
	Moquegua	34	0	34	0
	Puno	685	2	683	0.29
		<b>1851</b>	<b>9</b>	<b>1842</b>	<b>0.49</b>

#### 4.2. Factores de riesgo:

Tabla 8. Altitud y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú.

Altitud (m.s.n.m.)	Resultado		Porcentaje	
	No. Negativos	No. Positivos	% Negativos	% Positivos
0 - 1,500	336	463	42.1	57.9
1,501 - 3,000	524	161	76.5	23.5
3,001 - 4,700	1912	29	98.5	1.5
Total	2772	653		

En cuanto a la altitud como factor de riesgo, el presente estudio encontró que la seroprevalencia es del 57.9% en alturas de 0 a 1,500 msnm y 23.5% a alturas de 1,501 a 3,000 msnm (Tabla 8), esto nos indica que hay una mayor seroprevalencia a una menor altitud (0-3000 m.s.n.m.) y que conforme se incrementa la altitud, la seroprevalencia del VLA disminuye.

En un estudio realizado en 110 rebaños de los estados de Nebraska, Dakota del Norte y Dakota del Sur, tuvo como objetivo evaluar los factores de riesgo para el ganado bovino seropositivo al VLA; Las muestras se analizaron en busca de anticuerpos contra el virus de la lengua azul mediante el uso de un ELISA competitivo, así mismo los factores evaluados fueron su ubicación geográfica y las prácticas de manejo; donde se concluyó que la altitud (en un rango de 324 a 1,260 msnm) está asociada con el riesgo de tener ganado seropositivo y que la altitud se asoció con un aumento en el riesgo de tener ganado seropositivo al VLA (Green et al., 2005); así mismo otros autores también coinciden en que altitud es un factor de riesgo para la seroprevalencia al VLA (Qin et al., 2020; Schmidtman et al., 2011), esto se debe a que a mayores altitudes disminuiría la seroprevalencia ya que no presenta las condiciones necesarias para el desarrollo del vector competente; cabe resaltar que en nuestro análisis de la fuerza o intensidad de correlación fue fuerte (0,606 ) para nuestro estudio.

Para conocer la intensidad o fuerza de esta asociación, se realizó el cálculo del coeficiente de correlación R de Pearson ver Apéndice.

Tabla 9. Humedad y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú.

Humedad Relativa (%)	Resultado		Porcentaje	
	No. Negativos	No. Positivos	% Negativos	% Positivos
30-55	289	9	97	3
56-75	1983	305	86.7	13.3
76-95	500	339	59.6	40.4
Total	2772	653		

Para conocer la intensidad o fuerza de esta correlación, se realizó el cálculo del coeficiente de correlación R de Pearson; para el presente estudio se obtuvo un valor de 0,365 lo cual indica que la fuerza de correlación es moderada entre la humedad relativa y la seroprevalencia de VLA en bovinos del Perú (ver Apéndice).

Tabla 10. Precipitación y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú.

Precipitación (mm/día)	Resultado		Porcentaje	
	No. Negativos	No. Positivos	% Negativos	% Positivos
0-6	2693	473	85.1	14.9
6,1-13	53	157	25.2	74.8
13,1-20	26	23	53.1	46.9
	2772	653		

La intensidad o fuerza de esta correlación mediante R de Pearson es de 0,328 lo cual indica que la fuerza de correlación entre el factor precipitación y seroprevalencia de VLA en bovinos del Perú es moderada (Ver Apéndice).

Para el caso de las variables humedad relativa y seroprevalencia en la Tabla 9 se puede apreciar que hay una mayor seroprevalencia al VLA en las regiones con mayor humedad (56% -95%) y que conforme se incrementa la humedad mayor será la seroprevalencia de VLA en bovinos del Perú; y en cuanto a las variables precipitación y seroprevalencia de VLA en la Tabla 10 nos indica que hay una mayor seroprevalencia del VLA en las regiones con mayor precipitación y que conforme se incrementa la precipitación mayor será la seroprevalencia de VLA en bovinos del Perú.

Investigaciones señalan que en regiones con alta temperatura y humedad asociadas a la producción ganadera intensiva permiten la multiplicación y el mantenimiento constante de la población de vectores. Las generaciones anuales de Culicoides están influenciadas principalmente por la temperatura y la lluvia, creando áreas adecuadas de reproducción de vectores lo cual conllevaría al aumento de las tasas de transmisión durante periodos lluviosos y calurosos; lo cual concuerda con nuestra investigación donde hallamos una mayor

seroprevalencia de anticuerpos al VLA en las regiones de la selva del Perú (78.83%); regiones con clima caluroso y lluvioso como lo muestra el gráfico 2 (Mellor et al., 2000). Así como también en muchas de las regiones de Brasil que tienen clima tropical y subtropical, con alta temperatura y humedad durante todo el año, se han reportado altas tasas de seroprevalencia de VLA, debido a las condiciones climáticas de humedad y temperatura que permiten el aumento de tasas de transmisión durante periodos lluviosos que permiten tener una humedad adecuada para la presencia del vector trasmisor del VLA (Da Silva et al., 2018).

Tabla 11. Temperatura mínima y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú.

Temperatura mín.(°C)	Resultado		Porcentaje	
	No. Negativos	No. Positivos	% Negativos	% Positivos
Bajo cero	460	7	98.5	1.5
0-7	1476	22	98.5	1.5
7.01-15	668	154	81.3	18.7
15.01-23	168	470	26.3	73.7
	2772	653		

La intensidad o fuerza de correlación mediante R de Pearson para el factor temperatura mínima, es de 0,657 lo cual indica que la fuerza de correlación es fuerte (Ver Apéndice).

