



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Distribución espacial y seroprevalencia del virus
Lengua Azul en bovinos de los departamentos de la
selva del Perú**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Heydi Brisseth RAMOS HUERE

ASESOR

Mg. Dennis Alexander NAVARRO MAMANI

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Ramos H. Distribución espacial y seroprevalencia del virus Lengua Azul en bovinos de los departamentos de la selva del Perú [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Heydi Brisseth Ramos Huere
DNI	76787573
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0008-8019-4517
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Dennis Alexander Navarro Mamani
DNI	70444236
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-5129-6599
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.1.5. Microbiología y Parasitología Veterinaria
Grupo de investigación	Grupo de Investigación en virología e Inmunología veterinaria - GIVIVET
Agencia de financiamiento	Perú. Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA) – CONCYTEC. Proyectos de Investigación Básica 2019-01. Contrato N° 356-2019-FONDECYT Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. RR N° 05753-R-21 y número de proyecto A21081401
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Virología. FMV UNMSM País: Perú Departamento: Lima

	Provincia: Lima
	Distrito: San Borja Av. Circunvalación 28, San Borja 15021 Latitud: -12.081787109097508 Longitud: -76.98758971467255
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Marzo 2020 - octubre 2023
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria: http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA**

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **martes 07 de noviembre de 2023**, a las **11:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0224-EPMV/FMV-2023**, integrado por los siguientes profesores:

MV. Mg Manchego Sayán Alberto Gustavo	Presidente del Jurado
MV. Mg. Navarro Mamani Dennis Alexander	Asesor de la Tesis
MV. Mg. Sandoval Monzón Rocío Silvia	Miembro del Jurado
MV. PhD. More Bayona Juan Anderson	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **RAMOS HUERE HEYDI BRISSETH**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

“DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y SEROPREVALENCIA DEL VIRUS LENGUA AZUL EN BOVINOS DE LOS DEPARTAMENTOS DE LA SELVA DEL PERÚ”

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **diecisiete (17)**

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:30 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por
MANCHEGO SAYAN Alberto Gustavo
FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 05.12.2023 15:17:37 -05:00

Manchego Sayán Alberto Gustavo MV. Mg.Prof. Principal DE



Firmado digitalmente por NAVARRO
MAMANI Dennis Alexander FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 06.12.2023 09:06:12 -05:00

Navarro Mamani Dennis Alexander MV. Mg. Prof. Auxiliar DE



Firmado digitalmente por SANDOVAL
MONZON Rocío Silvia FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.12.2023 01:57:17 -05:00

Sandoval Monzón Rocío Silvia MV. Mg. Prof. Asociado DE

More Bayona Juan Anderson MV. PhD. Prof. Asociado DE



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Dennis Alexander Navarro Mamani, en mi condición de asesora acreditada con la Resolución Decanal No 0106-EPMV/FMV-2021 de la tesis/monografía/informe de investigación/trabajo académico, cuyo título es “Distribución espacial y seroprevalencia del virus Lengua Azul en bovinos de la selva del Perú”, presentado por la bachiller Heydi Brisseth Ramso Huere para optar el título de Médico Veterinaria. CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 8% de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional. Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor



Firmado digitalmente por NAVARRO
MAMANI Dennis Alexander FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 06.12.2023 09:08:32 -05:00

.....
NAVARRO MAMANI DENNIS ALEXANDER

ASESOR DE LA TESIS

DNI: 70444236

Nombres y apellidos del asesor: Dennis Alexander Navarro Mamani



HUELLA DACTILAR

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, Yrma Huere y Marco Ramos, que siempre han estado a mi lado apoyándome y siguiendo cada paso que daba, por enseñarme que con esfuerzo y perseverancia se logra conseguir grandes cosas. A mi asesor Dennis Navarro por su valiosa guía y paciencia en todo este largo proceso.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a mi asesor MV Mg Dennis Navarro Mamani por su paciencia, asesoramiento y enseñanzas valiosas en cada parte de este largo proceso.

Al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, lugar en donde se realizó la parte metodológica y en donde me enseñaron el proceso con mucha paciencia, a la Mg Hermelinda Rivera quién siempre mostró intereses en cada avance, así como a todo el equipo del laboratorio, con quienes compartí gratos momentos tanto amical como intelectual.

A mis amistades que me demostraron que en los peores momentos siempre estarán y me alientan a seguir avanzando, en especial a mi mejor amigo Renzo Vera quién me apoyo en cada momento y estuvo conmigo en mis altibajos, ahora me acompaña en todo este proceso y sé que seguirá a mi lado incondicionalmente.

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 N° 356-2019-FONDECYT]. Además, esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos—RR N° 05753-R-21 y numero de proyecto A21081401.

INDICE

RESUMEN.....	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE CUADROS	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1. IMPORTANCIA DE LA POBLACIÓN BOVINA EN LA SELVA DEL PERÚ:	3
2. ENFERMEDAD DE LENGUA AZUL:	5
2.1. HISTORIA:	5
2.2. AGENTE ETIOLÓGICO:	6
2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:.....	6
2.2.2. MORFOLOGÍA:.....	6
2.2.3. PROTEÍNAS VIRALES:	7
2.2.4. REPLICACIÓN VIRAL:	9
2.2.5. SEROTIPOS:.....	10
3. VECTOR:	11
4. PATOGENIE DEL VIRUS DE LENGUA AZUL:	12
4.1. HOSPEDEROS:	12
4.2. TRANSMISIÓN:.....	13
4.3. REPLICACIÓN EN TEJIDOS:.....	13
4.4. INMUNIDAD:	14
4.5. SIGNOS CLÍNICOS:.....	15
4.6. LESIONES PATOLÓGICAS:	17
5. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:	18
6. FACTORES DE RIESGO:.....	19
7. IMPORTANCIA DEL VIRUS DE LENGUA AZUL:.....	20

8. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL:	21
8.1. ENFERMEDAD HEMORRÁGICA EPIZOÓTICA:	21
8.2. FIEBRE AFTOSA:	22
8.3. ESTOMATITIS VESICULAR:	23
9. PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO:	23
9.1. INMUNODIFUSIÓN EN GEL DE AGAR (AGID):	23
9.2. ENSAYO POR INMUNOADSORCIÓN LIGADA A ENZIMAS (C-ELISA)	23
9.3. NEUTRALIZACIÓN VIRAL:	24
9.4. RT-PCR:	24
10. PREVENCIÓN Y CONTROL:	25
10.1. VACUNAS:	26
10.1.1. VACUNAS VIVAS ATENUADAS:	26
10.1.2. VACUNAS INACTIVADAS:	27
11. VIGILANCIA	27
11.1. MUESTREO SIMPLE AL AZAR:	27
11.2. MUESTRO ESTRATIFICADO AL AZAR:	28
11.3. MUESTRO POR CONGLOMERADOS:	28
11.4. VIGILANCIA ESPACIAL:	29
11.4.1. DENSIDAD DE KERNEL:	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS:	31
1. ORIGEN DE LAS MUESTRAS DE SUERO:	31
2. TAMAÑO DE MUESTRA:	32
3. ANÁLISIS SEROLÓGICO:	34
3.1. LUGAR DE ESTUDIO Y TIEMPO	34
3.2. DESARROLLO DE LA PRUEBA ELISA:	34
3.2.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:	34
3.2.2. PREPARACION DE LA SOLUCIÓN LAVADO:	34
3.2.3. EJECUCIÓN DE LA PRUEBA DE ELISA	34
3.2.4. DESCRIPCIÓN Y PRINCIPIO:	35
3.2.5. INTERPRETACIÓN:	35
3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:	36
3.4. DISTRIBUCIÓN ESPACIAL:	37
3.4.1. ESTIMACIÓN DE LA DENSIDAD DE KERNEL (MAPA DE CALOR)	37
3.4.2. DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEGÚN ALTITUD	37
IV. RESULTADOS:	39
V. DISCUSIÓN:	43

VI.	CONCLUSIONES	48
VII.	BIBLIOGRAFÍA	¡Error! Marcador no definido.
VIII.	ANEXOS:	61

RESUMEN

El virus lengua azul (BTV) es un patógeno transmitido por mosquitos del género *Culicoides*. Los bovinos infectados a menudo no manifiestan signos clínicos y, en su mayoría, desarrollan una infección subclínica, lo que los convierte en reservorios del virus. BTV se es endémico en regiones tropicales del mundo, donde las condiciones medioambientales son propicias para la supervivencia y reproducción de su vector biológico. El objetivo principal fue determinar la distribución espacial de BTV, además su seroprevalencia en bovinos de los departamentos de Madre de Dios, Ucayali, Loreto, San Martín y Amazonas de la selva del Perú. Sueros de bovinos (n=272) mayores de 6 meses y aparentemente sanos fueron colectados por Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú en el 2017 mediante un muestro por conglomerados en dos etapas. Los sueros fueron sometidos a un ELISA de competición para determinar anticuerpos contra BTV. La seroprevalencia de BTV aparente y corregida en bovinos de la región selva fue de 70.5% (IC 95%: 65.17 – 76.00) y 85.12% (IC 95%: 81.89-88.35) respectivamente. Así mismo, a prueba de Chi cuadrado reveló una asociación significativa entre la frecuencia de anticuerpos contra BTV y la edad de los animales ($p = 0.025$), así como con la variable altitud ($p < 0.001$). Los casos seropositivos a BTV se utilizaron para calcular la densidad de kernel, que destacó un punto caliente en San Martín, indicado por una alta concentración de puntos en esa área. Así mismo, la distribución espacial considerando la variable altitud, mostro que la mayor población de bovinos positivos a anticuerpos contra BTV se ubicaron en altitudes menores a 1000 msnm. El presente estudio permitirá realizar la vigilancia en estas zonas empleando un muestreo en base al riesgo a fin de determinar los serotipos de BTV en zonas endémicas.

Palabras claves: Bovinos, BTV, zona endémica, espacial.

ABSTRACT

Bluetongue virus (BTV) is a pathogen transmitted by mosquitoes of the *Culicoides* genus. Infected cattle often do not show clinical signs and mostly develop a subclinical infection, making them reservoirs of the virus. BTV is endemic in tropical regions of the world, where environmental conditions are conducive to the survival and reproduction of its biological vector. The main objective was to determine the spatial distribution of BTV, as well as its seroprevalence in cattle from the departments of Madre de Dios, Ucayali, Loreto, San Martín and Amazonas in the jungle of Peru. Sera from bovines (n=272) older than 6 months and apparently healthy were collected by the National Agrarian Health Service of Peru in 2017 through cluster sampling in two stages. The sera were subjected to a competition ELISA to determine antibodies against BTV. The apparent and corrected BTV seroprevalence in cattle from the jungle region was 70.5% (95% CI: 65.17 - 76.00) and 85.12% (95% CI: 81.89-88.35) respectively. Likewise, the Chi square test revealed a significant association between the frequency of antibodies against BTV and the age of the animals ($p = 0.025$), as well as with the altitude variable ($p < 0.001$). BTV seropositive cases were used to calculate kernel density, which highlighted a hot spot in Saint Martin, indicated by a high concentration of spots in that area. Likewise, the spatial distribution considering the altitude variable showed that the largest population of bovines positive for antibodies against BTV were located at altitudes less than 1000 meters above sea level. This study will enable surveillance in these areas using risk-based sampling to determine BTV serotypes in endemic areas.

Keywords: Cattle, BTV, endemic zone, spatial.

LISTA DE FIGURAS

CONTENIDO		Pág.
Figura 1	Morfología del BTV, proteínas y segmentos	7
Figura 2	BTV: Ciclo de replicación del virus	10
Figura 3	Mapa de la distribución del insecto Vector <i>Culicoides</i>	12
Figura 4	Signos clínicos en ovinos. A: Hiperemia del hocico y secreción nasal. B: Lengua cianótica. C: Edema submandibular D: Línea de lesión después de coronitis localizada.	15
Figura 5	Signos clínicos en bovinos. A: Lesiones necróticas y ulcerosas en pezones. B: Hinchazón submandibular. C: Ulcera en encías. D: Edema encima de las pezuñas	17
Figura 6	Mapa de distribución potencial del BTV, basado en las condiciones climáticas Azul: condiciones adecuadas, Blanco: condiciones inadecuadas	21
Figura 7	Estimación de la densidad de Kernel, y distribución de casos seropositivos (puntos rojos) y seronegativos (puntos negros) de BTV en la selva del Perú. Los puntos calientes son representados por su densidad de casos en un gradiente de color.	41
Figura 8	Distribución espacial de casos positivos (puntos rojos) y negativos (puntos negros) a anticuerpos contra el virus Lengua Azul en Perú, de acuerdo a sus altitudes. (A) Casos encontrados en los cinco departamentos de la selva evaluados, (B) casos con énfasis en Amazonas.	42

LISTA DE CUADROS

CONTENIDO		Pág.
Cuadro 1	Población pecuaria de bovinos en los departamentos de la selva del Perú	3
Cuadro 2	Producción de leche y carne de bovinos en los departamentos de la selva del Perú	4
Cuadro 3	Clasificación taxonómica del virus Lengua Azul según ICTV, 2021	6
Cuadro 4	Función de proteínas del BTV y segmentos donde se codifican	8
Cuadro 5	Población bovina según CENSO 2012, número de conglomerados y número de muestras por conglomerado por cada departamento del presente estudio.	33
Cuadro 6	Se prevalencia de BTV en bovinos de la selva del Perú, 2017	39
Cuadro 7	Asociación de la frecuencia de anticuerpos contra BTV con las variables categóricas de edad y altitud de los departamentos de la selva del Perú, 2017	40

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú la ganadería bovina está en crecimiento y se evidencia desde el primer censo realizado en 1961 con una población de 3 116.1 cabezas de bovinos, hasta el último censo en 2012 con 5 156, del cual el 73% se desarrolla en la sierra, el 12% en la costa y el 15% en la selva, en donde la mayor población es criolla, seguida de la raza Brown Swiss y luego Holstein. (INEI, 2012). Con respecto a la industria láctea y cárnica, se ha percibido en los últimos años un aumento positivo en ambas producciones, siendo los principales departamentos en auge Lima y Cajamarca (MINAGRI, 2017).

La enfermedad de lengua azul (ELA) se considera endémica en las zonas tropicales y subtropicales, debido a la presencia y reproducción del insecto vector competente, *Culicoides* spp. Es una enfermedad causada por diferentes serotipos del virus Lengua Azul (BTV, del inglés Bluetongue virus) que afecta a rumiantes domésticos y salvajes ocasionando edema alrededor en la boca y nariz, erosión de las membranas mucosas, sialorrea, fiebre y lengua cianótica (Álvarez *et al.*, 2017).

ELA se encuentra en la lista de enfermedades notificables por la Organización Mundial de Salud Animal (OIE) que impide el libre comercio internacional de germoplasma, semen y de animales, generando grandes pérdidas económicas al sector ganadero debido a que en bovinos provoca la disminución en la producción de leche, cuadros de aborto, pérdida de peso y disminución en la eficiencia de la producción de carne (Gethman *et al.*, 2020).

Por otro lado, la distribución espacial es una importante herramienta que ha permitido visualizar la densidad de aparición del BTV, es decir su intensidad de concentración, identificándose áreas en riesgo de brote, expansión del vector competente y los factores

asociados a variables ecológicas y medioambientales en países del norte de Europa en el brote del BTV en el 2006. Es una herramienta que brinda información de estudios predictivos de brotes y propagación del virus, que permite priorizar las estrategias de control y prevención de manera focalizada, mejorando el uso de recursos y personal (Pascual *et al.*, 2014; Malesios *et al.*, 2020).

En casos donde la población es muy grande y esta dispersa en un área geográfica extensa se prefiere utilizar un muestreo por conglomerado, este es un método probalístico que permite disminuir el costo para la recopilación de datos. Este tipo de muestreo requiere que la población este dividida de forma natural en conglomerados heterogéneos y éstos ser conformados por individuos de interés, para que sea representativo de la población, siendo una de sus mayores ventajas su sencillez y rentabilidad (Segura y Honhold, 2000).

En los últimos años ELA afectó zonas fuera de su ámbito geográfico conocido (40°N y 35°S), alcanzando latitudes y altitudes por encima de su rango habitual, estos cambios se les atribuye a factores medioambientales como lo son el calentamiento global y el cambio climático, siendo Europa uno de los continentes más afectados por ELA. En el Perú existe evidencia serológica previa de la presencia del BTV, por lo que se infiere ser una zona endémica sin la manifestación clínica de la enfermedad (Navarro *et al.*, 2019; Jurado *et al.*, 2020; Escano *et al.*, 2022).

Se considera a la especie bovina como fuente de reservorio del BTV debido a su largo período de viremia que podría alcanzar los 120 días por lo que se debe tener en cuenta que la mayor población ganadera en el Perú se encuentra en la región yunga y andina, colindantes a la región del presente estudio, que podría verse afectada por la migración del insecto vector del BTV desde el trópico, afectando así a la zona de mayor comercio. El objetivo del presente estudio fue detectar anticuerpos contra el virus Lengua azul en bovinos de la región selva comprendiendo los departamentos de Amazonas, Loreto, Madre de Dios, Ucayali y San Martín como parte de la vigilancia epidemiológica de la enfermedad de Lengua Azul.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. IMPORTANCIA DE LA POBLACIÓN BOVINA EN LA SELVA DEL PERÚ:

La población de ganado vacuno en el Perú según el IV censo nacional agropecuario (2012) es de 5 156 000 y se ha percibido un aumento progresivo desde el censo agropecuario de 1994 (INEI. 2012) (Cuadro 1). Las razas predominantes en la selva son criollos con 41,9% y Browns Swiss con 20,5%, en menor proporción los cebúes, Holstein y otros (MIDAGRI, 2022). Respecto a los productores de animales mayores a nivel nacional se percibe que el 43.1% de pequeños y medianos productores se enfocan a bovinos y el 62.9% de los grandes productores también. (INEI, 2019)

Cuadro 1. Población pecuaria de bovinos en los departamentos de la selva del Perú (INEI, 2012)

UBICACIÓN	POBLACION
Amazonas	157 166
Loreto	46 646
Madre de Dios	50 147
Ucayali	60 193
San Martin	228 826
TOTAL	542 978

La población de vacas en ordeño es 893,769 cabezas pertenecientes en su mayoría a las principales cuencas lecheras ubicadas en Cajamarca, Puno y Cusco, en los últimos años los departamentos de San Martín y Tumbes han aumentado su crecimiento en la

producción lechera (Cuadro 2). El consumo anual de leche en el Perú ha ido aumentando con respecto a los años, siendo actualmente 87 kg/persona/año, Con respecto a la producción de carne las regiones con mayor producción se ubican en Cajamarca, Lima y Puno, siendo el promedio de carcasa anual de 140.8 kg/animal. (MINAGRI, 2018)

Para el mejoramiento del ganado lechero los principales productores utilizan la inseminación artificial, así como también la adquisición de especies mejoradas de los hatos más relevantes de la región. Los principales problemas que presenta esta producción es que los pequeños y medianos productores aún desconfían del uso de pajillas a pesar de contar con bancos de semen de razas especializadas, por lo que la gran mayoría utiliza la práctica de monta natural, así mismo repercute también la mínima cantidad de animales genéticamente mejorados y el uso limitado de herramientas de selección (MINAGRI, 2018).