En la Tabla 11 la variable temperatura mínima y seroprevalencia al VLA apreciamos que hay un mayor porcentaje de seroprevalencia (73.7%) en las regiones donde las temperaturas que van de 15 a 23 °C.

Tabla 12. Temperatura máxima y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú.

Temperatura máx. (°C)	Resultado		Porcentaje	
	No. Negativos	No. Positivos	% Negativos	% Positivos
14-23	1645	31	98.2	1.8
23.01-32	1047	292	78.2	21.8
32.01-41	80	330	19.5	80.5
	2772	653		

La intensidad o fuerza de esta correlación mediante R de Pearson para el factor temperatura máxima, es de 0,614 lo cual indica que la fuerza de asociación es fuerte (Ver Apéndice).

En la Tabla 12 la variable temperatura máxima y seroprevalencia al VLA nos indica que hay un mayor porcentaje de seroprevalencia (80.5%) en las regiones donde las temperaturas que están entre 32 a 41 °C.

Para nuestro estudio el factor temperatura mostró una correlación con la presentación de la seroprevalencia al VLA; esta correlación tuvo una fuerza de correlación fuerte, es decir a medida que la temperatura aumenta también se incrementa la seroprevalencia al VLA en bovinos del Perú. Es por ello que en algunas regiones de nuestro país con estas temperaturas altas y constantes son condiciones adecuadas para la continua propagación del VLA. Así como el estudio que se realizó en rebaños lecheros holandeses al determinar el aumento de la seroprevalencia de las infecciones por el VLA ( serotipo 8) en el cual señala que las diferencias en el aumento de la seroprevalencia podría deberse a diferencias estacionales que tuvieron en los meses de verano e invierno, ya que para este estudio se observó que las

temperaturas estuvieron entre los 15 °C y 18 °C en los meses de verano, lo cual fue favorable para la presencia del vector y por consiguiente la trasmisión del VLA, sin embargo en cuanto a los meses de invierno las temperaturas descendieron, dando como resultado la ausencia de vector por las condiciones de temperatura desfavorable (Santman-Berends et al., 2010).

Así como en la meseta Tibetana, China en un estudio de seroprevalencia de VLA en ovejas, bisontes y yaks asiáticos, los autores observaron que la estacionalidad era un factor de riesgo para la infección por VLA, con el verano y el otoño en mayor riesgo (J. G. Ma et al., 2017) de igual manera se ha observado una baja prevalencia de anticuerpos contra el VLA en bovinos y ovinos en regiones de Brasil donde las condiciones climáticas son desfavorables para el desarrollo del vector (Souza et al., 2010).

Tabla 13. Edad y su relación con la seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú.

Edad (meses)	Resultado		Porcentaje	
	No. Negativos	No. Positivos	% Negativos	% Positivos
0-50	1901	427	81.7	18.3
51-100	844	210	80.1	19.9
101-150	27	16	62.8	37.2
	2772	653		

La intensidad o fuerza de esta correlación mediante R de Pearson es de 0,043 lo cual indica que la fuerza de correlación entre edad y seroprevalencia de VLA es nula (Ver Apéndice).

En cuanto a las variables edad y seroprevalencia en la Tabla 13 nos muestra que hay una mayor seroprevalencia en bovinos que están entre 101-150 meses de edad (37.2%) y que

conforme se incrementa la edad de los bovinos también se incrementa la seroprevalencia de VLA en bovinos del Perú; , lo cual concuerda con lo reportado en un estudio similar realizado en cabras y ovejas de Mongolia interior, China (Ma et al., 2018); ya que reportó que el riesgo de infección por VLA era significativamente mayor en animales mayores de 24 meses en comparación con los de 2 y 24 meses y los de entre 6 y 12 meses de edad, lo que también es respaldado por un estudio donde determina a la edad de los animales en este caso cabras y ovejas como un factor influyente en la seroprevalencia de la enfermedad (Mohammadi et al., 2012) .

Sin embargo aunque la edad de los animales estaría relacionada a la seroprevalencia del VLA en bovinos, en el presente estudio resultó tener una fuerza de correlación nula, lo cual se acercaría a lo que se reportó en un estudio donde se indica que la edad de los animales susceptibles no se asoció con la infección por VLA (Green et al., 2005) .

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES**

La seroprevalencia del VLA en bovinos del Perú es del 19.1% (95% IC:17.75-20.38).

En regiones ubicadas en la parte selva del Perú se halló el mayor porcentaje (78.83%) de seroprevalencia de VLA en bovinos del Perú, seguido por el norte (35.52%) y centro (20.92%).

Dentro de las regiones ubicadas en la selva peruana, se halló una mayor seroprevalencia de VLA en Ucayali, Madre de Dios, San Martín y Loreto con 100%,100%,96.35% y 88.71% respectivamente, en Amazonas se halló el 11.25%.

Dentro de las regiones ubicadas en el norte del Perú, se halló una mayor seroprevalencia de VLA en Tumbes, Piura y Lambayeque con el 85.29%, 73.72% y 41.38% respectivamente; seguido de Cajamarca con 25.68%.

Dentro de las regiones ubicadas en el centro del Perú, se halló una mayor seroprevalencia de VLA en Pasco y Huánuco con el 56.82%, 43.85% respectivamente; seguido de Junín con 11.19% y para Lima y Callao 2.48%.

Dentro de las regiones ubicadas en el Sur del Perú, se halló una seroprevalencia de VLA en Huancavelica, cusco y Puno con el 4.41%, 1.75% y 0.29% respectivamente.

En las regiones de Ica, La Libertad, Moquegua, Apurímac. Arequipa, Ayacucho y el Callao se halló 0% de seroprevalencia de VLA.

En cuanto a los factores de riesgo estudiados concluimos que la altitud, humedad, precipitación, temperatura se encuentran correlacionados a la seroprevalencia al VLA en

bovinos del Perú, sin embargo, la fuerza o intensidad de correlación es fuerte para la altitud y temperatura y moderada para humedad y precipitación.

La edad es un factor que no está correlacionada a la seroprevalencia al VLA en bovinos del Perú.

**Financiamiento:**

El presente trabajo de tesis fue financiado por el Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA) – CONCYTEC en el marco de la convocatoria de Proyectos de Investigación Básica 2019-01 (Contrato No. 356-2019-FONDECYT).

## LISTA DE REFERENCIAS

- Afshar, A., Anderson, J., Eaton, B. T., & Gustafson, G. A. (1991). Serological diagnosis of bluetongue by blocking or competitive ELISA by four laboratories. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 3, 255–257. <https://doi.org/10.1177/104063879100300314>
- Anderson, J. (1984). Use of monoclonal antibody in a blocking ELISA to detect group specific antibodies to bluetongue virus. *Journal of Immunological Methods*, 74, 139–149. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(84\)90375-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(84)90375-2)
- Anthony, S., Jones, H., Darpel, K. E., Elliott, H., Maan, S., Samuel, A., Mellor, P. S., & Mertens, P. P. C. (2007). A duplex RT-PCR assay for detection of genome segment 7 (VP7 gene) from 24 BTV serotypes. *Journal of Virological Methods*, 141, 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.12.013>
- Basak, A. K., Grimes, J. M., Gouet, P., Roy, P., & Stuart, D. I. (1997). Structures of orbivirus VP7: Implications for the role of this protein in the viral life cycle. *Estructure*, 5(7), 871–883. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(97\)00242-6](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(97)00242-6)
- Billinis, C., Koumbati, M., Spyrou, V., Nomikou, K., Mangana, O., Panagiotidis, C. A., & Papadopoulos, O. (2001). Bluetongue virus diagnosis of clinical cases by a duplex reverse transcription-PCR: A comparison with conventional methods. *Journal of Virological Methods*, 98, 77–89. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(01\)00360-3](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(01)00360-3)
- Boyce, M., Celma, C. C. P., & Roy, P. (2012). Bluetongue virus non-structural protein 1 is a positive regulator of viral protein synthesis. *Virology Journal*, 9, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-178>
- Braverman, Y., Frish, K., Reis, M., & Mumcuoglu, K. Y. (2012). Host Preference of Culicoides spp from Israel Based on Sensory Organs and Morphometry (Diptera: Ceratopogonidae). *Entomologia Generalis*, 34(1–2), 97–110. <https://doi.org/10.1127/entom.gen/34/2012/97>
- Bréard, E., Sailleau, C., Coupier, H., Mure-Ravaud, K., Hammoumi, S., Gicquel, B., Hamblin, C., Dubourget, P., & Zientara, S. (2003). Comparison of genome segments 2, 7 and 10 of bluetongue viruses serotype 2 for differentiation between field isolates and the vaccine strain. *Veterinary Research*, 34, 777–789. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Coetzee, P., Stokstad, M., Venter, E. H., Myrmel, M., & Van Vuuren, M. (2012). Bluetongue: A historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virology Journal*, 9, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-198>
- Cohen, J. (n.d.). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*.
- Da Silva, T. G., Lima, M. S., Spedicato, M., Carmine, I., Teodori, L., Leone, A., Martins, M. S. N., Buchala, F. G., Hellwig, K. S., de Campos Nogueira Romaldini, A. H., De Stefano, E., Savini, G., & Pituco, E. M. (2018). Prevalence and risk factors for bluetongue in the State of São Paulo, Brazil. *Veterinary Medicine and Science*, 4, 280–

287. <https://doi.org/10.1002/vms3.113>

- De la Torre, E., Moreira, N., Saegerman, C., De Clercq, K., Salinas, M., Maldonado, A., Jarrín, D., Vaca, M. S., Pachacama, S., Espinoza, J., Delgado, H., & Barrera, M. (2021). Bluetongue virus infections in cattle herds of manabí province of Ecuador. *Pathogens*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS10111445>
- Deem, S. L., Noss, A. J., Villaroel, R., Uhart, M. M., & Karesh, W. B. (2004). Disease survey of free-ranging grey brocket deer (*Mazama gouazoubira*) in the Gran Chaco, Bolivia. *Journal of Wildlife Diseases*, *40*(1), 92–98. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-40.1.92>
- Dennis Navarro, M., Miguel Rojas, M., Jessica Jurado, P., Alberto Manchego, S., Mercy Ramírez, V., Ana Castillo, E., & Hermelinda Rivera, G. (2019). Molecular detection of Bluetongue virus in *Culicoides insignis* and sheep of Pucallapa, Peru. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *30*(1), 465–476. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15690>
- Doceul, V., Chauveau, E., Lara, E., Breard, E., Sailleau, C., Zientara, S., & Vitour, D. (2014). Dual Modulation of Type I Interferon Response by Bluetongue Virus. *Journal of Virology*, *88*(18), 10792–10802. <https://doi.org/10.1128/jvi.01235-14>
- Elbers, A. R. W., & Meiswinkel, R. (2015). *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) and livestock in the Netherlands: Comparing host preference and attack rates on a Shetland pony, a dairy cow, and a sheep. *Journal of Vector Ecology*, *40*(2), 308–317. <https://doi.org/10.1111/jvec.12169>
- Erasmus, B. J. (1975). Bluetongue in Sheep and Goats. *Australian Veterinary Journal*, *51*, 165–170. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1975.tb00048.x>
- Escano L., J. A. (2022). *Seroprevalencia del virus de Lengua Azul en caprinos de los departamentos del norte : Tumbes , Piura , Lambayeque , La Libertad y Cajamarca Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario.*
- Feenstra, F., & Van Rijn, P. A. (2016). Current and next-generation bluetongue vaccines: Requirements, strategies, and prospects for different field situations. *Critical Reviews in Microbiology*, 2–15. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2016.1186005>
- Felippe-Bauer, M. L., Cáceres, A., Da Silva, C. S., Valderrama-Bazan, W., Gonzales-Perez, A., & Costa, J. M. (2008). New records of *Culicoides Latreille* (Diptera: Ceratopogonidae) from Peruvian Amazonian region. *Biota Neotropica*, *8*(2), 33–38. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032008000200002>
- Gaire, T. N., Karki, S., Dhakal, I. P., Khanal, D. R., Joshi, N. P., Sharma, B., & Bowen, R. A. (2014). Cross-sectional serosurvey and associated factors of bluetongue virus antibodies presence in small ruminants of Nepal. *BMC Research Notes*, *7*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-691>
- Gerdes, G. H. (2004). A South African overview of the virus, vectors, surveillance and unique features of bluetongue. *Veterinaria Italiana*, *40*(3), 39–42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20419632>