La ganadería en la selva en su mayoría es de crianza extensiva de pastoreo mixto con otras especies como ovinos y caprinos, no cuentan con tecnología para mejorar su crianza, utilización de mano familiar y alimentación al pastoreo con pasto natural y cultivados. Los limitantes para el desarrollo ganadero de la selva peruana se basan en su alejamiento a los mercados, falta de tecnología adecuada, uso deficiente de los recursos naturales y falta vías de comunicación adecuadas. La ganadería bovina en la selva se basa principalmente en producción de doble propósito, es decir se aprovecha tanto su producción láctea como cárnica, siendo la mayoría para uso familiar y por ello su importancia socioeconómica en esta región. (MIDAGRI, 2015)

Cuadro 2. Producción de leche y carne de bovinos en los departamentos de la selva del Perú (MIDAGRI, 2021)

UBICACIÓN	PRODUCCION DE CARNE (tonelada)	PRODUCCION DE LECHE (tonelada)
Amazonas	7 369	103 410
Loreto	1 513	1 482
Madre de Dios	2 222	1 370
Ucayali	2 180	4 415
San Martín	5 765	1 370
TOTAL	19 049	112 047

2. ENFERMEDAD DE LENGUA AZUL:

2.1. HISTORIA:

ELA es una enfermedad viral infecciosa, causada por el virus Lengua Azul (BTV), transmitida por un insecto vector del género *Culicoides* que afecta principalmente a los rumiantes domésticos y silvestres (Napp *et al.*, 2012). ELA se reportó por primera vez a fines del siglo XIX en la Isla del Cabo (África) debido a la introducción de ovinos de lana fina, en particular la raza merino importados del Sur de Europa a Sudáfrica, aunque es probable que ocurriera hace un siglo atrás de manera endémica en los rumiantes salvajes de África (Spreull, 1905; Maclachan *et al.*, 2011). La causa de la enfermedad se le atribuía erróneamente a un parásito intracorporal, por lo que la describieron con diferentes nombres como “fiebre catarral malaria”(Coetze *et al.*, 2012). Spreull (1905) introdujo el nombre de Lengua azul, que es la traducción del nombre africano “Blaauwtong”, debido a la apariencia cianótica e inflamación de la lengua que ocasionalmente se observaba en ovejas clínicamente afectadas.

Posteriormente en 1906, Theiler transmitió un filtrado de sangre proveniente de una oveja enferma a animales susceptibles, reproduciendo así la enfermedad, por lo que demostró que el agente etiológico era un virus y también, en 1910 dispuso la primera vacuna contra ELA, esta consistía en una sola cepa del virus (BTV-4) que fue usada en Sudáfrica por al menos cuatro décadas (Maclachan *et al.*, 2011; Coetze *et al.*, 2012).

Se le atribuye a Du Toit (1944) la identificación de *Culicoides* spp. como el insecto vector del BTV, cuando capturó un gran número de insectos mediante una trampa de luz y demostró que la picadura del *C. imicola* transmitió la enfermedad. Debido a la poca eficacia de la vacuna monovalente, se investigó la multiplicidad de serotipos del BTV y se produjo una vacuna tetravalente viva atenuada que brindó protección cruzada multivalente y reemplazó a la vacuna original (Verwoerd, 2012). Posteriormente, Neitz realizó estudios en inmunología demostrando científicamente que la vacuna monovalente no confería una protección completa contra los diferentes serotipos del BTV. (Neitz 1948; Verwoerd, 2012)

Durante el siglo XX, LA se extendió por África y países del sur de Europa como España, Chipre, Grecia y Portugal. Posteriormente a finales del mismo siglo las regiones en África, América, Asia y Australia que se encontraban entre las latitudes 40 ° S y 53 °

N fueron reconocidos como endémicos de ELA. (Zientara y Sanchez-Vizciano, 2013; Belbis *et al.*, 2017).

2.2. AGENTE ETIOLÓGICO:

2.2.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

El virus Lengua Azul (BTV) pertenece al género *Orbivirus*, perteneciente a la subfamilia *Sedoreovirinae* y se encuentra dentro de la familia *Reoviridae* (Cuadro 3), que actualmente consta de quince géneros caracterizados por su genoma compuesto de 9 a 12 segmentos de ARN (Courtejoie *et al.*, 2018)

Cuadro 3. Clasificación taxonómica del virus Lengua Azul según ICTV, 2023

Dominio: <i>Riboviria</i>		
Reino: <i>Orthornavirae</i>		
Filo: <i>Duplornaviricota</i>		
Clase: <i>Resentoviricetes</i>		
Orden: <i>Reovirales</i>		
Familia: <i>Reoviridae</i>		
Subfamilia: <i>Sedoreovirinae</i>		
Género: <i>Orbivirus</i>		
Especies del Género <i>Orbivirus</i>		
<i>Bluetongue virus</i> (<i>Virus lingua azul</i>)	<i>Corriparta virus</i>	<i>Ieri virus</i>
<i>African horse sickness virus</i>	<i>Epizootic hemorrhagic disease virus</i>	<i>Lebombo virus</i>
<i>Changuinola virus</i>	<i>Equine encephalosis virus</i>	<i>Orungo virus</i>
<i>Chenuda virus</i>	<i>Eubenangee virus</i>	<i>Palyam virus</i>
<i>Chobar Gorge virus</i>	<i>Great Island virus</i>	<i>Peruvian horse sickness virus</i>

2.2.2. MORFOLOGÍA:

BTV es un virus que no posee envoltura y cuenta con un genoma que va desde 822 a 3954 pares de base (pb) compuestos por 10 segmentos de ARN lineal de cadena doble (ARNdc), un tamaño de 80-90nm de diámetro y un peso molecular de 11×10^7 aproximadamente (Mertens *et al.*, 2015).

Este virus está rodeado por una cápside de simetría icosaédrica de triple capa concéntrica, el core interno está compuesto por la VP3 que rodea el genoma de la capa del subcore, el core medio conformado por la VP7 dispuesto en anillos hexaméricos (Figura 1), ambas proteínas virales son relativamente conservadas entre los diferentes serotipos de BTV y el core externo difuso que consta de las VP2 y VP5, necesarias para la unión celular y entrada del virus a la célula infectada, se considera a estas proteínas las menos conservadas brindando alta variabilidad (Wu y Roy, 2022).

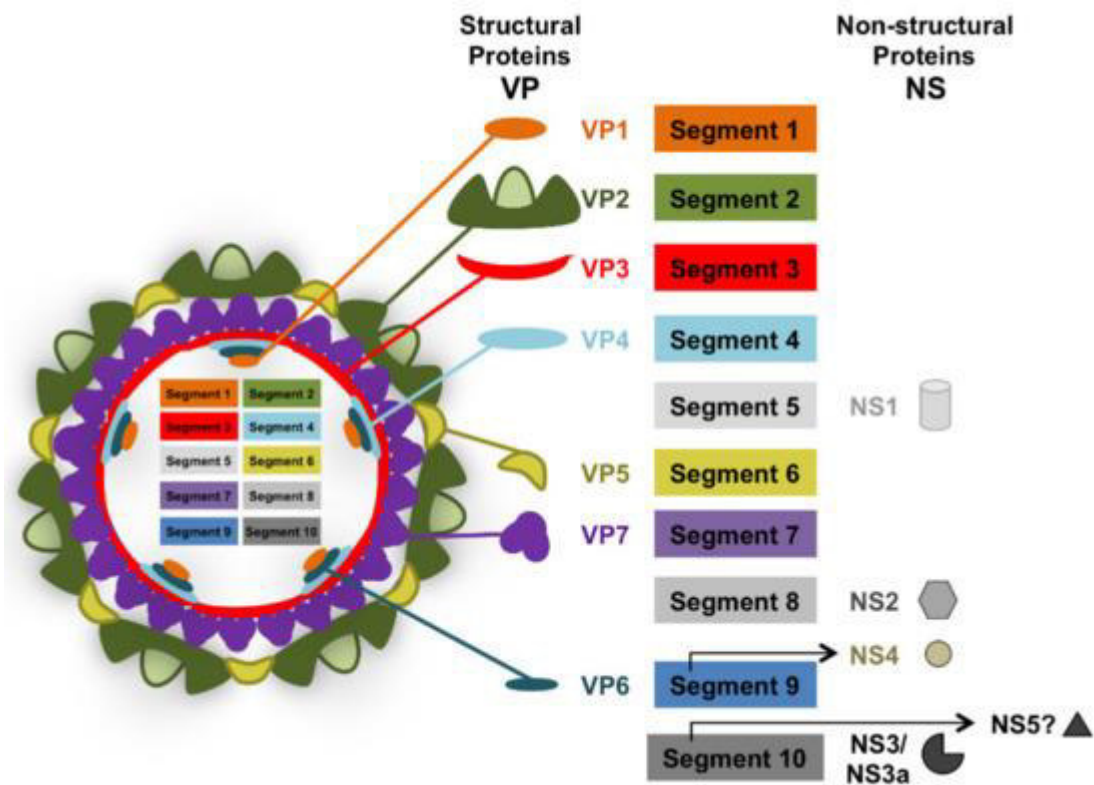


Figura 1. Morfología del BTV, proteínas y segmentos (Rodríguez *et al*, 2021)

El core del virus contiene una única copia de cada segmento de ARNdc y un complejo de transcriptasa compuesta por VP1, VP4 y VP6. La capa interna del núcleo (capa T2) está organizada por 60 dímeros de VP3 y la capa externa (capa T3) está compuesta de 260 trímeros de VP7 (Belbis *et al*, 2017).

2.2.3. PROTEÍNAS VIRALES:

El genoma del BTV codifica siete proteínas estructurales (VP1-VP7) y cinco proteínas no estructurales (NS1-NS5) (Cuadro 4). La VP2 es la principal proteína que conforma la

cápside del virión, es codificada por el segmento 2 (Seg-2) del genoma del BTV, es la encargada de la unión al receptor y favorece la endocitosis del virión mediada por clatrina a las células durante la primera etapa de infección, además de participar en la hemaglutinación (Guo *et al.*, 2020). Esta proteína posee un peso molecular de 111kDa y una longitud de 956aa, por lo que es considerada como la proteína más grande del BTV (Wu *et al.*, 2019).

La VP2 es altamente mutable debido a la presión selectiva evolutiva de anticuerpos, lo que la define como la de mayor variabilidad, permitiendo la diferenciación de al menos 29 serotipos de BTV y dos aún en estudio (Mertens *et al.*, 2015). Es la principal determinante de la especificidad del antígeno debido a que contiene la mayoría de los epítomos que interactúa con los anticuerpos neutralizantes provocando una respuesta inmune (Fay *et al.*, 2021).

Cuadro 4. Función de proteínas del BTV y segmentos donde se codifican

(Patel y Roy, 2014)

Tipo de proteína	Proteína	Segmento (tamaño en Pb)	Función
ESTRUCTURALES	VP1	T1 (3944)	ARN polimerasa dependiente de ARN
	VP2	T2 (2926)	Unión al receptor y entrada celular
	VP3	T3 (2772)	Proteína estructural del subcore, localiza el complejo de polimerasa viral
	VP4	T4 (2011)	Enzima de taponamiento
	VP5	T6 (1638)	Proteína de permeabilización de membrana
	VP6	S9 (1046)	Aptitud viral a la respuesta del interferón
	VP7	S7 (1156)	Proteína estructural central y proteína de unión al receptor para células del insecto vector
NO ESTRUCTURALES	NS1	T5 (1769)	Proteína de traducción de proteínas virales
	NS2	S8 (1124)	Concentrador de componentes centrales y formación de cuerpos de inclusión viral
	NS3 NS3A	S10 (822)	Proteína adaptadora que facilita la salida
	NS4	S9 (1046)	Aptitud viral a la respuesta del interferón

La VP5 se localiza en la cápside externa del virión y posee un alto grado de variabilidad, también puede influir en el serotipo del virus al imponer restricciones estructurales a la VP2. Esta proteína es codificada por el segmento 6 (Seg-6) del genoma del BTV y posee un peso molecular de 59kDa con una longitud de 526aa (Belbis *et al.*, 2017). La VP5 adquiere la actividad de fusión de la membrana durante el inicio de la infección mediante un cambio conformacional significativo al detectar el pH de 5.5, se presume que tiene la capacidad de formar sincitios y liberar el núcleo del virión al citoplasma. (Patel y Roy 2014).

En contraste la VP7 forma parte del core interno proporcionando rigidez y estructura a este nivel. Es una de las proteínas más conservadas y se utiliza comúnmente en el ensayo c-ELISA para detectar anticuerpos anti-BTV, también es un determinante principal del serogrupo (Hwang *et al.*, 2019; Ulises *et al.*, 2021).

2.2.4. REPLICACIÓN VIRAL:

Durante la infección, la proteína estructural VP2 se une a diferentes receptores y al ácido siálico superficial permitiendo así la adherencia del BTV a la célula diana, las partículas virales ingresan a través de endocitosis mediada por clatrina del virión (Figura 2), en ausencia de esta proteína la VP7 participa en la adherencia, unión y penetración de las células del insecto vector. (Patel *et al.*, 2016). La VP2 se separa de la cápside externa cuando detecta un pH ácido (6-6.5) en el endosoma temprano, la acidificación es mayor en el endosoma tardío y la VP5 lo detecta ocasionando una fusión con la membrana, permitiendo así la liberación del núcleo al citoplasma celular donde se deja expuesto al genoma viral e inicia la transcripción y traducción de partículas virales (Wu *et al.*, 2019).

Durante el proceso de la transcripción se generan los ARN mensajeros para ser traducidos en las diferentes proteínas no estructurales y estructurales del BTV. Finalmente ocurre el ensamblaje que depende de las interacciones VP3 y VP7, debido a que las partículas del VP3 son inestables, la VP7 actúa dando rigidez y estabilidad adicionando sus trímeros, también evita la activación del interferón tipo 1 (INF-1) luego se agregan las proteínas estructurales VP2 y VP5 para formar viriones maduros. Finalmente, la salida del virus por lisis celular y actualmente se ha demostrado que

también lo realiza por gemación, la proteína que determina el mecanismo de salida es la NS3 (Roy, 2020).

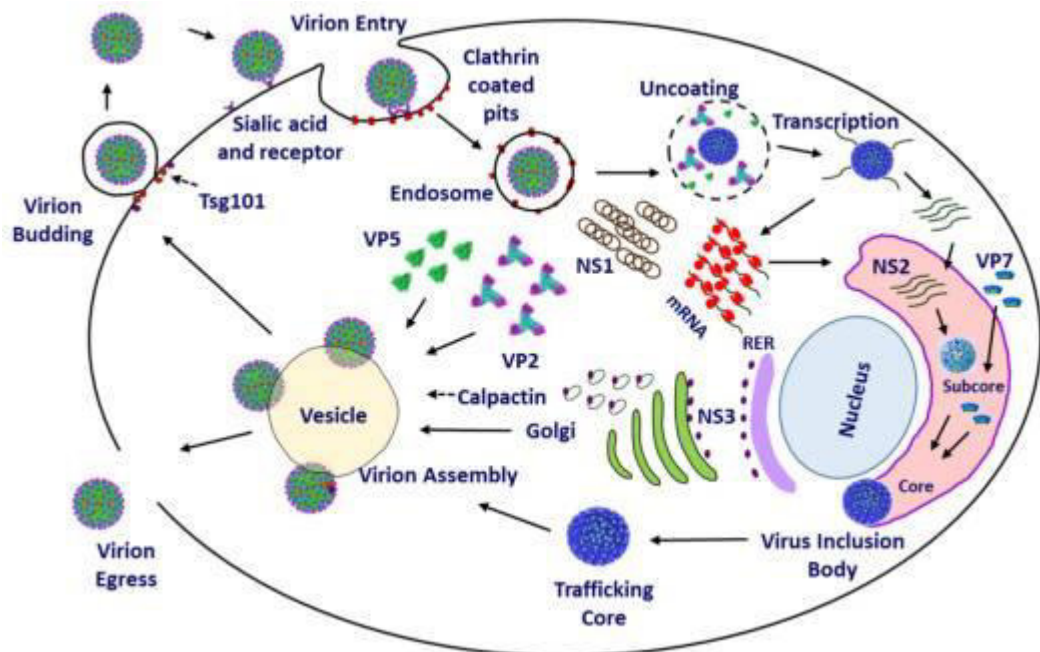


Figura 2. BTM: Ciclo de replicación del virus (Patel y Roy, 2014)

2.2.5. SEROTIPOS:

Actualmente se han informado 28 serotipos del BTM y tres nuevos serotipos putativos en todo el mundo (Saminathan *et al.*, 2020). La identificación de diferentes serotipos del BTM recae sobre las proteínas estructurales de alta variabilidad VP2 y VP5 encargadas de la reacción de neutralización de anticuerpos por parte del huésped (Mertens *et al.*, 2015).

Los serotipos BTM-25,26 y 27 son considerados atípicos debido a su transmisión por contacto directo, sin la participación del insecto vector y porque no son patógenos (Belbis *et al.*, 2017). El serotipo BTM-28 también se transmite por contacto directo, sin embargo, esta evidencia los signos clínicos de la enfermedad, se detectó por primera vez en Medio Oriente en varios lotes de vacunas contaminadas de la enfermedad cutánea nodular contagiosa y vacuna contra la viruela ovina (Bumbarov *et al.*, 2020).

En Europa, desde 1998 el BTM se propagó a diferentes países que nunca se habían informado casos anteriores como Italia y Francia. En el verano del 2006, se aisló el

serotipo BTV-8 por primera vez en Países Bajos, causando un brote masivo en varios países europeos originando fuertes pérdidas económicas, debido a que afectó al sector bovino, antes considerado solo un reservorio y en este caso evidenciando la manifestación clínica. Desde el 2009 hasta inicios del 2015 no se ha vuelto a detectar el BTV-8 en Europa, hasta agosto del 2015 - 2017 que se volvió a aislar el serotipo en Francia. (Rushton y Lyons, 2015).

Se ha detectado serotipos en el continente de América, a excepción de Patagonia, Alaska y partes del sur de la Pampa. En Centroamérica y el Caribe se aislaron los serotipos del BTV-1, 3, 4, 6, 8, 11, 12, 14 y 17. En América del Norte se han detectado los serotipos del BTV-1, 2, 10, 11, 12, 13 reportados como endémicos en la zona y también se aislaron los serotipos del BTV-2, 3, 5, 6, 9, 12, 14, 18, 19, 22 y 24 (Legisa *et al.*, 2014). En América del Sur, se aisló en Argentina BTV-4, en Brasil los serotipos del BTV-1, 2, 3, 4, 6, 9, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22 y 26, en Ecuador BTV-9, 13 y 18, en Colombia BTV-12, 14 y 17, en Guayana Francesa BTV-1, 2, 6, 10, 12, 13, 17 y 24, también se han reportado diferentes serotipos del BTV en Surinam y Guyana (Saminathan *et al.*, 2020).

3. VECTOR:

El vector competente de BTV es el mosquito hembra del género *Culicoides* spp, mide aproximadamente entre 1-3mm, cuya distribución es limitada a condiciones de temperatura y humedad adecuadas para su reproducción, entre las latitudes 35° S y 40° N en la cual se ubican áreas templadas hasta trópicos. Este vector tiene mayor actividad por la noche y su distancia de vuelo es relativamente corta de 5km aproximadamente, aunque depende del factor de velocidad del viento, pudiendo llegar a distancias largas de hasta 100 km. (Saminathan *et al.*, 2020). Se estima que la temperatura idónea tiene un rango de 20.8°C – 25.8°C en complemento con el aumento de precipitaciones que provoca una mayor humedad (Jacquot *et al.*, 2017; Da Silva *et al.*, 2018).

El periodo de incubación del BTV en el mosquito es diez días aproximadamente, después de ingerir sangre de un animal infectado, se disemina en el intestino hasta las glándulas salivales y permanecen infectados durante toda su vida. El tiempo de vida del mosquito es corto, sobreviven de 10 a 20 días, sin embargo, es dependiente de las

condiciones climáticas, pudiendo llegar a un tiempo de vida de hasta 90 días (Wilson y Mellor, 2009).

Se considera uno de los insectos hematófagos más abundantes a nivel mundial. con más de 1500 especies, de las cuales sólo 50 especies son considerados vectores del BTV. La principal especie del insecto vector del BTV en África y sur de Europa es *C. imicola* (Figura 3), en el norte de Europa está *C. pulicares* y *C. obsoletus* como potencial vector, en América del Norte *C. sonorensis*, en Australia *C. fulvus* y *C. brevitarsis* y en América del Sur y Centro *C. pusillus* y *C. insignis* (Subhadra *et al.*, 2023). En el Perú, Navarro *et al.*, observó la presencia de la banda de 1070pb perteneciente al segmento 7 del genoma del BTV en el mosquito *C. insignis* capturado en la selva, por lo que se le considera como vector del BTV.

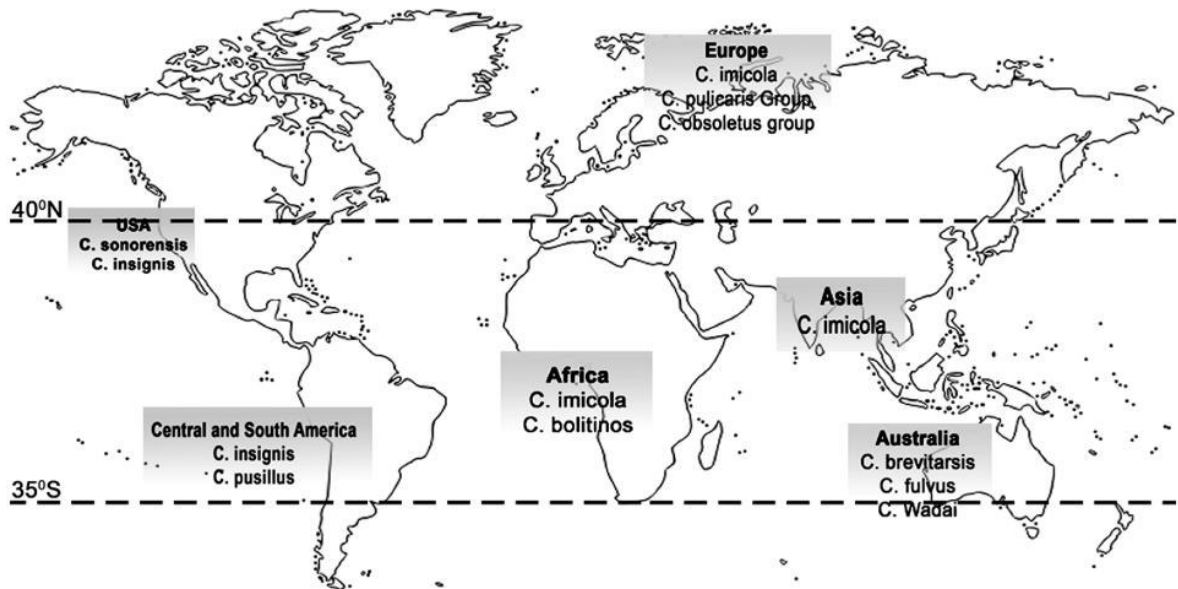


Figura 3. Mapa de la distribución del insecto Vector *Culicoides* (Subhadra *et al.*, 2023)

4. PATOGENIE DEL VIRUS DE LENGA AZUL:

4.1. HOSPEDEROS:

El BTV afecta a rumiantes domésticos y silvestres, camélidos, elefantes y carnívoros sean domésticos o silvestres, se presume por el consumo de carne infectada. Dentro de las especies más sensibles a la infección por el BTV están las ovejas, venado cola blanca, alpaca y llama en donde se puede manifestar una fase clínica aguda o hasta mortal, a diferencia de las especies bovinas y caprinas que muestran la enfermedad subclínica, sin

embargo, los bovinos presentan el periodo de viremia más largo de 90-120 días aproximadamente por lo que se le considera reservorio del BTV y participa de un rol muy importante en la epidemiología del BTV, debido a que permite un mayor tiempo de transmisión a especies susceptibles (Van den Bergh *et al.*, 2018).

4.2. TRANSMISIÓN:

La transmisión del BTV típicamente es mediante la picadura del insecto vector *Culicoides* spp., en la actualidad se han demostrado otras vías sin la presencia del insecto vector, como el caso del brote europeo por el serotipo BTV-8 se demostró que atraviesa la barrera transplacentaria infectando al feto, se corroboró de forma experimental con la vacunación de animales preñados con cepas vacunales vivas atenuadas del BTV. Últimos estudios revelaron la presencia del ARN del BTV en el semen de toros virémicos, pero la transmisión venérea aún está en estudio (Venter *et al.*, 2011; De Clercq *et al.*, 2021).

Los últimos serotipos considerados atípicos BTV-25 al 28 se considera la vía por aerosol, en la cual animales susceptibles sanos se infectaron por la cercanía de su corral con animales infectados (Schulz *et al.*, 2016). También está la vía oral mediante el consumo de calostro de bovinos infectados hacia terneros sanos y el consumo de placenta, fetos abortados y/o carne infectada que permitió la transmisión a carnívoros (Backx *et al.*, 2009).

En ovinos se ha demostrado el rol de las garrapatas como vector mecánico para BTV, así como también la vía iatrogénica, mediante agujas con sangre infectada o equipos quirúrgicos: sin embargo, son considerados vías menos importantes en la transmisión de la enfermedad (Bouwknegt *et al.*, 2010, Maclachlan *et al.*, 2015).

4.3. REPLICACIÓN EN TEJIDOS:

El virus es inoculado en la piel a través de la saliva del mosquito vector del BTV, a los 2-3 días se da la replicación inicial en ganglios linfáticos regionales, luego va a circulación empezando la viremia e infectando a las células dendríticas, linfocitos, monocitos y macrófagos que diseminan el virus a sitios secundarios, como el bazo y

pulmón, en donde se produce la replicación secundaria con una duración de 4 a 20 días infectando a las células endoteliales fagocitos mononucleares (MacLachlan *et al.*, 2009).

Continúa la diseminación mediante vía sanguínea y a través de la linfa asociándose el BTV con las plaquetas, células mononucleares y eritrocitos, esta última unión le permite tener un mayor tiempo de viremia (MacLachlan, 2004; Subhadra *et al.* 2023). La especie con mayor tiempo de viremia es la bovina, con una duración de 60 días e incluso hasta 120 días, representando un rol importante en la transmisión del BTV como hospedero de reservorio, en caprinos un tiempo de 19 a 54 días y en los ovinos la viremia dura de 14 a 54 días (MacLachlan *et al.*, 2009).

4.4. INMUNIDAD:

La infección del BTV tiene fuerte afinidad por las células endoteliales, arteriolas precapilares, vénulas y pericitos de capilares generando daño y/o disfunción. La producción de interferón inflamatorio (IFN-1, IFN- γ) se da después de 20-40 horas posteriores a la infección, también desencadena la producción de interleucina-1 (IL1), IL-2, IL-6, IL-8, mediadores vasoactivos (óxido nítrico sintasa), ciclooxigenasa-2, prostaciclina y tromboxano, estos mediadores tienen la capacidad de limitar o controlar la infección durante las primeras etapas. En el caso de los bovinos, la relación prostaciclina/tromboxano es superior a la de los ovinos, el primero es un inhibidor de la agregación plaquetaria y un factor de vasodilatación y el segundo es un factor procoagulante, lo que explica el menor daño endotelial y sensibilidad en la especie bovina, a diferencia de la especie ovina que predomina el síndrome hemorrágico (Schwartz-Cornil *et al.*, 2008; Belbis *et al.*, 2017).

La producción de anticuerpos neutralizantes específicos de un serotipo se da aproximadamente después de 14 días de la infección y pueden persistir entre cuatro a seis años, estos anticuerpos son inducidos por la proteína estructural VP2 brindando protección a una posible reinfección por serotipos homólogos (Mayo *et al.*, 2017).

La inmunidad mediada por células está conformada por los linfocitos T CD4+ y CD8+ del huésped que durante las primeras etapas de infección del BTV se encargan de destruir

las células infectadas para mantener el control de la propagación viral (Maclachlan *et al.*, 2014).

4.5. SIGNOS CLÍNICOS:

Los signos clínicos de la ELA son variables según el hospedero, serotipo y factores ambientales, desde un cuadro asintomático, fase aguda, crónica o incluso mortal. Los ovinos son la especie más susceptible a la manifestación clínica de la enfermedad (Figura 4), siendo sus razas europeas como el merino las que presentan signos severos (MacLachlan *et al.*, 2009). El primer signo clínico es la fiebre de 41-42°C que se observa después del periodo de incubación de aproximadamente 2 semanas, luego de 1 o 2 días después de la fase febril se manifiestan sialorreas, lagrimeo, secreción nasal, enrojecimiento y petequias de la mucosa nasal y oral, edema en lengua, labio, párpados, orejas y petequias en labios y hocico, hasta esta fase los casos leves se recuperan satisfactoriamente (Álvarez *et al.*, 2017).

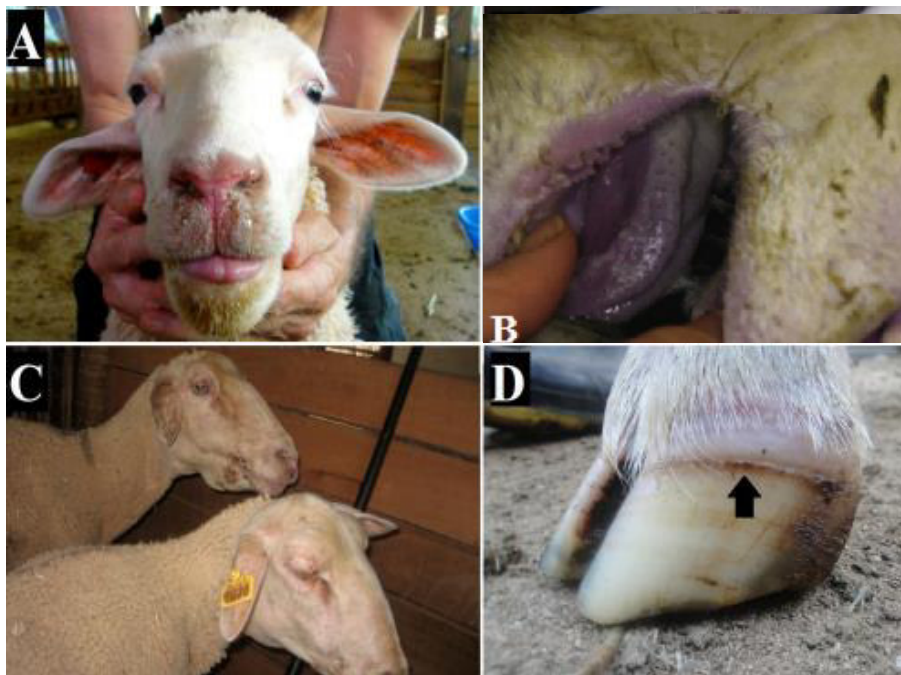


Figura 4. Signos clínicos en ovinos. A: Hiperemia del hocico y secreción nasal. B: Lengua cianótica. C: Edema submandibular D: Línea de lesión después de coronitis localizada. (Álvarez *et al.*, 2017)

En casos severos comienzan aparecer erosiones y abrasiones principalmente en mejillas y lengua, también en boca, hocico y fosas nasales. En pocos casos se da una severa hinchazón de la lengua, al punto de volverla cianótica impidiendo su alimentación. Las lesiones en las pezuñas que comienza con petequias e hiperemia de las bandas coronales hasta una coronitis del casco, son doloras por lo que las ovejas afectadas toman una posición arqueada hasta evitar por completo el movimiento. En casos superagudos hay una disnea respiratoria debido al edema severo de los pulmones que puede llegar a la muerte por asfixia. Cuando el proceso se vuelve crónico, las ovejas afectadas pueden morir debido a enfermedades secundarias como la bronconeumonía bacteriana (Mertens *et al.*, 2004; Álvarez *et al.*, 2017).

En el tema reproductivo, la infección en ovejas preñadas puede provocar abortos espontáneos, corderos con problemas congénitos al nacer, como hidrocefalia, displasia retiniana y quistes cerebrales, así como también momificación fetal. En los machos provoca una disminución de fertilidad de hasta 90 días, debido a que causa degeneración testicular, inflamación del epidídimo y petequias e inflamación del escroto (Puggioni *et al.*, 2018).

Los signos clínicos en el bovino son raros y menos graves que en ovinos (Figura 5). Se manifiestan en fiebre, conjuntivitis, úlceras y congestión en mucosa oral, secreciones oculares y nasales, aspecto "agrietado" del hocico, coronitis, edema y lesiones necróticas en labios y lengua, necrosis y exudación de la glándula mamaria que se evidencio con la reducción de la producción de leche. En el brote del norte de Europa del BTV-8, se manifestaron severos signos reproductivos debido a que atravesó la barrera transplacentaria, entre ellos un gran número de abortos y malformaciones fetales, los terneros nacidos de madres infectadas desarrollaron opacidad corneal transitoria y signos neurológicos severos (Maclachlan *et al.*, 2015).