- Gibbs, E. P. J., & Greiner, E. C. (1994). The epidemiology of bluetongue. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 17, 207–220. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(94\)90044-2](https://doi.org/10.1016/0147-9571(94)90044-2)
- González, M. C., & Pérez, N. (2001). Induced Bluetongue Virus Seroconversion in Cattle from the State of Aragua, Venezuela. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV.*, 42 (3-4), 135–144.
- Goulda, E.A. and Higgs, S. (2008). Author Manuscript Author Manuscript Au. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 2, 109–121. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.07.025>.Impact
- Green, A. L., Dargatz, D. A., Schmidtman, E. T., Herrero, M. V., Seitzinger, A. H., Ostlund, E. N., Wagner, B. A., Moser, K. M., Wineland, N. E., & Walton, T. E. (2005). Risk factors associated with herd-level exposure of cattle in Nebraska, North Dakota, and South Dakota to bluetongue virus. *American Journal of Veterinary Research*, 66(5), 853–860. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.853>
- Haas, D. J., De Melo Barbieri, J., Pereira De Freitas, E. J., Da Silva Oliveira, M., Porto, B. R., Rodrigues, R. O., Heinemann, M. B., De Almeida, A. C., Portela Lobato, Z. I., Seles Dorneles, E. M., & Lage, A. P. (2020). Seroprevalence and intercurrency of reproductive pathogens in cattle from family farms in North of Minas Gerais, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, 41(1), 145–158. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n1p145>
- Hassan, S. H., Wirblich, C., Forzan, M., & Roy, P. (2001). Expression and Functional Characterization of Bluetongue Virus VP5 Protein: Role in Cellular Permeabilization. *Journal of Virology*, 75(18), 8356–8367. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.18.8356-8367.2001>
- Hassan, S., & Roy, P. (1999). Expression and Functional Characterization of Bluetongue Virus VP2 Protein: Role in Cellular Permeabilization. *Journal of Virology*, 75(12), 9832–9842. <https://doi.org/10.1128/jvi.75.12.9832-9842.2001>
- Hijazeen, Z. S., Ismail, Z. B., & Al-Majali, A. M. (2020). Prevalence and risk factors of some arthropod-transmitted diseases in cattle and sheep in Jordan. *Veterinary World*, 13(1), 201–205. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.201-205>
- Homan, E. J., Taylor, W. P., Lorbacher de Ruiz, H., & Yuill, T. M. (1985). Bluetongue virus and epizootic haemorrhagic disease of deer virus serotypes in northern Colombian cattle. *Journal of Hygiene*, 95, 165–172. <https://doi.org/10.1017/S0022172400062409>
- Hyatt, A. D., Zhao, Y., & Roy, P. (1993). Release of bluetongue virus-like particles from insect cells is mediated by BTV nonstructural protein ns3/ns3a. *Virology*, 193, 592–603. <https://doi.org/10.1006/viro.1993.1167>
- INEI. (2012). IV Censo Nacional Agropecuario. *Resultados Definitivos. IV Censo Nacional Agropecuario*, 62. <http://proyectos.inei.gob.pe/web/DocumentosPublicos/ResultadosFinalesIVCENAGR O.pdf>

- 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. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 31(2), 1–8. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17850>
- Kar, A. K., Bhattacharya, B., & Roy, P. (2007). Bluetongue virus RNA binding protein NS2 is a modulator of viral replication and assembly. *BMC Molecular Biology*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-8-4>
- Kawanami, A. E., de Oliveira, J. P., Arenales, A., Crossley, B., Woods, L. W., Duarte, J. M. B., & Werther, K. (2018). Detection of bluetongue virus in Brazilian cervids in São Paulo state. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 38(1), 137–142. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-4550>
- Kirkland, P. D., Melville, L. F., Hunt, N. T., Williams, C. F., & Davis, R. J. (2004). Excretion of bluetongue virus in cattle semen: a feature of laboratory-adapted virus. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 497–501.
- Lager, I. A. (2004). Bluetongue virus in South America: overview of viruses, vectors, surveillance and unique features. *Veterinaria Italiana*, 40(3), 89–93. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20419641>
- Legisa, D., Gonzalez, F., De Stefano, G., Pereda, A., & Dus Santos, M. J. (2013). Phylogenetic analysis of bluetongue virus serotype 4 field isolates from Argentina. *Journal of General Virology*, 94, 652–662. <https://doi.org/10.1099/vir.0.046896-0>
- Lelli, R., Di Ventura, M., Mercante, M. T., Tittarelli, M., Mangana-Vougiouka, O., Nomikou, K., Conte, A., Di Emidio, B., Portanti, O., Giovannucci, G., Bonfini, B., Zaghini, M., & Caporale, V. (2004). Bluetongue laboratory diagnosis: a ring test to evaluate serological results using a competitive ELISA kit. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 577–580.
- López, W. A., Nicoletti, P., & Gibbs, E. P. J. (1985). Antibody to Bluetongue virus in cattle in Ecuador. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, 17(82), 1985.
- Ma, J. G., Zhang, X. X., Zheng, W. Bin, Xu, Y. T., Zhu, X. Q., Hu, G. X., & Zhou, D. H. (2017). Seroprevalence and Risk Factors of Bluetongue Virus Infection in Tibetan Sheep and Yaks in Tibetan Plateau, China. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5139703>
- Ma, J., Gao, X., Liu, B., Xiao, J., Chen, H., & Wang, H. (2018). Spatial Patterns and Risk Factors of Bluetongue Virus Infection in Inner Mongolia, China. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 20(7), 1–8. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2361>
- MacLachlan, N. J. (2011). Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. *Preventive Veterinary Medicine*, 102, 107–111. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.04.005>
- MacLachlan, N. J., Drew, C. P., Darpel, K. E., & Worwa, G. (2009). The Pathology and Pathogenesis of Bluetongue. *Journal of Comparative Pathology*, 141, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2009.04.003>

- MacLachlan, N. James. (1994). The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 17, 197–206. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(94\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0147-9571(94)90043-4)
- MacLachlan, N. James, & Guthrie, A. J. (2010). Re-emergence of bluetongue, African horse sickness, and other Orbivirus diseases. *Veterinary Research*, 41(35), 1–12. <https://doi.org/10.1051/vetres/2010007>
- Mayo, C. E., Gardner, I. A., Mullens, B. A., Barker, C. M., Gerry, A. C., Guthrie, A. J., & MacLachlan, N. J. (2012). Anthropogenic and meteorological factors influence vector abundance and prevalence of bluetongue virus infection of dairy cattle in California. *Veterinary Microbiology*, 155, 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.08.029>
- Medlock, J. M., & Leach, S. A. (2015). Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *The Lancet Infectious Diseases*, 15, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70091-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70091-5)
- Mellor, P. S., Boorman, J., & Baylis, M. (2000). Culicoides biting midges: Their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology*, 45, 307–340. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.307>
- Méroc, E., Herr, C., Verheyden, B., Hooyberghs, J., Houdart, P., Raemaekers, M., Vandebussche, F., De Clercq, K., & Mintiens, K. (2009). Bluetongue in Belgium: Episode II. *Transboundary and Emerging Diseases*, 56(1–2), 39–48. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01063.x>
- Mertens, P., Diprose, J., Maan, S., Singh, K. P., & Attoui, H. & S. A. (2004). Bluetongue virus replication, molecular and structural biology. *Veterinaria Italiana*, 40, 426–437.
- Ministerio del Ambiente; Senamhi. (2020). *Climas del Perú*. Mapa de Clasificación Climática Nacional.
- Mogajane, M. E. (2004). Trade implications of bluetongue in Africa. *Veterinaria Italiana*, 40(4), 691–692. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20422615>
- Mohammadi, A., Tanzifi, P., & Nemati, Y. (2012). Seroepidemiology of bluetongue disease and risk factors in small ruminants of Shiraz suburb, Fars province, Iran. *Tropical Biomedicine*, 29(4), 632–637.
- Navarro, D., Rivera, H., Cáceres, A., & Rondón, J. (2018). Identificación morfológica de Culicoides spp descritos como transmisores de Orbivirus, capturados en granjas de ovinos en Pucallpa, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(1), 302–309. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14203>
- Nogueira, A. H. C., Pituco, E. M., Stefano, E., Curci, V. C. L. M., & Cardoso, T. C. (2009). Detecção De Anticorpos Contra O Vírus Da Língua Azul Em Ovinos Na Região De Araçatuba–São Paulo, Brasil. *Ciência Animal ...*, 651, 1271–1276. <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewArticle/3782>
- OMSA. (2021). Bluetongue (Infection with bluetongue virus). In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. <https://www.woah.org/en/disease/bluetongue/>