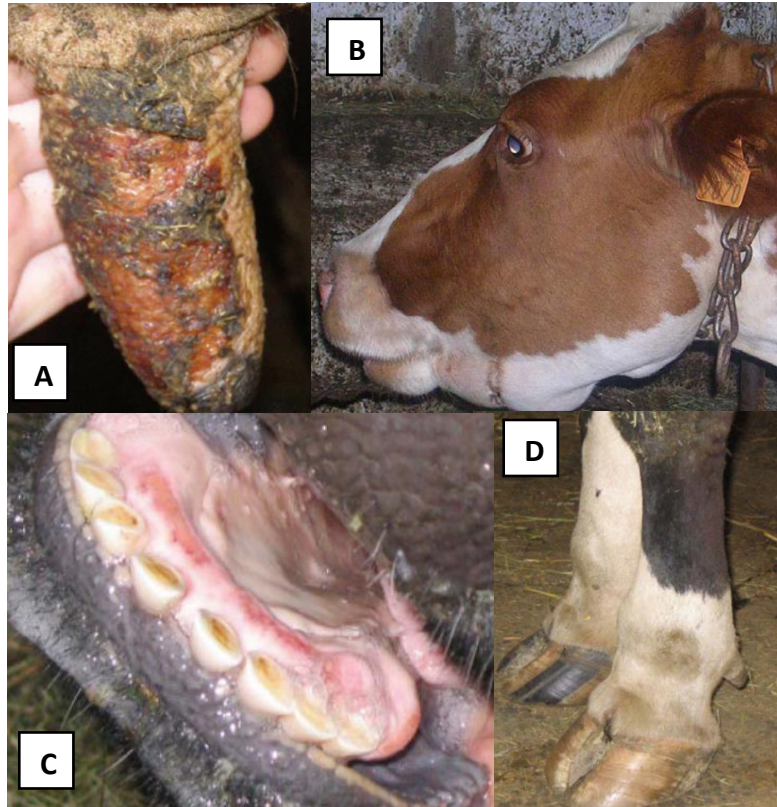


Figura 5. Signos clínicos en bovinos. A: Lesiones necróticas y ulcerosas en pezones. B: Hinchazón submandibular. C: Ulcera en encías. D: Edema encima de las pezuñas. (Laven, 2006)

4.6. LESIONES PATOLÓGICAS:

Las lesiones causadas por el BTV se deben a los problemas de coagulopatía que ocasiona efectos secundarios como hemorragias, eritemas, petequias, equimosis, edemas, congestión, infarto y necrosis en la mucosa gastrointestinal superior, sistema respiratorio, piel, músculo cardíaco, bazo, timo y en nódulos linfáticos retrofaríngeos, submandibulares y preescapulares, es poco común observar las lesiones en órganos del sistema digestivo, riñones, vulva, pene, vejiga y vesícula biliar (Darpel *et al.*, 2007; Belbis *et al.*, 2017)

Los animales a menudo mueren por la atrofia corporal severa que se debe a la degeneración y necrosis de la musculatura esquelética, provocando la despigmentación e infiltración de líquido hacia las fascias musculares evidenciándose en los tejidos subcutáneos con apariencia gelatinosa (Alvarez *et al.*, 2017; Worwa *et al.*, 2009).

5. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:

Actualmente, ELA esta reportada en casi todos los continentes, a excepción de la Antártida. La distribución de BTV está restringida a su vector, siendo su área, históricamente, entre las latitudes 35° S y 40° N, que comprende las regiones tropicales, subtropicales y templadas, cuyas condiciones climáticas deben ser aptas para la reproducción de su vector, a excepción del oeste de América del norte y regiones de Asia donde la infección llego hasta latitud de 50° N (Kundlacz *et al.*, 2019).

La epidemiología del BTV depende de la densidad, especie y raza de las especies hospedantes, serotipo del virus, condiciones climáticas, la distribución y población del insecto vector. Debido a su amplia distribución geográfica se ha clasificado en topotipos, el topotipo oriental lo conforman los serotipos del BTV de Australia, China, Asia meridional y sudoriental, el topotipo occidental incluyen los serotipos de América, Europa, África y Oriente Medio (Rao *et al.*, 2014).

La infección del BTV tiene precedentes hace varios siglos en África, Australia, Asia y América, sin embargo, Europa no se vio afectado hasta inicios de 1990 y en el 2000 se evidenciaron epidemias esporádicas en la cuenca mediterránea y la franja sur de Europa. En el 2006, se dio un brote del BTV-8 que empezó en Países bajos, de acceso limitado por ello solo se extendió a Bélgica, Alemania, Europa occidental y central. A mediados de julio del 2007, el virus sobrevivió al invierno e involucró a Dinamarca, Suiza, Reino Unido y República Checa (Courtejoie *et al.*; 2018).

En agosto del 2008, el brote llegó a Francia de forma muy virulenta y afectando al ganado bovino con transmisión transplacentaria afectando a más de 43mil explotaciones en Europa y considerado uno de los brotes con mayor impacto económico en esta región (Welby *et al.*, 2016). Por disposición del estado se comenzó con vacunas obligatorias todo el 2008-2009 y desde el 2012 Francia fue considerado país libre de Lengua azul por la OIE, sin embargo, en el 2015 se volvió a detectar BTV-8 en Francia y Europa, comportándose como una enfermedad menos grave, de menor viremia y transmisión más lenta en comparación al brote del 2008, hasta la fecha aún se sigue reportando casos esporádicos en esta región (Sailleau *et al.*, 2017).

6. FACTORES DE RIESGO:

La circulación de ELA a largo plazo en el ganado se debe a diversos factores ambientales, cepa del virus, presencia de hospederos y vector competente. Con respecto a los factores ambientales la presencia de precipitaciones, velocidad del viento, altitud, clima y temperatura adecuada favorecen la reproducción del insecto vector (Jacquot *et al.*, 2017). Los climas adecuados son los templados, tropicales y subtropicales con temperaturas óptimas que oscilan entre 27° a 30°C que aumentan la tasa de picadura del vector en aproximadamente cada 3 días y reduce el periodo de incubación de huevos. Los últimos años debido al cambio climático se dio un aumento de los gases de efecto invernadero ocasionando olas de calor con fuertes precipitaciones e inundaciones que abarcan nuevas áreas a las convencionales, favoreciendo las condiciones para aumentar el rango de vida del vector competente que habitualmente es de 20 días, pudiendo llegar a vivir más de 90 días (Bett *et al.*, 2017; Saminathan *et al.*, 2020).

Hay diversos factores con respecto a los hospederos como son la especie, raza, edad, densidad, crianza mixta y estado inmunitario. Con respecto a la especie generalmente las ovejas, llamas y alpacas son la más susceptibles a diferencia de los bovinos y rumiantes salvajes que suelen ser más resistentes a ELA, los caprinos son susceptibles a la infección, pero es menos común la manifestación clínica de la enfermedad, además los hospederos silvestres también son importantes, aunque no se conoce exactamente su tiempo de viremia no se descarta su rol como reservorios de ELA (Da Silva *et al.*, 2018). En las razas autóctonas es poco frecuente observar la enfermedad clínica como se ha visto en razas del sudeste asiático y africanas, en razas del norte de Europa como la merino, se ha evidenciado mayor susceptibilidad a ELA (Saminathan *et al.*, 2020),

Los animales mayores a partir del año de edad son los que suelen ser seropositivos al BTV a diferencia de los jóvenes, se podría deber a su inmunidad pasiva y un menor tiempo al exterior. El estado inmunológico también es importante, debido a que después de una infección se produce anticuerpos neutralizantes que proporciona una protección cruzada por un largo periodo de tiempo, además la infección en animales con sistema inmune comprometido podría aumentar las complicaciones de la manifestación clínica (Caporale *et al.*, 2014).

El vector es importante en la transmisión del BTV, diferentes factores pueden influir como la densidad de vector en zonas de infección, frecuencia en la deposición y eclosión de huevos, migración o adaptación del vector. El BTV posee diversos serotipos, topotipos y constantemente está en reordenamiento genético que genera diferentes virulencias o niveles de patogenicidad, tal como se observó en el brote del 2007 en Europa con el serotipo BTV- 8, afectando de forma clínica al ganado bovino y generando cuantiosas pérdidas económicas (Saminathan *et al.*, 2020).

7. IMPORTANCIA DEL VIRUS DE LENGUA AZUL:

ELA está incluida en la lista de enfermedades de declaración obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) que prohíbe el comercio internacional de animales y de productos de origen animal. Además, genera pérdidas socioeconómicas severas en el sector ganadero, de forma directa afecta en la disminución de calidad de lana, reducción en la producción de leche, masa corporal, infertilidad temporal, abortos, anomalías fetales y pérdida de peso al nacer (Gethman *et al.*, 2020). De forma indirecta en gastos de vacunación, vigilancia, control de vectores, diagnóstico, tratamiento y las restricciones del comercio de animales rumiantes de a pie y derivados como el germoplasma (semen y embriones) (Welby *et al.*, 2016).

Desde 1996 ha estado presente en el sur de Europa y el Mediterráneo generando pérdidas económicas de más de 3 mil millones de euros. Los brotes de BTV-8 en Francia y EEUU causaron pérdidas de 1.400 millones de dólares durante el 2007 y 95 mil millones de dólares desde el 2007 hasta el 2014, respectivamente (Rushton y Lyons, 2015). El brote del 2007, del BTV-8 generó severas pérdidas económicas debido a que afectó al ganado bovino y su reaparición del virus después del periodo de invierno, que no se creía posible la supervivencia del vector a estas condiciones. Por lo que se ha propuesto que tanto el calentamiento global como el cambio climático están contribuyendo a incrementar el rango global de transmisión, debido a que favorecen las condiciones ambientales para la supervivencia y reproducción del vector en lugares en donde normalmente no eran aptos (Samy y Peterson, 2016) (Figura 6).

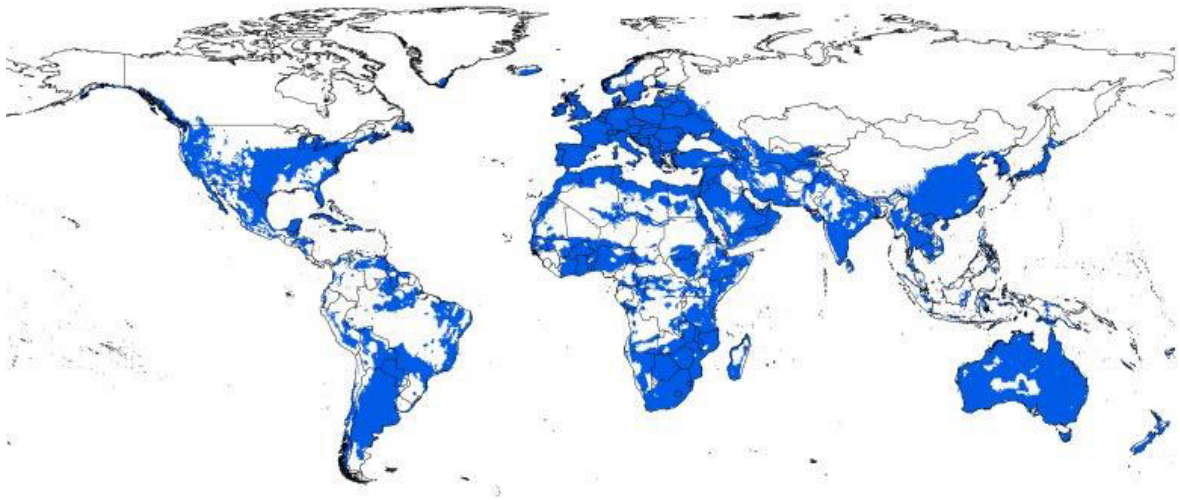


Figura 6. Mapa de distribución potencial del BTV, basado en las condiciones climáticas Azul: condiciones adecuadas, Blanco: condiciones inadecuadas (Samy y Peterson, 2016)

En el Perú, existe evidencia serológica del BTV en ovinos, caprinos y animales silvestres en los departamentos de Madre de Dios, Pucallpa, Tumbes, Piura, Lambayeque y Cajamarca, ubicados en zonas tropicales y subtropicales que favorecen su transmisión, también se ha identificado como vector al *C. insignis* en Pucallpa (Rosadio, 1984; Rivera *et al*, 2013; Navarro *et al*, 2019; Jurado *et al*, 2020, Escano *et al.*, 2022). La región selva tropical peruana favorece la proliferación de este vector debido a que las condiciones de humedad y temperatura son apropiadas para su desarrollo. La mayor población de ganadería en el Perú se encuentra en la región sierra, aledaña a la región tropical, que podría verse afectada por la migración del insecto vector del BTV debido a los cambios bruscos medioambientales por el calentamiento global desde el trópico afectando así a la zona de mayor comercio.

8. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL:

8.1. ENFERMEDAD HEMORRÁGICA EPIZOÓTICA:

El virus de la enfermedad hemorrágica epizootica (EHDV) al igual que BTV, pertenecen al género *Orbivirus*, dentro de la subfamilia *Sedoreovirinae* de la familia *Reoviridae*, ambos se transmiten por un insecto vector del género *Culicoides*, EHDV afecta en mayor medida a los rumiantes silvestres, evidenciando signos en el venado de

cola blanca, las ovejas, caprinos y camélidos son susceptibles a la infección y en menor medida los bovinos (Maclachlan *et al.*, 2019).

La manifestación clínica se presenta con fiebre, anorexia, dificultad respiratoria, edema en cabeza y cuello, en algunas ocasiones genera hinchazón de la lengua y de las conjuntivas, signos similares a LA, por lo que se requiere de análisis de laboratorio para un diagnóstico definitivo, al pertenecer al mismo género Orbivirus genera reacción cruzada en la prueba de AGID, actualmente la técnica de C-ELISA es la de elección y también se puede realizar RT-PCR (OIE, 2021).

8.2. FIEBRE AFTOSA:

Es una enfermedad viral que afecta principalmente al ganado de pesuña hendida causada por la familia *Picornaviridae*, género *Aphthovirus*, de alta morbilidad, rara vez mortal en animales adultos, pero muy alta en animales jóvenes generando severas pérdidas económicas por su restricción al comercio internacional de animales de pie debido a que está inscrita en la lista del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal, el Perú es considerado país libre de fiebre aftosa sin vacunación desde el 2018 (PANAFTOSA, 2020).

La fiebre aftosa se caracteriza por fiebre y úlceras en forma de ampollas en la boca, lengua, labios, en las ubres y entre las pezuñas. Los signos son muy similares a los de ELA, a diferencia que las lesiones en fiebre aftosa suelen ser erosivas y vesiculares y las de ELA son edematosas, hemorrágicas y erosivas. También difieren en la ubicación de las lesiones en la lengua, en fiebre aftosa suele desarrollarse en la punta y en el dorso de la lengua, en ELA se sitúa en borde posterior y lateral de la lengua. ELA suele presentarse de forma esporádica debido a su transmisión dependiente de un vector y fiebre aftosa es muy contagiosa con alta morbilidad en el rebaño (Rojas *et al.*, 2019).

8.3. ESTOMATITIS VESICULAR:

Es una enfermedad viral causada por el género *Vesiculovirus*, familia *Rhabdoviridae* entre sus especies susceptibles están los caballos, cerdos y bovinos, puede afectar también a rumiantes domésticos y silvestres, es endémica en América (OIE, 2021).

Los signos son fiebre y vesículas en la lengua, mucosa bucal, labios, patas y en pezones, genera pérdidas económicas debido a la disminución de la producción láctea y cárnica, por lo que se encuentra incluida en la lista de enfermedades de declaración obligatoria de la Organización Mundial de Sanidad Animal (SENASA, 2017).

9. PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO:

9.1. INMUNODIFUSIÓN EN GEL DE AGAR (AGID):

La prueba de AGID se usa desde 1982 como una prueba de analítica estándar para el control del movimiento internacional de rumiantes, aunque en la actualidad no se le considera una prueba exacta como apoyo al comercio internacional (OIE, 2021).

Es una prueba cualitativa relativamente fácil de realizar debido a su metodología simple; sin embargo, carece de sensibilidad y especificidad. Una de sus desventajas es la difícil interpretación de sus resultados, y la más importante es la reacción cruzada que presenta con otros orbivirus como EHDV por lo que no sólo detecta anticuerpos contra serotipos del BTV. Un resultado de suero positivo con esta metodología se debe volver a analizar con una prueba específica del BTV y la prueba de elección es el C-ELISA debido a su alta especificidad. Por lo tanto, AGID se considera como una prueba alternativa para c-ELISA declarada por la OIE (Sohail *et al.*, 2017).

9.2. ENSAYO POR INMUNOADSORCIÓN LIGADA A ENZIMAS (C-ELISA)

El ELISA de competición o también llamado ELISA de inhibición, es una prueba que tiene como finalidad medir la concentración de anticuerpos específicos contra el BTV sin detectar anticuerpos de reacción cruzada contra otros Orbivirus. El uso de anticuerpos

monoclonales le permite tener una alta especificidad debido a que se unen a la proteína estructural VP7, la cual es altamente conservada entre los diferentes serotipos del BTV (Ulisse *et al.*, 2021).

El c-ELISA es un método más específico, rápido y sensible a comparación de AGID, debido a ello lo reemplazo en el monitoreo internacional y nacional del BTV para el comercio de rumiantes. Se utiliza el c-ELISA para el diagnóstico serológico del BTV, permite monitorear la vacunación, así como la planificación de políticas de control y erradicación (OIE, 2021).

9.3. NEUTRALIZACIÓN VIRAL:

Esta prueba identifica anticuerpos neutralizantes específicos de un serotipo y determina su título. Las principales ventajas de esta prueba es su alta especificidad y sensibilidad, permite identificar el serotipo del BTV responsable de la infección, para evaluar el estado inmunitario de animales después de la vacunación, no presenta reacción cruzada con otros serogrupos de Orbivirus. La prueba de neutralización viral es importante en la vigilancia epidemiológica, se utiliza para la detección del BTV durante la planificación del control y la erradicación para la identificación de animales infectados (Worwa *et al.*, 2013; Rojas *et al.*, 2019).

La desventaja de esta prueba es su metodología lenta, laboriosa y se requiere tanto cultivos celulares como antisueros para todos los serotipos conocidos de BTV. Se usa en zonas endémicas en donde posiblemente se pueda detectar diferentes serotipos en la zona afectada, se recomienda su uso en conjunto con otras pruebas virológicas para la determinación más exacta del serotipo presente (Rojas *et al.*, 2019).

9.4. RT-PCR:

Es una prueba molecular altamente sensible y rápida para la detección del genoma del BTV, que nos proporciona el serotipo específico presente, a diferencia de otras pruebas que pueden tardarse hasta 4 semanas en poder obtener resultados. En la actualidad existen diferentes protocolos de RT-PCR del genoma del BTV, entre los más utilizados están los

segmentos 1,2,5 y 10 en muestras de sangre y tejidos de animales afectados con BTV, sin embargo no se evidencia la misma sensibilidad en el semen (OIE, 2021).