- Puntel, M., Fondevila, N. A., Blanco Viera, J., O'Donnell, V. K., Marcovecchio, J. F., Carrillo, B. J., & Schudel, A. A. (1999). Serological survey of viral antibodies in llamas (*Lama glama*) in Argentina. *Journal of Veterinary Medicine*, *46*, 157–161. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.1999.00215.x>
- Purse, B. V., Carpenter, S., Venter, G. J., Bellis, G., & Mullens, B. A. (2015). Bionomics of temperate and tropical Culicoides midges: Knowledge gaps and consequences for transmission of Culicoides-borne viruses. *Annual Review of Entomology*, *60*(October), 373–392. <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*, *20*, 1–6. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2543>
- Ramadevi, N., Burroughs, N. J., Mertens, P. P. C., Jones, I. M., & Roy, P. (1998). Capping and methylation of mRNA by purified recombinant VP4 protein of bluetongue virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*, 13537–13542. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.23.13537>
- Ratinier, M., Caporale, M., Golder, M., Franzoni, G., Allan, K., Nunes, S. F., Armezzani, A., Bayoumy, A., Rixon, F., Shaw, A., & Palmarini, M. (2011). Identification and characterization of a novel non-structural protein of bluetongue virus. *PLoS Pathogens*, *7*(12), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002477>
- Rivera, H., Cárdenas, L., Ramírez, M., Manchego, A., More, J., Zúñiga, A., & Romero, M. (2013). INFECCIÓN POR ORBIVIRUS EN HUANGANAS (*Tayassu pecari*) DE MADRE DE DIOS. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *24*(4), 544–550.
- Rosadio, R. H., Evermann, J. F., & DeMartini, J. C. (1984). A preliminary serological survey of viral antibodies in peruvian sheep. *Veterinary Microbiology*, *10*, 91–96. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(84\)90059-2](https://doi.org/10.1016/0378-1135(84)90059-2)
- Santman-Berends, I. M. G. A., Bartels, C. J. M., van Schaik, G., Stegeman, J. A., & Vellema, P. (2010). The increase in seroprevalence of bluetongue virus (BTV) serotype 8 infections and associated risk factors in Dutch dairy herds, in 2007. *Veterinary Microbiology*, *142*, 268–275. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.10.026>
- Schmidtman, E. T., Herrero, M. V., Green, A. L., Dargatz, D. A., Rodriguez, J. M., & Walton, T. E. (2011). Distribution of culicoides sonorensis (Diptera: Ceratopogonidae) in Nebraska, South Dakota, and North Dakota: Clarifying the epidemiology of bluetongue disease in the northern great plains region of the United States. *Journal of Medical Entomology*, *48*(3), 634–643. <https://doi.org/10.1603/ME10231>
- Segura C, J. C., & Honhold, N. (2000). *Métodos de muestreo para la producción y salud animal*.
- Shaw, A. E., Monaghan, P., Alpar, H. O., Anthony, S., Darpel, K. E., Batten, C. A., Guercio, A., Alimena, G., Vitale, M., Bankowska, K., Carpenter, S., Jones, H., Oura, C. A. L., King, D. P., Elliott, H., Mellor, P. S., & Mertens, P. P. C. (2007).

- Development and initial evaluation of a real-time RT-PCR assay to detect bluetongue virus genome segment 1. *Journal of Virological Methods*, 145, 115–126.  
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.05.014>
- Souza, T. S., Costa, J. N., Martinez, P. M., Costa Neto, A. O., & Pinheiro, R. R. (2010). Anticorpos Contra O Vírus Da Língua Azul Em Rebanhos Ovinos Da Microrregião De Juazeiro, Bahia. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 77(3), 419–427.  
<https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p4192010>
- Spinelli, G. R., Santamaría, E., Cabrera, O. L., Ronderos, M. M., & Suárez, M. F. (2009). Five new species of Culicoides Latreille described from Colombia, yielding a new species list and country records (Diptera: Ceratopogonidae). *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(1), 81–92. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000100013>
- Stäuber, N., Martinez-Costas, J., Sutton, G., Monastyrskaya, K., & Roy, P. (1997). Bluetongue virus VP6 protein binds ATP and exhibits an RNA-dependent ATPase function and a helicase activity that catalyze the unwinding of double-stranded RNA substrates. *Journal of Virology*, 71(10), 7220–7226.  
<https://doi.org/10.1128/jvi.71.10.7220-7226.1997>
- Tabachnick, W. J. (2010). Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epizootics in a changing world. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 946–954. <https://doi.org/10.1242/jeb.037564>
- Temoche Socola, V. (2019). *Sistema de produccion de caprinos en tres zonas vulnerables al cambio climatico de la region de Piura* [Universidad Nacional Agraria La Molina]. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3985/temoche-socola-victor-alexander.pdf?sequence=1>
- Thursfield, M. (2005). Veterinary Epidemiology. In *Veterinary Clinical Studies*.  
<https://doi.org/10.1016/B0-72-169777-1/50023-8>
- Tomich, R. G. P., Serra, C. V., Bomfim, M. R. Q., Campos, F. S., Lobato, Z. I. P., Pellegrin, A. O., Pellegrin, L. A., & Barbosa-Stancioli, E. F. (2009). Sorodiagnóstico de doenças da reprodução em rebanhos de bovinos leiteiros de assentamentos rurais de Corumbá, MS. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(4), 986–991. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000400029>
- Toussaint, J. F., Sailleau, C., Breard, E., Zientara, S., & De Clercq, K. (2007). Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different genomic segments. *Journal of Virological Methods*, 140, 115–123.  
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.007>
- Vandenbussche, F., Vanbinst, T., Verheyden, B., Van Dessel, W., Demeestere, L., Houdart, P., Bertels, G., Praet, N., Berkvens, D., Mintiens, K., Goris, N., & De Clercq, K. (2008). Evaluation of antibody-ELISA and real-time RT-PCR for the diagnosis and profiling of bluetongue virus serotype 8 during the epidemic in Belgium in 2006. *Veterinary Microbiology*, 129, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.10.029>
- Verdezoto, J., Breard, E., Viarouge, C., Quenault, H., Lucas, P., Sailleau, C., Zientara, S., Augot, D., & Zapata, S. (2016). Novel serotype of bluetongue virus in South America

and first report of epizootic haemorrhagic disease virus in Ecuador. *Transboundary and Emerging Diseases*, 1–4. <https://doi.org/10.1111/tbed.12625>

Wilson, A. J., & Mellor, P. S. (2009). Bluetongue in Europe: Past, present and future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1530), 2669–2681. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0091>

Zientara, S., Sailleau, C., Dauphin, G., Roquier, C., Rémond, E. M., Lebreton, F., Hammoumi, S., Dubois, E., Agier, C., Merle, G., & Bréard, E. (2002). Identification of bluetongue virus serotype 2 (Corsican strain) by reverse-transcriptase PCR reaction analysis of segment 2 of the genome. *The Veterinary Record*, 598–601. <https://doi.org/10.1136/vr.150.19.598>

OIE, 2010. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Disponible en: <http://www.oie.int/eng/normes/mcode/es-chapitre-1.8.3.htm>.

OIE. Lengua azul. Capítulo 2.1.9. Manual de pruebas diagnósticas y vacunas para animales terrestres. Disponible en: [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm) ; 2010.