Se han desarrollado ensayos de PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) para obtener resultados rápidos y confiables en la detección del genoma del BTV, esta prueba mostró mayor sensibilidad a niveles muy bajos de ARN del BTV en tejidos, cultivos celulares y semen que el RT.PCR convencional, por lo que podría ser una herramienta útil para la detección de semen toros y carneros afectados con BTV (Saminathan *et al.*, 2020).

10. PREVENCIÓN Y CONTROL:

La forma de prevenir la enfermedad es mediante el uso de vacunas profilácticas, la protección de los animales susceptibles contra el insecto vector, desde el uso de insecticidas, repelentes, mallas con agujereado apropiado y alojamiento de especies o razas susceptibles en corrales cerrados en las noches y primeras horas de la mañana en donde la mayoría de las especies del insecto vector tienen una mayor actividad. También mantener un correcto control de las heces de los animales que podrían atraer más insectos y el control de humedad en el ambiente. No existe un tratamiento eficaz contra ELA, sólo tratar los signos clínicos y cuidados de apoyo, evitando enfermedades secundarias que podrían agravar el cuadro (Benelli *et al.*, 2017).

Existen medidas de control que implantó la Directiva del Consejo de la Unión Europea en zonas afectadas con ELA, en donde se hizo una diferenciación de 3 zonas de restricción, la primera zona está ubicada a 20 km de radio del lugar afectado, se tiene que examinar a todos los animales y realizar pruebas de laboratorio para confirmar la enfermedad. La zona de protección a una distancia mínima de radio de 100 km de la zona infectada, se debe instaurar un programa de vigilancia epidemiológica mediante el monitoreo serológico de bovinos centinela y el seguimiento entomológico del vector presente. Los animales de esta zona tienen prohibido el movimiento hasta que BTV sea negativo, se puede vacunar en esta zona. La zona de vigilancia comprende por lo menos 50 km de radio a partir de la zona de protección. Se mantiene los mismos cuidados que en la zona anterior a diferencia que se prohíbe la vacunación (Caporale y Giovannini, 2010).

ELA está incluida en la lista de enfermedades de declaración obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) que prohíbe el comercio internacional de animales y de productos de origen animal, se debe realizar a las 24 horas de diagnosticada la enfermedad. Se restringe el comercio internación de rumiantes, tanto de animales de pie, como semen y embriones de animales de zonas afectadas, así como también subproductos de los bovinos (OIE, 2021).

10.1. VACUNAS:

La vacunación es fundamental para la prevención de ELA en muchas áreas endémicas, la vacunación permitió disminuir la circulación del BTV, reducir pérdidas económicas, erradicar BTV en una región y el libre comercio de animales de forma segura. En algunas partes del mundo se encuentran disponibles vacunas de BTV tanto inactivadas como vivas atenuadas que se basan en las cepas y serotipos de virus locales, estas son las descritas y aceptadas por la OIE, También existes vacunas recombinantes en estudio y proceso de desarrollo, pero aún no ha sido autorizadas a su comercio (Van Rijn, 2019).

10.1.1. VACUNAS VIVAS ATENUADAS:

Desde 1907 hasta 1943 se usó por primera vez una vacuna viva atenuada monovalente contra el BTV, sin embargo, se dejó de utilizar porque no logró proporcionar inmunidad contra muchos otros serotipos del BTV. Actualmente existe una vacuna viva atenuada del BTV que contiene cinco combinaciones diferentes de serotipos del BTV utilizada en EE. UU. (solo vacunación en ovejas), África, Turquía, India y diferentes países europeos. (Ranjan *et al.* 2019).

Una de las ventajas de este tipo de vacunas es que son económicas y se requiere sólo una dosis baja y rentable de virus atenuado para desencadenar un sistema inmunitario protector de larga duración. Sus desventajas es que puede provocar la manifestación clínica de la enfermedad en animales vacunados que ya pasaron la fase de viremia, reversión a la virulencia y la capacidad de atravesar la placenta provocando efectos

teratogénicos y aborto en animales preñados, también influye en la reducción de la producción de leche en animales lactantes (Savini *et al.*, 2014).

También se ha demostrado que existe una transmisión del BTV por el insecto vector, al alimentarse de un animal vacunado hacia un hospedero susceptible. Por lo tanto, las vacunas atenuadas deben inyectarse durante el período de inactividad del vector para reducir el reordenamiento genético del BTV con virus vacunales y antes de la gestación de los animales para evitar problemas en el feto (McVey y MacLachlan, 2015).

10.1.2. VACUNAS INACTIVADAS:

Las vacunas inactivas o muertas contra el BTV son mucho más seguras debido a la ausencia de recurrencia de la enfermedad, viremia en animales vacunados y reversión de la virulencia (Zientara *et al.*, 2010).

Las desventajas de estas vacunas es que requieren múltiples dosis para su eficacia por lo que suelen resultar más caras, también se necesita grandes cantidades de dosis para desencadenar la inmunidad protectora y en animales vacunados la inmunidad es relativamente corta. En el brote de Europa en el 2006 del BTV-8, se utilizó una vacuna inactivada del serotipo 8 que redujo significativamente las pérdidas económicas. Para lograr una protección integral, los animales deben vacunarse contra todos los serotipos del BTV que circulen en su región (Mayo *et al.*, 2017).

11. VIGILANCIA

11.1. MUESTREO SIMPLE AL AZAR:

Este tipo de muestreo se realiza en poblaciones homogéneas que analiza de forma aleatoria a todas las unidades dentro de la población, para asegurar que cada unidad tenga la misma oportunidad de ser incluido en el muestreo y así poder obtener muestras representativas de la población (Segura y Honlond, 2002; Porras, 2014).

11.2. MUESTRO ESTRATIFICADO AL AZAR:

Se realiza en poblaciones heterogéneas y se basa en dividir la población en subgrupos o estratos para luego de forma aleatoria muestrear las unidades de interés dentro de cada estrato, siendo estas relativamente homogéneas entre sí. La finalidad de este muestreo es poder analizar todos los estratos representados por sus muestras de interés que han sido seleccionadas al azar (Segura y Honlond, 2002; Otzen y Mnaterola, 2017).

Hijazeen *et al.*, (2020) utilizó este método para obtener su población de vacas lecheras y ovinos seleccionados de granjas en 5 diferentes departamentos que lo tomo como estratos pertenecientes a Jordania, con la finalidad de obtener valores representativos para cada especie y departamento.

11.3. MUESTRO POR CONGLOMERADOS:

Este tipo de muestreo se realiza en poblaciones grandes y dispersas en inmensas áreas geográficas que divide la población en conglomerados con ligeras diferencias entre ellos, a su vez se elige de forma aleatoria las unidades de interés dentro de cada conglomerado que suelen ser más heterogéneas entre ellas. Se obtiene la mayor cantidad de conglomerados a comparación de las unidades de interés, para así obtener muestras representativas de la población, logrando disminuir costos y una mayor eficiencia en cuanto actividades administrativas (Segura y Honlond, 2002; Otzen y Mnaterola, 2017).

A diferencia de otros métodos como el muestreo simple al azar que eligen a todas las muestras dentro de una población homogénea o el muestreo por estratificación que divide su población y busca muestrear sus individuos de todas sus estratificaciones. Su mayor ventaja es poder obtener resultados variados en una zona con una gran área geográfica y permite combinarlo con otros tipos de muestreo para así poder obtener muestras lo más representativo posible (Segura y Honlond, 2000).

Bakhshesh *et al.* (2020) utilizaron este método para poder seleccionar sus muestras en todo el territorio de Irán, diferenciando sus unidades epidemiológicas por similitud medioambientales, seleccionó a los rebaños como sus conglomerados y como unidad de interés a las cabras, bovinos y ovinos. Lo que le permitió tener una mayor información

en todo su territorio con diferentes ubicaciones geográficas y a su vez disminuir costos y gastos administrativos

11.4. VIGILANCIA ESPACIAL:

Es una herramienta que se viene utilizando en los últimos años, debido a que permite una mejor comprensión y explicación de la localización de los elementos a estudio en un territorio, para lo cual necesita las coordenadas precisas en cuanto altitud y longitud de todos los elementos a muestrear. Los objetivos de esta herramienta son la descripción de patrones espaciales, la identificación geográfica de grupos de enfermedades y la comprensión o predicción del riesgo de enfermedad (Valbuena y Rodriguez, 2018).

En Europa se usó la distribución espacial como herramienta en los brotes del BTV entre el 2006-2008, y en estudios posteriores que ayudó a comprender la magnitud de los casos positivos a BTV y su densidad, identificando áreas de riesgo, expansión del vector competente, efectividad de vacunas y determinando los factores de riesgo a nivel ecológico como lo son la altitud, vegetación, etc. y medioambientales como es el caso de humedad, temperatura, precipitaciones y velocidad del viento. Esta herramienta tiene relevancia debido a que brinda información de estudios predictivos de brotes del BTV y propagación del virus, permitiendo priorizar las estrategias de control y prevención de manera focalizada, mejorando el uso de recursos y personal, además de ser didáctica en la comprensión de la epidemiología y la dinámica de enfermedades infecciosas debido a la sencillez de las gráficas de mapa de calor (Charron *et al* 2013; Pascual *et al.*, 2014; Malesios *et al*; 2020).

11.4.1. DENSIDAD DE KERNEL:

La densidad de Kernel es una técnica cualitativa no paramétrica que permite calcular la densidad de los casos positivos distribuidos geográficamente en un territorio. Su distribución se basa en puntos, por lo que la densidad es más alta cuando esta cercana al punto y se va disminuyendo con la distancia, cuya unidad de área puede estar determinada por metros, kilómetros o millas (Valbuena y Rodriguez, 2018).

Bessell *et al.*, (2016) empleo esta técnica para poder predecir el potencial de propagación del BTV en Escocia y desarrollar planes de contingencia como óptimas

estrategias de vacunación, ubicando las zonas de mayor densidad de casos positivos en la zona de estudio para poder priorizar los recursos económicos y administrativos en zonas de riesgo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS:

1. ORIGEN DE LAS MUESTRAS DE SUERO:

Las muestras de suero de bovino provienen de la seroteca del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), que fueron tomadas para la vigilancia pasiva de *Brucella bovis* a nivel nacional en el año 2017 y fueron donadas al Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM) en el 2018 para trabajos de investigación.

El tamaño de muestras fue establecido para un muestro por conglomerados en dos etapas empleándose como proporción referencial 1%, obteniéndose así un total de 1522 conglomerados distribuidos manera aleatoria en los 24 departamentos, por cada conglomerado se muestreo 8 animales en promedio, por ende, se colectaron 12 689 muestras de bovino de todo el Perú. Para el caso de la selva peruana, según el marco muestral ofrecido por SENASA se obtuvo 321 conglomerados.

Las muestras fueron tomadas de la vena coxígea (base de la cola) o de la vena yugular del animal de bovinos aparentemente sanos. La base de datos proporcionada por SENASA detalla la procedencia, altitud, edad y ubicación geográfica. Además, indica el número de animales por predio de cada departamento.

Para el presente estudio se analizaron sueros de la selva del Perú, que comprende los departamentos de Amazonas, Loreto, Madre de Dios, San Martín y Ucayali, ubicados entre las coordenadas 4°23'23.93" S y 73°53'15.00" O hasta 11°37'46.60" S y 70°32'25.84" O.

2. TAMAÑO DE MUESTRA:

En el presente estudio se calculó el tamaño de muestra con la fórmula para muestreo por conglomerado bietápico, para así obtener una mayor correlación entre las unidades de interés dentro de cada conglomerado que entre conglomerados, debido a que si dentro de un conglomerado ubicado en una zona geográfica específica hay un caso positivo a una enfermedad es probable que otro animal dentro de este conglomerado también lo sea, a diferencia que pase lo mismo con otro conglomerado con ubicación geográfica distinta. (Segura y Honhold, 2000). Se consideró unidad primaria de muestreo (UPM) a los predios y unidad elemental de muestreo dentro del predio (UEM) a los bovinos.

Primero se definió el número promedio de unidades de interés en cada conglomerado, es decir el promedio de bovinos a muestrear dentro de cada unidad primaria de muestreo (UPM). Se utilizará la siguiente fórmula:

$$n_2: \sqrt{\left(\frac{C1}{C2}\right) (1 - cci)/cci}$$

n_2 : Número promedio de unidades de interés en cada conglomerado.

C1: Costo de tomar una muestra en dos conglomerados.

C2: Costo de muestrear dos unidades de interés en un mismo conglomerado.

CCI: Coeficiente de correlación entre unidades dentro de los conglomerados.

Para el estudio p : 0.40 (Carvelli *et al.*, 2019)

Debido a que las muestras de sangre fueron donadas por SENASA al Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM no se toma en consideración los temas de costo (C1 y C2). Para este estudio la correlación entre unidades dentro de los conglomerados se tomó 0.4 como valor según un estudio realizado por Carvelli *et al.*, (2019) De acuerdo a la ecuación descrita:

$$n_2 = \sqrt{(1-0.4)/0.4} = \lceil 1.22 \rceil = 2$$

Por ende, el número de bovinos que conforma un conglomerado es 2 animales.

Luego, en base a Segura y Honhold (2000), se estima el tamaño de muestra requerido como si fuera un muestreo simple a azar, a este resultado debe aplicarse la corrección por

efecto del diseño (DEFF), la cual corrige el tamaño de muestra de un muestreo simple al azar al aplicarse un muestreo bietápico, utilizando la siguiente fórmula:

$$N = DEEF * n(msa) = 1 + (n2-1) p * \frac{z^2 pq}{e^2}$$

- N: Tamaño de muestra.
 DEEF: Corrección por efecto del diseño.
 n(msa): Tamaño de muestra para un muestreo aleatorio simple.
 N2: Número promedio de unidades de interés en cada conglomerado.
 Z: Nivel de confianza.
 p: Prevalencia.
 q: 1-p.
 e: Precisión deseada

En el presente estudio, se consideró una seroprevalencia previa de BTV del 56.1% (Jurado *et al*, 2019), con intervalo de confianza del 95%, y un porcentaje de error del 7%:

$$N = 1 + (2 - 1)0.56 * (1.96)^2 \frac{(0.56)(0.44)}{0.07} = 272$$

Es decir, se obtuvo un total de muestras de 272 animales, con un tamaño promedio de cada conglomerado de dos animales, por tanto, 136 conglomerados en total (Cuadro 5). La distribución de los conglomerados fue de forma proporcional para cada departamento y de acuerdo al IV Censo Nacional Agropecuario del 2012 (INEI,2012), de la siguiente manera:

Cuadro 5. Población bovina según CENSO 2012, número de conglomerados y número de muestras por conglomerado por cada departamento del presente estudio.

Departamento	Censo 2012	Proporción	Conglomerado	muestras
Amazonas	157166	0.11	39	78
Loreto	46646	0.09	12	24
Madre de Dios	50147	0.09	13	26
San Martín	228826	0.29	57	114
Ucayali	60193	0.42	15	30

3. ANÁLISIS SEROLÓGICO:

3.1.LUGAR DE ESTUDIO Y TIEMPO

El presente estudio se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de Microbiología y Parasitología, sección Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de san Marcos en los meses de junio a diciembre del 2021.

3.2.DESARROLLO DE LA PRUEBA ELISA:

Las muestras suero de bovino fueron empleadas para detectar anticuerpos contra BTV con el kit comercial de ELISA de competición, ID Screen® Bluetongue Competition IDVet-Francia, siguiendo las instrucciones del fabricante. El Kit posee una especificidad de 98.2%, una sensibilidad de 87.8% (Vandenbussche *et al.*, 2008). Emplea un anticuerpo monoclonal contra epítomos específicos de la proteína VP7 diferenciándolo de otros Orbivirus, como el virus de la Enfermedad Hemorrágica Epizootica (EHDV).

3.2.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

Las muestras de suero fueron organizadas por departamento y descongeladas, seguido se transfirió 60ul de cada muestra en una microplaca de 96 pocillos.

3.2.2. PREPARACION DE LA SOLUCIÓN LAVADO:

La solución de lavado (20X) se mantuvo a temperatura ambiente. Luego se diluyo 1:20 en agua bidestilada para la preparación de la solución de lavado de trabajo (1X)

3.2.3. EJECUCIÓN DE LA PRUEBA DE ELISA

1. Los reactivos se mantuvieron a medio ambiente 2 horas antes de su uso.
2. En todos los pocillos de la microplaca se colocaron 50µl del diluyente, seguido se añadió 50µl del control positivo en A1 y B1, mientras que en C1 y D1 el control negativo. En los pocillos restantes se transfirió 50µl de la muestra de suero del apartado **3.2.1**

3. Se procedió a cubrir la microplaca para que incube por 45 minutos a temperatura ambiente.
4. Se distribuyó 100µl del conjugado (1X) en todos los pocillos de la microplaca.
5. Se cubrió la placa para que incube por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Se procedió a lavar los pocillos 3 veces como 300ul de la solución de lavado.
7. Se añadió 100µl de solución de revelación en todos los pocillos.
8. Se cubrió la placa para que incube por 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
9. Se añadió 100ul de solución de parada en cada pocillo.
10. Para finalizar se realizó la lectura en un espectrofotómetro Elx800 de la marca BIOTEK con una longitud de onda de 450nm.

3.2.4. DESCRIPCIÓN Y PRINCIPIO:

Los pocillos están sensibilizados con la proteína recombinante VP7. Las muestras problema y controles con anticuerpos competirán con los anticuerpos monoclonales marcados con HRP del conjugado para formar complejos anticuerpo-VP7 en los pocillos. La aparición de coloración revelará la ausencia de anticuerpos, caso contrario las muestras serían positivas a anticuerpos contra BTV.

3.2.5. INTERPRETACIÓN:

Luego de la validación del ensayo de ELISA de competencia, se procedió a realizar la lectura de las densidades ópticas de la microplaca mediante el espectrofotómetro Elx800 de la marca BIOTEK empleando el Software de IDVET para determinar su negatividad o positividad según el fabricante, Se analizó el porcentaje de competición (S/N%) de cada muestra y fueron consideradas muestras de suero positivas a anticuerpos contra BTV, si el % S/N es menor a 40, caso contrario serán negativas. Para cada muestra se calculó el porcentaje de competición (S/N%) siguiendo la fórmula:

$$S/N\% = \frac{DO \text{ muestra}}{DO \text{ CN}} \times 100$$

Donde:

DO muestra: Densidad óptica de la muestra.
DO CN: Densidad óptica del control negativo.

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se determinó la seroprevalencia de BTV en la selva dividiendo el total de animales seropositivos entre el total de animales evaluados multiplicado por 100%, se empleó la fórmula (Ahlbom y Norell, 1990):

$$\text{Prevalencia: } \frac{\text{n}^\circ \text{ de muestras positivas a anticuerpos contra BTV}}{\text{Total de muestras analizadas}} \times 100$$

Asimismo, se determinó la prevalencia corregida considerando la especificidad de 98.2% y una sensibilidad de 87.8% (Vandenbussche *et al.*, 2008) siguiendo la fórmula descrita por (Dohoo *et al.*, 2009). Además, la prevalencia corregida fue expresada con intervalos de confianza del 95% (Greiner y Gardner, 2000)

$$\text{Prevalencia corregida} = \frac{AP + Sp - 1}{Se + Sp - 1}$$

AP: prevalencia aparente, Sp: especificidad, y Se: sensibilidad

$$95\% \text{ IC (Pcorregida)} = AP \pm 1.96 \sqrt{\frac{AP(1 - AP)}{nJ^2}}$$

AP: prevalencia aparente, n: tamaño de muestra, y J: índice de Youden (Se + Sp - 1).

Además, se realizó la prueba de Chi cuadrado empleando el programa estadístico STATA 16 para determinar la asociación entre las variables categóricas de edad y altitud con la frecuencia de muestras positivas a anticuerpos contra BTV. Un *p*-value de 0.05 fue considerado como estadísticamente significativo.

3.4.DISTRIBUCIÓN ESPACIAL:

3.4.1. ESTIMACIÓN DE LA DENSIDAD DE KERNEL (MAPA DE CALOR)

Los mapas de calor o densidad permiten mostrar la concentración de una variable dentro de un radio geográfico determinado, y así indicar varios niveles de magnitud. Para el desarrollo de la densidad de Kernel se requieren de parámetros como el radio de distribución y la georreferenciación de los casos positivos.

Los criterios para el análisis de la distribución espacial de los casos positivos a anticuerpos contra el virus Lengua azul en los departamentos de la selva del Perú fueron:

Criterios de inclusión: Casos seropositivos con georreferenciación correcta dentro del área de estudio.

Criterios de exclusión: Casos seropositivos que no cuenten con georreferenciación en la base de datos o éste sea incorrecto.

Por tanto, se seleccionó solo los casos positivos a anticuerpos contra BTV y se preparó un documento delimitado por comas (CSV) con tres columnas especie, longitud y latitud.

1. Se empleo el software QGIS (QGIS, 2.18 QGIS Development Team) para importar una capa vectorial de los límites departamentales, provinciales y distritales del Perú.
2. A partir del mapa de distribución espacial de los casos positivos de BTV, se realizó un mapa de calor utilizando el software QGIS, para ello se aplicó el algoritmo de densidad de Kernel (Węglarczyk, 2018) y como distancia el rango promedio de vuelo (2km) reportado del vector *Culicoides* spp. (Mellor, 1990)
3. Se realizó la edición de los mapas y además las densidades obtenidas fueron categorizadas en 3 niveles (elevado, moderado y bajo)

3.4.2. DISTRIBUCIÓN DE CASOS SEGÚN ALTITUD

El archivo en formato CSV fue importado en una capa de formato shapefile que cuenta con la división departamental del Perú. Luego se importó una capa vectorial de altitud a 30 arc-seg proveniente de la página WORLDCLIM

(<https://www.worldclim.org/data/worldclim21.html>). La variable altitud fue categorizada en 4 niveles (< 400, 400-1000, 1001-2300, >2300 msnm), esta división de altitud se basó en los pisos altitudinales establecidos por Pulgar, 2014 debido a que presentan similitud en características físico-ambientales. Así mismo, se realizó una ampliación del departamento de Amazonas.

IV. RESULTADOS:

La seroprevalencia del BTV en bovinos de los departamentos de la selva del Perú fue de 70.5% (192/272) (IC 95%: 65.17 – 76.00) mediante la prueba de ELISA de competición.

Se evidencio que los departamentos de Madre de Dios y Ucayali presentaron una prevalencia elevada de 100%, seguido de los departamentos de San Martin con 95.6% (109/114) y Loreto con 79.2% (19/24), mientras que Amazonas presento la prevalencia más baja de 10.2% (8/78) (Cuadro 6)

Cuadro 6. Seroprevalencia de BTV en bovinos de la selva del Perú, 2017.

Procedencia	Nº de animales	Seropositivos	%	IC 95%
Amazonas	78	8	10.2	3.52 – 16.98
Loreto	24	19	79.2	62.91 – 95.41
Madre de Dios	26	26	100	88.46 – 100
San Martin	114	109	95.6	91.85 – 99.37
Ucayali	30	30	100	90.00 – 100
TOTAL	272	192	70.5	65.17 – 76.00

Así mismo, la prevalencia corregida considerando la especificidad de 98.2% y sensibilidad de 87.8% (Vandenbussche *et al.*, 2008) fue de 85.12% (IC 95%: 81.89-88.35)

Además, la prueba de Chi cuadrado mostró asociación significativa ($p > 0.05$) entre la frecuencia a anticuerpos contra BTV y la edad de los animales ($p = 0.025$), así mismo, con respecto a la variable altitud del lugar de muestreo ($p < 0.001$) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Asociación de la frecuencia de anticuerpos contra BTV con las variables categóricas de edad y altitud de los departamentos de la selva del Perú, 2017

Variable	Total	Seropositivos	Frecuencia	<i>p</i>-value*
Edad (meses)				
> 6 – 12	11	10	90.91	0.025
> 12 - 24	29	15	51.72	
> 24	232	167	71.98	
Altitud (msnm)				
< 400	150	133	88.67	< 0.001
400 – 1000	70	59	84.29	
1001 – 2300	26	0	0	
> 2300	26	0	0	
Total	272	192	70.5	

*nivel de significancia $p < 0.05$

Se evidencio en el mapa de calor tres puntos calientes distribuidos en el norte de Ucayali, sureste de Madre de Dios y centro de San Martín (Figura 7). El valor de densidad de kernel fue elevado (rojo) en San Martín, evidenciado por la alta concentración de casos positivos en dicha área. Además, sus gradientes fueron heterogéneas mostrando un estrechamiento y elongación de áreas moderadas (anaranjado) y bajas (amarrillo) hacia el norte debido a la elevación en dichas áreas (> 1000 msnm).

El mapa de distribución considerando la variable altitud, mostro que el mayor número de casos positivos a anticuerpos contra BTV se ubica en altitudes menores a 400msnm, seguido de 400-1000mnsnm, así mismo, se evidencia que en altitudes superiores a los 1000msnm no se encontraron casos positivos (Figura 8A). En el departamento de Amazonas se encontraron la mayor población de casos negativos a anticuerpo contra el BTV pertenecientes a altitudes superiores a los 1000msnm (Figura 8B).

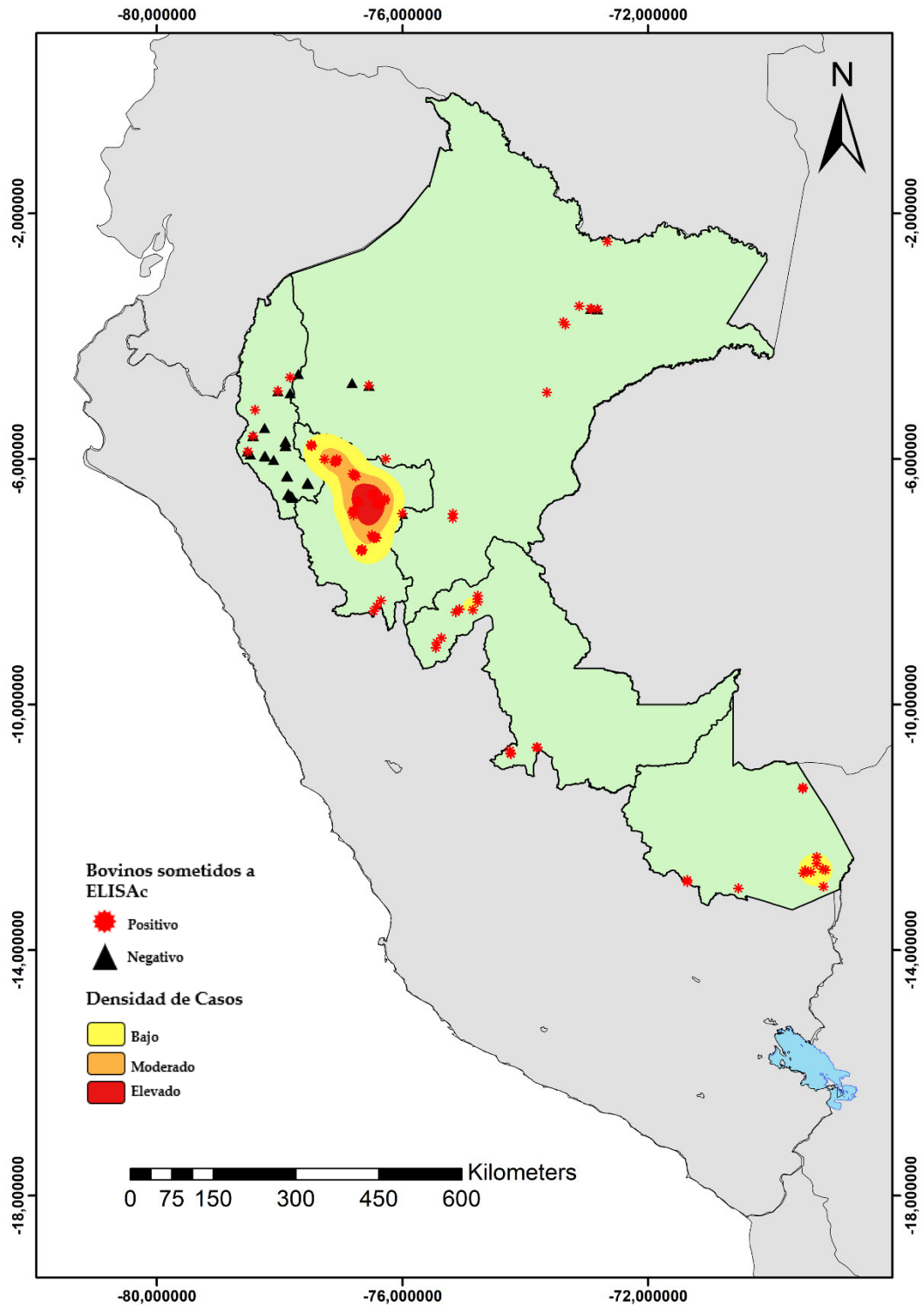


Figura 7. Estimación de la densidad de Kernel, y distribución de casos seropositivos (puntos rojos) y seronegativos (puntos negros) de BTV en la selva del Perú. Los puntos calientes son representados por su densidad de casos en un gradiente de color.

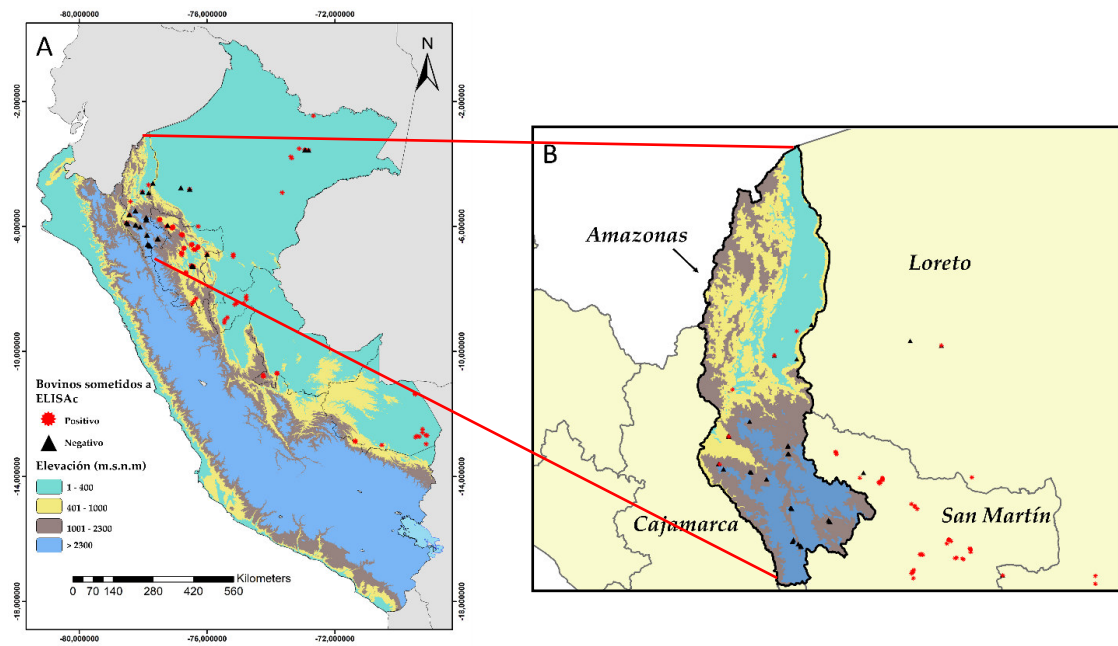


Figura 8. Distribución espacial de casos positivos (puntos rojos) y negativos (puntos negros) a anticuerpos contra el virus Lengua Azul en Perú, de acuerdo a sus altitudes. (A) Casos encontrados en los cinco departamentos de la selva evaluados, (B) casos con énfasis en Amazonas.

V. DISCUSIÓN:

La seroprevalencia de BTV aparente y corregida en bovinos de la región selva del Perú fue de 70.5% (192/272) (IC 95%: 65.17 – 76.00) y 85.12% (IC 95%: 81.89-88.35) respectivamente. La seroprevalencia en el presente estudio fue elevada como la reportada por Navarro *et al.* (2018) y Jurado *et al.* (2019), los cuales obtuvieron prevalencias de 50% en ovinos de Ucayali y 56% en ovinos de Chanchamayo, Junín. Prevalencias elevadas a anticuerpos contra BTV se evidencian en zonas endémicas, en las cuales los hospederos habitan con los vectores biológicos del virus, debido a que el mosquito *Culicoides* encuentra condiciones meteorológicas idóneas para su supervivencia y desarrollo reproductivo (Purse *et al.*, 2015). Las ecorregiones de la selva tropical del Perú se caracterizan por tener una altitud superior a los 300 msnm y un clima tropical, con altas temperaturas y precipitaciones durante todo el año, siendo la precipitación media anual de 1000 y 3000 mm, y la temperatura oscila entre 22°C en los Andes orientales y 31°C en el Amazonas (Climate Change Knowledge Portal, 2020)

Las muestras de suero provienen de bovinos sin manifestaciones clínicas colectados por el SENASA, quienes realizaron un muestreo por conglomerados para la vigilancia activa de Brucellosis en el 2017. Los bovinos suelen desarrollar una infección subclínica a BTV caracterizándose por elevados títulos virales y una viremia prolongada de 60-120 días, por lo que son considerados un reservorio (Van den Bergh *et al.*, 2018) y útiles para la vigilancia activa de BTV. Así mismo, los muestreos por conglomerados permiten agrupar a elementos en unidades más grandes (conglomerados). Esto puede ser más eficiente y económico cuando los elementos de la población están dispersos geográficamente, siendo sus estimaciones más precisas que el muestreo simple al azar. Esto se debe a que la variabilidad intragrupo (dentro de los conglomerados) suele ser menor que la variabilidad intergrupo (entre conglomerados). Al agrupar elementos en

conglomerados, se tiene en cuenta esta variabilidad y se pueden obtener estimaciones más precisas de la población (Segura y Honlond, 2002; Otzen y Mnaterola, 2017)

En general la elevada seroprevalencia encontrada en este estudio concuerda con prevalencias documentadas en América del Sur en diferentes especies de rumiantes (Legisa *et al.*, 2014). Estudios realizados en Brasil evidenciaron altas seroprevalencias de BTV, que oscilan entre 86% a 100% en ganado bovino (Hellmeister *et al.*, 2016; Da Silva *et al.*, 2018). En Brasil, se han notificado brotes de BTV desde 2001 en ovejas y cabras que mostraron signos clínicos, donde algunas de ellas murieron (Clavijo *et al.*, 2002), además, el virus causó una mortalidad significativa (18,4%) en 2014 (Balara *et al.*, 2014 y Guimarães *et al.*, 2017). Así mismo, el venado enano (*Mazama nana*) se vio afectado por una enfermedad hemorrágica durante un brote de BTV en 2015-2016 (Baldini *et al.*, 2018). Por el contrario, Perú no ha informado ninguna evidencia clínica de BTV, aunque se han documentado infecciones y animales seropositivos en regiones tropicales (Jurado *et al.*, 2019, Navarro *et al.*, 2019).

Las seroprevalencias más altas en este estudio pertenecieron a los departamentos de San Martín, Madre de Dios, Ucayali y Loreto (Cuadro 6), además el punto de calor con densidades elevadas a San Martín (Figura 7). En relación a la proporción de animales expuestos a BTV, estos resultados difieren con los obtenidos en Madre de Dios por Rivera *et al.*, 2013 con una seroprevalencia de tan sólo 7.5% (8/106), la explicación de estos resultados se puede deber a la especie en estudio, siendo esta un mamífero silvestre, de los cuales aún no se tiene mayor explicación sobre factores de riesgo, tiempo de viremia, tiempo de vida de anticuerpos, etc. Además, estudios realizados en Ucayali por Navarro *et al.*, 2019 cuyo porcentaje de seropositividad fue del 50% (23/46) en suero de ovinos, la diferencia con el presente estudio puede deberse a la preferencia trófica del mosquito *Culicoides*, siendo este el bovino (Ayllón *et al.*, 2014). Además, se estima que el tiempo de duración de anticuerpos post infección puede llegar a durar en ovinos 167 días y en bovinos 213 días, lo cual es variable de acuerdo a la edad del hospedero y serotipo de BTV (Belbis *et al.*, 2017).