## APÉNDICE

1. Seroprevalencia de anticuerpos del VLA, mediante la prueba de ELISA de competición en bovinos del Perú, de acuerdo con la ubicación geográfica (Centro, Norte, Selva y Sierra).

Ubicación	Regiones	No. Total de Muestras	No. Casos Positivas	No. Casos Negativas	Prevalencia %
Selva	Amazonas	80	9	71	11.25
	Loreto	62	55	7	88.71
	Madre de Dios	70	70	0	100
	San Martín	137	132	5	96.35
	Ucayali	43	43	0	100
		<b>392</b>	<b>309</b>	<b>83</b>	<b>78.83</b>
Norte	Cajamarca	366	94	272	25.68
	La Libertad	138	0	138	0
	Lambayeque	29	12	17	41.38
	Piura	137	101	36	73.72
	Tumbes	34	29	5	85.29
		<b>704</b>	<b>236</b>	<b>468</b>	<b>33.52</b>
Centro	Huánuco	130	57	73	43.85
	Ica	50	0	50	0
	Junín	134	15	119	11.19
	Lima Callao	120	3	117	2.5
	Pasco	44	25	19	56.82
		<b>478</b>	<b>100</b>	<b>378</b>	<b>20.92</b>
Sur	Apurímac	294	0	294	0
	Arequipa	120	0	120	0
	Ayacucho	422	0	422	0
	Cusco	228	4	224	1.75
	Huancavelica	68	3	65	4.41
	Moquegua	34	0	34	0
	Puno	685	2	683	0.29
			<b>1851</b>	<b>9</b>	<b>1842</b>
<b>TOTAL</b>		<b>3425</b>	<b>653</b>	<b>2772</b>	<b>19.07</b>

2.- Seroprevalencia de anticuerpos del VLA en bovinos del Perú, por distritos en cada región, mediante la prueba de ELISA de competición.

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
HUANUCO	DOS DE MAYO	LA UNION	7	12.28
	HUAMALIES	CHAVIN DE PARIARCA	7	12.28
	LEONCIO PRADO	DANIEL ALOMIA ROBLES	4	7.02
		JOSE CRESPO Y CASTILLO	2	3.51
		LUYANDO	4	7.02
	MARAÑON	CHOLON - 2	2	3.51
	PACHITEA	CHAGLLA	4	7.02
	PUERTO INCA	CODO DEL POZUZO	15	26.32
		INCA HONORIA	8	14.04
	YAROWILCA	CHUPAN (APARICIO POMARES)	4	7.02
			<b>57</b>	<b>100</b>

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
JUNIN	SATIPO	MAZAMARI	5	33.33
		PERENE	2	13.33
		PICHANAQUI	2	13.33
		SAN LUIS DE SHUARO	2	13.33
		SAN RAMON	2	13.33
		VITOC	2	13.33
			15	100

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
LIMA	HUAURA	HUACHO	1	33.33
		PACHACAMAC	1	33.33
		SAN VICENTE DE CAÑETE	1	33.33
			3	100

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
PASCO	OXAPAMPA	CHONTABAMBA	3	12.00
		CONSTITUCION	6	24.00
		HUANCABAMBA	2	8.00
		PALCAZU	6	24.00
		POZUZO	3	12.00
		PUERTO BERMUDEZ	2	8.00
		VILLA RICA	3	12.00
		25	100	

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
LAMBAYEQUE	CHICLAYO	OYOTUN	1	8.33
	FERREÑAFE	INCAHUASI	3	25.00
	LAMBAYEQUE	OLMOS	7	58.33
		SALAS	1	8.33
		12	100	

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
TUMBES	CONTRALMIRANTE VILLAR	ZORRITOS	10	34.48
	TUMBES	CORRALES	1	3.45
		TUMBES	9	31.03
	ZARUMILLA	AGUAS VERDES	9	31.03
		29	100	

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
PIURA	AYABACA	AYABACA	10	9.90
		FRIAS	9	8.91
		JILILI	4	3.96
		MONTERO	2	1.98
		SICCHEZ	4	3.96
	HUANCABAMBA	CANCHAQUE	4	3.96
		HUANCABAMBA	4	3.96
		SAN MIGUEL DE EL FAIQUE	5	4.95
		SONDOR	6	5.94
	MORROPON	BUENOS AIRES	4	3.96
		CHALACO	2	1.98
		CHULUCANAS	4	3.96
		MORROPON	4	3.96
		SALITRAL	4	3.96
		SAN JUAN DE BIGOTE	4	3.96
		SANTA CATALINA DE MOSSA	2	1.98
		SANTO DOMINGO	7	6.93
	PAITA	LA HUACA	2	1.98
	PIURA	PIURA	2	1.98
		TAMBO GRANDE	5	4.95
	SECHURA	BERNAL	2	1.98
		BELLAVISTA	1	0.99
	SULLANA	LANCONES	2	1.98
SULLANA		8	7.92	
			101	100