En relación a la estimación de densidad de Kernel, el punto de calor evidente en el departamento de San Martín fue debido a la mayor densidad de casos seropositivos (Figura 7). En San Martín, la mayor densidad de casos fue en la zona centro que corresponde a selva baja y es poco accidentada (< 1000msnm), presentando un clima

semiseco y cálido, con abundante humedad, temperaturas alrededor de 19° a 33°C y abundantes precipitaciones, ambientes propicios para la supervivencia del insecto vector, que concuerda con estudios realizados en diversos países con similares condiciones encontrándose altas densidades de positividad al BTV (Faes *et al.*, 2012; Abdrakhmanov *et al.*, 2021; Hassine *et al.*, 2022). Estos mapas de calor son considerados una importante herramienta que ha permitido visualizar la densidad de aparición de BTV, es decir su intensidad de concentración, identificándose áreas en riesgo de brote, expansión del vector competente y los factores asociados a variables ecológicas y medioambientales en países del norte de Europa en el brote del BTV en el 2006, permitiendo priorizar las estrategias de control y prevención de manera focalizada, mejorando el uso de recursos y personal (Pascual *et al.*, 2014; Malesios *et al.*, 2020).

Las variables categóricas de edad y altitud fueron significativas ($p < 0.005$) para la frecuencia de BTV en bovinos de la selva del Perú (Cuadro 7). En el presente estudio se evidencio 71.98% de animales mayores a 24 meses expuestos a BTV que concuerda con lo reportado Adam *et al.*, (2014), en cuyo estudio terneros a partir de 24 meses comenzaron a infectarse con BTV. Así mismo, Daif *et al.*, (2022) evidenciaron mayor seroprevalencia en animales mayores de 3 años. La variable edad es asociada significativamente a la frecuencia de BTV debido a que a mayor edad mayor tiempo de exposición al vector, y por ende a la infección o reinfección de BTV (Daif *et al.*, 2022). En el caso de la variable altitud, los animales seropositivos estuvieron por debajo de 1000 msnm (Cuadro 7), esto concuerda con lo reporta por Escano *et al.* (2022) en cabras del norte del Perú, quienes también encontraron asociación de la variable altitud con la frecuencia de BTV. Esta variable orográfica esta inversamente relacionada a la temperatura, además en bajas altitudes hay presencia de una basta vegetación y recursos de agua con un microclima ideal para el desarrollo del insecto vector (Mamadou *et al.*, 2019).

El análisis de distribución espacial de los casos seropositivos de BTV en los departamentos de la selva considerando la variable altitud mostraron una distribución por debajo de los 1000 msnm (Figura 8). La seroprevalencia más baja se obtuvo en Amazonas de 10.2% (8/78), esto se debe a que la crianza en dicho departamento es preferentemente en zonas localizadas entre 1000-3000 msnm. Esta seroprevalencia es consistente a otros estudios realizados en yaks en China a una altitud de 3450msnm donde obtuvieron

seroprevalencias desde 0 hasta 22%, mientras que en Perú se obtuvo una seroprevalencia del 0% en ovinos criados a 3800msnm, a diferencia del 56.1% en ovinos criados a una altura de 600msnm por lo que concuerda con el presente estudio que el impacto hostil del entorno provocado por mayores altitudes disminuye en gran medida la reproducción del vector competente y por ende su transmisión (Duan *et al.*, 2019; Jurado *et al.*, 2019).

En el departamento de Amazonas su mayor población bovina se encuentra en zonas de mayor altitud y se viene ingresando pajillas de bovinos de origen suizo como parte del apoyo del gobierno peruano en mejoramiento genético, según nuestro estudio es el departamento con la menor prevalencia, sin embargo si las condiciones meteorológicas fuesen propicias para el metabolismo de insecto vector permitiría el ingreso del BTV en especies y/o razas susceptibles y con menos adaptación inmunológica a la exposición, que podría causar pérdidas económicas y según el serotipo circulante un brote de la enfermedad, tal como paso en Europa en el brote del 2008 del BTV-8 y por coinfecciones de diferentes serotipos en Brasil generando inclusive la muerte del hospedero (Balara *et al.*, 2014; Jacquot *et al.*, 2017),

Según MIDAGRI (2021) las principales cuencas lecheras en ganado bovino y la mayor población de ovinos se ubican en departamentos colindantes al área del presente estudio que cuentan con condiciones no aptas para la supervivencia del vector competente y separados geográficamente por la cordillera de los andes; sin embargo, en los últimos años diversos factores medioambientales han provocado cambios bruscos tales como inundaciones y descongelamiento de glaciares, los cuales podría generar un aumento de temperatura y precipitaciones en zonas donde regularmente no lo presentan, en consecuencia aumentarían zonas propicias para el metabolismo del insecto vector y con hospederos susceptibles al BTV (Bett *et al.*, 2017). Tal como sucedió en el brote del 2008 en Europa, que debido al aumento de temperaturas en la zona norte afectó a especies susceptibles, en conjunto con el ingreso del serotipo del BTV-8 altamente patógeno que provocó severas pérdidas económicas en el ámbito ganadero (Jacquot *et al.*, 2017).

Finalmente, el Perú posee microclimas muy variados en toda su territorio y los departamentos del presente estudio pertenecen la región de la selva con climas y humedad propicias para la distribución del BTV, sin embargo, aún se desconoce los serotipos, topotipos circulantes y los vectores competentes, que son importantes para comprender el comportamiento del BTV. Estos mismos departamentos están colindantes a las

regiones yunga y andina que poseen la mayor e importante población ganadera del país que en mayor proporción son de raza europea y separados geográficamente, que debido a diversos cambios por el calentamiento global podrían ser afectados y manifestando los signos clínicos repercutiendo severamente a la economía del país. La finalidad del presente estudio es poder brindar un mapa de distribución espacial del BTV y poder determinar zonas endémicas para una vigilancia en base a riesgo y control serológico en los departamentos colindantes.

VI. CONCLUSIONES

Nuestro estudio reveló una seroprevalencia corregida notablemente alta del virus lengua azul de 85.12% (IC 95%: 81.89-88.35) en bovinos de la región selva del Perú, siendo mayor en los departamentos de Madre de Dios, Ucayali, San Martín y Loreto.

Asimismo, se evidenció asociación significativa ($p < 0.05$) entre la frecuencia de anticuerpos contra BTV y las variables edad y altitud.

El departamento de Amazonas presentó la menor seroprevalencia, lo que sugiere una menor exposición al BTV en base a la altitud geográfica, según el análisis de distribución espacial.

Además, el mapa de calor destacó áreas de alta densidad en San Martín y también sugiere cómo la elevación geográfica puede influir en la distribución de casos seropositivos a BTV.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Abdrakhmanov SK, Beisembayev KK, Sultanov AA, Mukhanbetkaliyev YY, Kadyrov AS, Ussenbayev AY, Zhakenova AY, et al.** 2021. Modelling bluetongue risk in Kazakhstan. *Parasit Vectors* 14: 491. doi: 10.1186/s13071-021-04945-6
2. **Acevedo AM, Hinojosa Y, Relova D, Perera CL.** 2016. Bluetongue virus: a known virus, a current threat. *Rev Salud Anim* 38: 52-59.
3. **Adam IA, Abdalla MA, Mohamed ME, Aradaib IE.** 2014. Prevalence of bluetongue virus infection and associated risk factors among cattle in North Kordufan State, Western Sudan. *BMC Vet Res* 10: 94. doi: 10.1186/1746-6148-10-94
4. **Ahlbom A, Norell S.** 1990. Introduction to modern epidemiology. *Epidemiology Resources*. 145 p.
5. **Alvarez M, Amaral P, Zandonadi F.** 2017. Lengua azul: desmitificando la enfermedad. *Rev. Acad. Ciênc Anim* 15: S21-31. doi:10.7213/academica.15.S02.2017.A04
6. **Ayllón T, Nijhof A, Weuher W, Bauer B, Allene X, Clausen PH.** 2014. Feeding Behaviour of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) on Cattle and Sheep in Northeast Germany. *Parasit. Vectors* 7: 34. doi:10.1186/1756-3305-7-34
7. **Bakhshesh M, Otarod V, Fallah Mehrabadi MH.** 2020. Large-scale seroprevalence and risk factors associated with Bluetongue virus in Iran. *Prev Vet Med* 179:104994. doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.104994
8. **Backx A, Heutink R, van Rooij E, van Rijn P.** 2009. Transplacental and oral transmission of wild-type bluetongue virus serotype 8 in cattle after experimental infection. *Vet Microbiol* 138: 235-243. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.04.003
9. **Baldini MH, Rosa JC, Matos AC, Cubas ZS, Guedes MI, de Moraes W, de Oliveira MJ, et al.** 2018. Multiple bluetongue virus serotypes causing death in Brazilian

- dwarf brocket deer (*Mazama nana*) in Brazil, 2015-2016. *Vet Microbiol* 227: 143-147. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.10.018
10. **Balaro MF, Dos Santos Lima M, Del Fava C, de Oliveira GR, Pituco EM, Brandão FZ.** 2014. Outbreak of Bluetongue virus serotype 4 in dairy sheep in Rio de Janeiro, Brazil. *J Vet Diagn Invest* 26: 567-570. doi: 10.1177/1040638714538020
 11. **Bett B, Kiunga P, Gachohi J, Sindato C, Mbotha D, Robinson T, Lindahl J, Grace D.** 2017. Effects of climate change on the occurrence and distribution of livestock diseases. *Prev Vet Med* 137: 119-129. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.11.019
 12. **Belbis G, Zientara S, Breard E, Sailleau C, Caignard G, Damien V, Attoul H.** 2017. Bluetongue Virus: From BTV-1 to BTV-27. *Res Virus Adv* 99: 161-197. doi: 10.1016 / bs.aivir.2017.08.003
 13. **Benelli G, Buttazzoni L, Canale A, D'Andrea A, Del Serrone P, Delrio G, Foxi C et al.** 2017. Bluetongue outbreaks: Looking for effective control strategies against *Culicoides* vectors. *Res Vet Sci*: 115:263-270. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.05.02
 14. **Bessell PR, Searle KR, Auty HK, Handel IG, Purse BV, Bronsvoort BM.** 2016. Assessing the potential for Bluetongue virus 8 to spread and vaccination strategies in Scotland. *Sci Rep* 6: 38940. doi: 10.1038/srep38940
 15. **Bouwknegt C, van Rijn PA, Schipper JJ, Holzel D, Boonstra J, Nijhof AM, van Rooij EM, Jongejan F.** 2010. Potential role of ticks as vectors of bluetongue virus. *Exp Appl Acarol* 52: 183-192. doi: 10.1007/s10493-010-9359-7
 16. **Bumbarov V, Golender N, Jenckel M, Wernike K, Beer M, Khinich E, Zalesky O et al.** 2020. Characterization of bluetongue virus serotype 28. *Transbound Emerg Dis* 171-182. doi: 10.1111/tbed.13338
 17. **Caporale V, Giovannini A.** 2010. Bluetongue control strategy, including recourse to vaccine: a critical review. *Rev Sci Tech* 29: 573-591. doi: 10.20506/rst.29.3.2001
 18. **Caporale M, Di Gialleonardo L, Janowicz A, Wilkie G, Shaw A, Savini G.** 2014. Virus and host factors affecting the clinical outcome of bluetongue virus infection. *J Virol*: 88:10399-411. doi: 10.1128/JVI.01641-14
 19. **Carvelli A, Sala M, Autorino GL, Scicluna MT, Iacoponi F, Rombolà P, Scaramozzino P.** 2019. A cross-sectional serosurvey in a sheep population in central Italy following a bluetongue epidemic. *Plos One* 14: e0208074. doi: 10.1371/journal.pone.0208074

20. **Charron M, Kluiters G, Langlais M, Seegers H, Baylis M, Ezanno.** 2013. Seasonal and spatial heterogeneities in host and vector abundances impact the spatiotemporal spread of bluetongue. *Vet. Res* 44:44. doi: 10.1186/1297-9716-44-44
21. **Ciss M, Biteye B, Fall AG, Fall M, Gahn MC, Leroux L, Apolloni A.** 2019. Ecological niche modelling to estimate the distribution of *Culicoides*, potential vectors of bluetongue virus in Senegal. *BMC Ecol* 19: 45. doi: 10.1186/s12898-019-0261-9
22. **Clavijo A, Sepulveda L, Riva J, Pessoa-Silva M, Tailor-Ruthes A, Lopez JW.** 2002. Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. *Vet Rec.* 151:301-2. doi: 10.1136/vr.151.10.30
23. **Climate Change Knowledge Portal for Development Practitioners and Policy Makers.** Available. 2021. Washington: The World Bank Group. [Internet], [02 enero 2023]. Disponible en: <https://climateknowledgeportal.worldbank.org/country/peru/climate-data-historical>
24. **Coetzee P, Stokstad M, Venter E, Myrmel M, Van Vuuren M.** 2012. Bluetongue: a historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virol J* 9: 198. doi: 10.1186/1743-422X-9-198.
25. **Coetzee P, Vuuren M, Venter EH, Stokstad M.** 2014. A review of experimental infections with bluetongue virus in the mammalian host. *Virus Res* 182: 21-34. doi: 10.1016/j.virusres.2013.12.044
26. **Courtejoie N, Zanella G, Durand B.** 2018. Bluetongue transmission and control in Europe: A systematic review of compartmental mathematical models. *Prev Vet Med* 156:113-125. doi: 10.1016/j.prevetmed.2018.05.012
27. **Daif S, El Berbri I, Lhor Y, Fassi Fihri O.** 2022. Serological and molecular prevalence study of bluetongue virus in small domestic ruminants in Morocco. *Sci Rep* 14:19448. doi: 10.1038/s41598-022-24067
28. **Darpe KE, Veronesi E, Shaw AE, Anthony S, Bachanek-Bankowska K, Kgosana L, Bin-Tarif A, et al.** 2007. Clinical signs and pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006 outbreak in northern Europe. *Vet Rec.* 161:253–261. doi: 10.1136/vr.161.8.25
29. **Da Silva TG, Lima MS, Spedicato M, Carmine I, Teodori L, Leone A, Martins MS, et al.** 2018. Prevalence and risk factors for bluetongue in the State of Sao Paulo, Brazil. *Vet Med Sci* 4: 280-287. doi: 10.1002/vms3.113

30. **De Clercq K, Vandaele L, Vanbinst T, Riou M, Deblauwe I, Wesselingh W, Pinard A.** 2021. Transmission of Bluetongue Virus Serotype 8 by Artificial Insemination with Frozen-Thawed Semen from Naturally Infected Bulls. *Viruses*: 13:652. doi: 10.3390/v13040652
31. **De la Torre E, Moreira N, Saegerman C, De Clercq K, Salinas M, Maldonado A, Jarrín D et al.** 2021. Bluetongue Virus Infections in Cattle Herds of Manabí Province of Ecuador. *Pathogens*. 10:1445. doi: 10.3390/pathogens10111445
32. **Duan YL, Bellis G, Li L, Li HC, Miao HS, Kou ML, Liao F et al.** 2019. Potential vectors of bluetongue virus in high altitude areas of Yunnan Province, China. *Parasit Vectors*. 12:464. doi: 10.1186/s13071-019-3736-9
33. **Du Toit RM.** 1944. The transmission of blue-tongue and horse-sickness by *Culicoides*. *Onderstepoort J Vet Anim Ind* 19:7–16.
34. **Escano J, Navarro D, Jurado J, Ara M, Mantilla J, Ramirez M, Rivera H.** 2022. Seroprevalence of Bluetongue virus in goats (*Capra hircus*) of the Northern Region of Peru. *Rev Inv Vet Perú*: vol.33. doi: 10.15381/rivep.v33i6.24096
35. **Faes C, Van der Stede Y, Guis H, Staubach C, Ducheyne E, Hendrickx G, Mintiens K.** 2013. Factors affecting Bluetongue serotype 8 spread in Northern Europe in 2006: The geographical epidemiology. *Prev Vet Med* 110:149-58. doi: 10.1016/j.prevetmed.2012.11.026
36. **Fay PC, Mohd Jaafar F, Batten C, Attoui H, Saunders K, Lomonossoff GP.** 2021. Serological Cross-Reactions between Expressed VP2 Proteins from Different Bluetongue Virus Serotypes. *Viruses*: 13:1455. doi: 10.3390/v13081455
37. **Greiner M, Gardner IA.** 2000. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Prev Vet Med* 45: 3-22. doi: 10.1016/s0167-5877(00)00114-8
38. **Gethmann J, Probst C, Conraths FJ.** 2020. Economic Impact of a Bluetongue Serotype 8 Epidemic in Germany. *Front Vet Sci* 7:65. doi: 10.3389/fvets.2020.00065
39. **Guimarães LL, Rosa JC, Matos AC, Cruz RA, Guedes MI, Dorella FA, Figueiredo HC et al.** 2017. Identification of bluetongue virus serotypes 1, 4, and 17 co-infections in sheep flocks during outbreaks in Brazil. *Res Vet Sci*. 13:87-93. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.09.001