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
CAJAMARCA	CAJAMARCA	LOS BAÑOS DEL INCA	1	1.06
		MAGDALENA	2	2.13
		NAMORA	1	1.06
	CELENDIN	JORGE CHAVEZ	2	2.13
		JOSE GALVEZ	2	2.13
		OXAMARCA	1	1.06
		SUCRE	2	2.13
	CHOTA	COCHABAMBA	2	2.13
		HUAMBOS	5	5.32
		LLAMA	1	1.06
		TACABAMBA	3	3.19
	CONTUMAZA	CHILETE	1	1.06
		CONTUMAZA	2	2.13
		YONAN	5	5.32
	CUTERVO	CALLAYUC	6	6.38
		PIMPINGOS	1	1.06
		SAN ANDRES DE CUTERVO	1	1.06
		SANTO DOMINGO DE LA CAPIL	3	3.19
		SANTO TOMAS	4	4.26
	HUALGAYOC	BAMBAMARCA	8	8.51
		HUALGAYOC	3	3.19
	JAEN	BELLAVISTA	11	11.70
		COLASAY	5	5.32
		POMAHUACA	2	2.13
		SAN FELIPE	1	1.06
		SANTA ROSA	3	3.19
	SAN IGNACIO	SAN JOSE DE LOURDES	2	2.13
	SANTA CRUZ	CHANCAYBAÑOS	4	4.26
		LA ESPERANZA	6	6.38
		SANTA CRUZ	2	2.13
UTICYACU		2	2.13	
			94	100

Departamento	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
AMAZONAS	UTCUBAMBA	BAGUA GRANDE	2	22.22
	BAGUA	LA PECA	4	44.44
	CONDORCANQUI	NIEVA	3	33.33
			9	100

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje	
LORETO	ALTO AMAZONAS	BALSAPUERTO	12	22.22	
	DATEM DEL MARAÑON	BARRANCA	5	9.26	
	MARISCAL RAMON CASTILLA	RAMON CASTILLA	7	12.96	
	MAYNAS		IQUITOS	6	11.11
			MAZAN	2	3.70
			PUNCHANA	4	7.41
			SAN JUAN BAUTISTA	7	12.96
	PUTUMAYO	PUTUMAYO	2	3.70	
	REQUENA	JENARO HERRERA	2	3.70	
	UCAYALI		PAMPA HERMOSA	2	3.70
VARGAS GUERRA			5	9.26	
			54	100	

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje	
MADRE DE DIOS	MANU	HUEPETUHE	2	2.86	
		MANU	8	11.43	
	TAHUAMANU	IBERIA	20	28.57	
	TAMBOPATA		LABERINTO	4	5.71
			LAS PIEDRAS	12	17.14
			TAMBOPATA	24	34.29
			70	100	

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
SAN MARTIN	BELLAVISTA	ALTO BIAVO	19	14.39
	EL DORADO	AGUA BLANCA	12	9.09
	HUALLAGA	ALTO SAPOSOA	12	9.09
	LAMAS	ALONSO DE ALVARADO	9	6.82
		CUÑUMBUQUI	10	7.58
	MARISCAL CACERES	CAMPANILLA	12	9.09
	MOYOBAMBA	CALZADA	20	15.15
	PICOTA	BUENOS AIRES	12	9.09
	RIOJA	PARDO MIGUEL	7	5.3
	SAN MARTIN	ALBERTO LEVEAU	12	9.09
	TOCACHE	NUEVO PROGRESO	4	3.03
UCHIZA		3	2.27	
			132	100

Región	Provincia	Distrito	No. Positivos	Porcentaje
UCAYALI	ATALAYA	RAYMONDI	17	39.53
	CORONEL PORTILLO	CAMPOVERDE	8	18.60
		NUEVA REQUENA	2	4.65
	PADRE ABAD	CURIMANA	6	13.95
		PADRE ABAD	10	23.26
			43	100

3. Resultados del análisis estadístico de asociación entre la seroprevalencia y los factores de riesgo al VLA.

Correlaciones								
		ELEVACION	HUM_RELAT	TEMP_MAX	TEMP_MIN	PRECIPITACION	EDAD	RESULTADO
ELEVACION	Correlación de Pearson	1	-,348**	-,829**	-,973**	-,146**	-0,032	,606**
	Sig. (bilateral)		0,000	0,000	0,000	0,000	0,062	0,000
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425
HUM_RELAT	Correlación de Pearson	-,348**	1	,103**	,398**	,627**	-0,015	-,365**
	Sig. (bilateral)	0,000		0,000	0,000	0,000	0,373	0,000
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425
TEMP_MAX	Correlación de Pearson	-,829**	,103**	1	,864**	0,001	,045**	-,614**
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000		0,000	0,952	0,009	0,000
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425
TEMP_MIN	Correlación de Pearson	-,973**	,398**	,864**	1	,231**	,040*	-,657**
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000	0,000		0,000	0,018	0,000
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425
PRECIPITACION	Correlación de Pearson	-,146**	,627**	0,001	,231**	1	0,023	-,328**
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000	0,952	0,000		0,180	0,000
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425
EDAD	Correlación de Pearson	-0,032	-0,015	,045**	,040*	0,023	1	-,043*
	Sig. (bilateral)	0,062	0,373	0,009	0,018	0,180		0,011
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425
RESULTADO	Correlación de Pearson	,606**	-,365**	-,614**	-,657**	-,328**	-,043*	1
	Sig. (bilateral)	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011	
	N	3425	3425	3425	3425	3425	3425	3425

\*\* . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

4. Análisis de hipótesis: Prueba Z de proporciones:

Intervalo de confianza para la prevalencia nacional

		Estadístico	Error estándar
RESULTADO	Media	,1907	,0067
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	,1775
		Límite superior	,2038

La prevalencia nacional se encuentra entre 17.75% y 20.38% con un 95 % de seguridad

Prueba de hipótesis planteado en la hipótesis de investigación:

Ho:  $\pi > 20$

Ha:  $\pi \leq 20$

**Estadísticas para una muestra**

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
RESULTADO	3425	,1907	,393	,007

**Prueba para una muestra**

Valor de prueba = 20						
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
RESULTADO	-2950,831	3424	,000	-19,809	-19,82	-19,80

Decisión: p valor = Sig. (bilateral) < 0.05, por lo que se rechaza la Ho y se acepta la Ha: La seroprevalencia a nivel nacional es menor o igual a 20% con un 95% de confianza.