40. **Guerdo A, Di Marco P, Manno C, Di Bella C, Purpari G, Torina A.** 2010. Ovine Catarrhal Fever (Bluetongue): Analysis of *Culicoides* Species in Seropositive Farms. *Transbound Emerg Dis.* 57: 15–18. doi: 10.1111/j.1865-1682.2010.01122.x
41. **Guo Y, Huang L, Bi K, Xu Q, Bu Z, Wang F, Sun E.** 2020. Recombinant bluetongue virus with hemagglutinin epitopes in VP2 has potential as a labeled vaccine. *Vet Microbiol.* 248:108825. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108825
42. **Hassine TB, Sghaier S, Thabet S, Ammar HH, Hammami S.** 2022. Role of eco-climatic factors in the distribution of bluetongue in endemic areas in Tunisia. *Open Vet J.* 12:114-123. doi: 10.5455/OVJ.2022.v12.i1.14
43. **Hellmeister NA, Pituco EM, De Stefano E, Curci, VC, Cardoso TC.** 2016. Prevalence of Bluetongue virus serotype 4 in cattle in the State of Sao Paulo, Brazil. *Ciência Animal Brasileira.* 10: 1271-1276. doi: 10.5216/cab.v10i4.3782
44. **Hijazeen ZS, Ismail ZB, M Al-Majali A.** 2020. Prevalence and risk factors of some arthropod-transmitted diseases in cattle and sheep in Jordan. *Vet World.*13:201-205. doi: 10.14202/vetworld.2020.201-205
45. **Hwang JM, Kim JG, Yeh JY.** 2019. Serological evidence of bluetongue virus infection and serotype distribution in dairy cattle in South Korea. *BMC Vet Res:* 15:255. doi: 10.1186/s12917-019-2000-z
46. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática.** 2012. IV Censo Nacional Agropecuario 2012. [Internet] [Marzo, 2023]. Disponible en: <https://proyectos.inei.gob.pe/web/DocumentosPublicos/ResultadosFinalesIVCENAGRO.pdf>
47. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática.** 2019. Principales Resultados Pequeñas, Medianas y Grandes Unidades Agropecuarias 2014-2018. [Internet] [Abril, 2023]. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1697/libro.pdf
48. **Jacquot M, Nomikou K, Palmarini M, Mertens P, Biek R.** 2017. Bluetongue virus spread in Europe is a consequence of climatic, landscape and vertebrate host factors as revealed by phylogeographic inference. *Proc Biol Sci* 284: 20170919. doi: 10.1098/rspb.2017.0919

49. **Jurado J, Navarro D, Ramirez M, Santiago M, Rivera H.** 2019. Detection of antibodies against bluetongue virus in sheep from two locations in Junín, Peru. *RevInvVetPerú.* 31: 17850. doi: 10.15381/rivep.v31i2.17850
50. **Kundlacz C, Caignar G, Sailleau C, Viarouge C, Postic L, Vitour D, Zientara S et al.** 2019, Bluetongue Virus in France: An Illustration of the European and Mediterranean Context since the 2000s. *Viruses* 11:672, doi: 10.3390/v11070672
51. **Lager LA.** 2004. Bluetongue virus in South America: overview of viruses, vectors, surveillance and unique features. *Vet Ital* 40: 89-93.
52. **Laven R.** 2006. Bluetongue in vaca. *Reino Unido Vet - Vol 11 No 7*
53. **Legisa DM, Gonzales FN, Du Santos MJ.** 2014. Bluetongue virus in South America, Central America and the Caribbean. *Res de virus* 182: 87-94. doi: 10.1016/j.virusres.2013.10.030
54. **López AM, Cruz RD, Puicón VH, Bartra A, Rios O, Fabián F.** 2022. Detección del virus de lengua azul en ovinos por RT-PCR en tiempo real en diferentes sistemas de producción en San Martín, Perú. *Rev. mex. de cienc. Pecuarias.* Vol.13 No.3. doi: 10.22319/rmcp.v13i3.5873
55. **MacLachlan NJ.** 2004. Bluetongue: pathogenesis and duration of viraemia. *Vet Ital.* 40:462–467.
56. **Maclachlan N.** 2011. Bluetongue: history, global epidemiology, and pathogenesis. *Prev Vet Med* 102: 107-111. doi: 10.1016/j.prevetmed.2011.04.005
57. **Maclachlan NJ, Henderson C, Schwartz-Cornil I, Zientara S.** 2014. The immune response of ruminant livestock to bluetongue virus: from type I interferon to antibody. *Virus Res* 182:71-7. doi: 10.1016/j.virusres.2013.09.040.
58. **Maclachlan NJ, Mayo CE, Daniels PW, Savini G, Zientara S, Gibbs EP.** Bluetongue. 2015. *Rev Sci Tech* 34:329-40. doi: 10.20506/rst.34.2.2360
59. **Maclachlan NJ, Zientara S, Wilson WC, Richt JA, Savini G.** 2019. Bluetongue and epizootic hemorrhagic disease viruses: recent developments with these globally re-emerging arboviral infections of ruminants. *Curr Opin Virol* 34:56-62. doi: 10.1016/j.coviro.2018.12.005
60. **McVey DS, MacLachlan NJ.** 2015. Vaccines for Prevention of Bluetongue and Epizootic Hemorrhagic Disease in Livestock: A North American Perspective. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 15:385-96. doi: 10.1089/vbz.2014.1698

61. **Malesios C, Chatzipanagiotou M, Demiris N, Kantartzis A, Chatzilazaraou G, Chatzinikolaou S, Kostoaulas P.** 2020. A quantitative analysis of the spatial and temporal evolution patterns of the bluetongue virus outbreak in the island of Lesbos, Greece, in 2014. *Transbound Emerg Dis* 00: 1-13. doi: 10.1111/tbed.13553
62. **Mayo C, Lee J, Kopanke J, MacLachlan NJ.** 2017. A review of potential bluetongue virus vaccine strategies. *Vet Microbiol* 206:84-90. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.03.015
63. **Mellor PS.** 1990. The replication of bluetongue virus in *Culicoides* vectors. *Curr Top Microbiol Immunol* 162: 143-161.
64. **Mertens PP, Diprose J, Maan S, Singh KP, Attoui H, Samuel AR.** 2004. Bluetongue virus replication, molecular and structural biology. *Vet Ital* 40(4):426-37
65. **Mertens P, Fauziah MJ, Houssam A.** 2015. Orbiviruses and Bluetongue Virus. John Wiley & Sons 1: 1-18. doi: 10.1002/9780470015902.a0001010.pub3
66. **[MIDAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego.** 2017. Plan Nacional de Desarrollo Ganadero 2017-2018. [Internet], [Abril 2023]. Disponible en: <https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/especiales/plan-nacional-ganadero.pdf>
67. **MIDAGRI.** 2015. Lima: Actual Importancia de la Crianza de Vacunos para la Producción de Carne. [Internet], [Abril 2023]. Disponible en: <https://www.midagri.gob.pe/portal/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-producci/304-vacunos-de-doble-proposito>
68. **[MIDAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego.** 2022. Anuario Estadístico Producción Ganadera y Avícola 2021. [Internet], [Abril 2023]. Disponible en: https://siea.midagri.gob.pe/portal/phocadownload/datos_estadisticas/anuarios/pecuaria/pecuaria_2021.pdf
69. **Napp S, García-Bocanegra I, Pagés N, Allepuz A, Alba A, Casal J.** 2012. Assessment of the risk of a bluetongue outbreak in Europe caused by *Culicoides* midges introduced through intracontinental transport and trade networks. *Med Vet Entomol* 27: 19-28. doi: 10.1111/j.1365-2915.2012.01016.x
70. **Navarro D, Rivera H, Cáceres A, Rondón J.** 2018. Morphological Identification of *Culicoides* spp Described as Orbivirus Transmitters Trapped in Sheep Farms in Pucallpa, Peru. *Rev Inv Vet Peru* 29: 302-309. doi: 10.15381/rivep.v29i1.14203

71. **Navarro D, Rojas M, Jurado J, Manchego A, Ramírez M, Castillo A, Rivera H.** 2018. Molecular detection of Bluetongue virus in *Culicoides* insignis and sheep of Pucallapa, Peru. *Rev Inv Vet Peru* 30:465-476. doi: 10.15381/rivep.v30i1.15690
72. **Neitz WO.** 1948. Immunological Studies on Bluetongue in Sheep. *J Vet Sci Anim Ind* 23:93–136
73. **Nogueira A, Pituco EM, Stefano ED, Curci LM, Cardoso TC.** (2009) Detection of antibodies against bluetongue virus in sheep in Araçatuba region, São Paulo, Brazil. *Ciência Animal Brasileira* 10:1271–1276.
74. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal.** 2021. Estomatitis Vesicular Francia: OIE. Manual Terrestre de la OIE 2021. Cap 3.1.23. 18p
75. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal.** 2021. Infeccion por el Virus de la Enfermedad Hemorragica Epizootica. Francia: OIE. Manual Terrestre de la OIE 2021. Cap 3.1.7. 14p
76. **[OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal.** 2021. Lengua Azul Francia: OIE. Manual Terrestre de la OIE 2021. Cap 3.1.3. 23p
77. **[PANAFTOSA] Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y Salud Publica Veterinaria.** 2020. Informe de Situación de los Programas de Erradicación de la Fiebre Aftosa en Sudamerica y Panama 2020. Brasil: Organización Panamericana de la Salud – OPS/OMS. 268p
78. **Pascual A, Martínez B, Pfeiffer D, Moreno J, Sanz C, Sánchez J.** 2014. Evaluation of the spatial and temporal distribution of and risk factors for Bluetongue serotype 1 epidemics in sheep Extremadura (Spain), 2007-2011. *Prev Vet Med* 116: 279-95. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.05.009
79. **Patel A, Roy P.** 2014. The molecular biology of Bluetongue virus replication. *Virus research* 182: 5-20. doi: 10.1016/j.virusres.2013.12.017
80. **Patel A, Mohl BP, Roy P.** 2016. Entry of Bluetongue Virus Capsid Requires the Late Endosome-specific Lipid Lysobisphosphatidic Acid. *J Biol Chem*: 291:12408–19. doi: 10.1074/jbc.M115.700856
81. **Puggioni G, Pintus D, Melzi E, Meloni G, Rocchigiani AM, Maestrone C, Manunta D, et al.** 2018. Testicular Degeneration and Infertility following Arbovirus Infection. *J Virol* 12;92(19):e01131-18. doi: 10.1128/JVI.01131-18
82. **Purse BV, Nedelchev N, Georgiev G, Veleva E, Boorman J, Denison E, Veronesi E, et al.** 2006. Spatial and temporal distribution of bluetongue and its *Culicoides*

- vectors in Bulgaria. *Med Vet Entomol* 20: 335–344. doi: 10.1111 / j.1365-2915.2006.00636.x
83. **Purse BV, Carpenter S, Venter GJ, Bellis G, Mullens BA.** 2015. Bionomics of temperate and tropical *Culicoides* midges: knowledge gaps and consequences for transmission of *Culicoides*-borne viruses. *Annu Rev Entomol* 60: 373-392. doi: 10.1146/annurev-ento-010814-020614
 84. **Pulgar V.** 2014 Las ocho regiones naturales del Perú. *Terra brasilis* 3. doi: 10.4000/terrabrasilis.1027
 85. **Ranjan K, Prasad M, Brar B, Lambe U, Kumar R, Ghosh M, Prasad G.** 2019. Bluetongue virus vaccine: conventional to modern approach. *Acta Virol.* 63:3-18. doi: 10.4149/av_2019_109
 86. **Rao PP, Hegde NR, Reddy YN, Krishnaijyothi Y, Reddy YV, Susmitha B, Gollapalli SR, et al.** 2014. Epidemiology of Bluetongue in India *Transbound Emerg Dis.* 63: e151–64. doi: 10.1111/tbed.12258
 87. **Rivera H, Madewell BR, Ameghino E.** 1987. Serological survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama vicugna*). *Am J Vet Res* 48: 189-191. doi: 10.1046/j.1439-0450.1999.00215.x
 88. **Rivera H, Cárdenas L, Ramírez M, Manchego A, More J, Zúñiga A, Romer M.** 2013. Infección por orbivirus en huanganas (*Tayassu pecari*) de Madre de Dios. *Rev Inv Vet Perú* 24: 544-550. doi: 10.15381/rivep.v24i4.2738
 89. **Rodríguez-Martín D, Louloudes-Lázaro A, Avia M, Martín V, Rojas JM, Sevilla N.** 2021. The Interplay between Bluetongue Virus Infections and Adaptive Immunity. *Viruses:* 31:1511. doi: 10.3390/v13081511.
 90. **Rojas JM, Rodríguez-Martín D, Martín V, Sevilla N.** 2019. Diagnosing bluetongue virus in domestic ruminants: current perspectives. *Vet Med (Auckl)* 10:17-27. doi: 10.2147/VMRR.S163804
 91. **Rosadio R, Evermann J, De Martini J.** 1984. A preliminary serological survey of viral antibodies in peruvian sheep. *Vet Microbiol* 10: 91-96. doi: 10.1016/0378-1135(84)90059-2
 92. **Roy P.** 2020. Bluetongue virus assembly and exit pathways. *Adv Virus Res:* 108:249-273. doi: 10.1016/bs.aivir.2020.08.002
 93. **Rushton J, Lyons N.** 2015. Economic impact of bluetongue: a review of the effects on production. *Vet Ital.* 51:401–406. doi: 10.12834/VetIt.646.3183.1

94. **Sailleau C, Bréard E, Viarouge C, Vitour D, Romey A, Garnier A, Fablet A, et al.** 2017. Re-Emergence of Bluetongue Virus Serotype 8 in France, 2015. *Transbound Emerg Dis* :998-1000. doi: 10.1111/tbed.12453
95. **Sailleau C, Breard E, Viarouge C, Gorlier A, Leroux A, Hirchaud E, Lucas P.** 2018. Emergence of bluetongue virus serotype 4 in mainland France in November 2017. *Transbound Emerg Dis*. 65: 1158-1162. doi: 10.1111 / tbed.12919
96. **Saminathan M, Singh KP, Khorajiya JH, Dinesh M, Vineetha S, Maity M, Rahman A et al.** 2020. An updated review on bluetongue virus: epidemiology, pathobiology, and advances in diagnosis and control with special reference to India. *Vet Q*: 40:258-321. doi: 10.1080/01652176.2020.1831708
97. **Samy AM, Peterson AT.** 2016. Climate Change Influences on the Global Potential Distribution of Bluetongue Virus. *PLoS One* 11:e0150489. doi: 10.1371/journal.pone.0150489
98. **Savini G, Lorusso A, Paladini C, Migliaccio P, Di Gennaro A, Di Provvido A, Scacchia et al.** 2014. Bluetongue serotype 2 and 9 modified live vaccine viruses as causative agents of abortion in livestock: a retrospective analysis in Italy. *Transbound Emerg Dis*. 61:69-74. doi: 10.1111/tbed.12004
99. **Schulz C, Breard E, Sailleau C, Jenckel M, Viarouge C, Vitour D, Palmarini M et al** 2016. Bluetongue virus serotype 27: detection and characterization of two novel variants in Corsica, France. *J Gen Virol*. 97:2073–2083. doi: 10.1099/jgv.0.000557
100. **Schwartz-Cornil I, Mertens PP, Contreras V, Hemati B, Pascale F, Bréard E, Mellor PS, et al.** 2008. Bluetongue virus: virology, pathogenesis and immunity. *Vet Res* 39:46. doi: 10.1051/vetres:2008023
101. **Segura JC, Honhold N.** 2000. Métodos de Muestreo para la Producción y la Salud Animal. Vol 4°. México: Univ. Auton. Yucatán. p 57-73.
102. **SENASA.** 2017. Lima. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. [Internet] [31 de enero 2017] Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/amazonas-acciones-de-prevencion-de-estomatitis-vesicular/>
103. **Sohail T, Yaqub T, Shafee M, Abbas T, Nazir J, Ullah N, Rabbani M, et al.** 2017. Seroprevalence of Bluetongue Virus in small ruminants in Balochistan province, Pakistan. *Transbound Emerg Dis* 65: 1272-1281. doi: 10.1111/tbed.12871
104. **Spreull J.** 1905. Malarial Catarrhal Fever (Bluetongue) of Sheep in South Africa. *J.Comp. Patol. Therapeut* 18: 321-337. doi: [10.1016/S0368-1742\(05\)80073-6](https://doi.org/10.1016/S0368-1742(05)80073-6)

105. **Subhadra S, Sreenivasulu D, Pattnaik R, Panda BK, Kumar S.** 2023. Bluetongue virus: Past, present, and future scope. *J Infect Dev Ctries* 17:147–156. doi: 10.3855/jidc.16947
106. **[OIE] Organizacion Mundial de Sanidad Animal.** 2018. Infección por el Virus de la Lengua Azul. [Internet]. [mayo, 2020]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_bluetongue.pdf
107. **Theiler A.** 1906. Bluetongue in sheep. *Ann Rep* 5:110-121.
108. **Ulisse S, Iorio M, Armillotta G, Laguardia C, Testa L, Capista S, Centorame P.** 2021. Production and Easy One-Step Purification of Bluetongue Recombinant VP7 from Infected Sf9 Supernatant for an Immunoenzymatic Assay (ELISA). *Mol Biotechnol*: 63:40-52. doi: 10.1007/s12033-020-00282-8
109. **Van den Bergh C, Coetzee P, Venter EH.** 2018. Reassortment of bluetongue virus vaccine serotypes in cattle. *J S Afr Vet Assoc*: 89:e1-e7. doi: 10.4102/jsava.v89i0.1649
110. **Vandenbussche F, Vanbinst T, Verheyden B, Van Wesley, Demeestere L, Houdart P, Bertels G.** 2007. 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. *Vet Microbiol* 25:129:15-27. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.10.029
111. **Verdezoto J, Breard E, Viarouge C, Quenault H, Lucas P, Sailleau C, Zientara et al.** 2018. Novel serotype of bluetongue virus in South America and first report of epizootic haemorrhagic disease virus in Ecuador. *Transbound Emerg Dis* 65: 244-247
112. **Venter EH, Gerdes T, Wright I, Terblanche J.** 2011. An investigation into the possibility of bluetongue virus transmission by transfer of infected ovine embryos. *Onderstepoort J Vet Res.* 78:17.
113. **Verwoerd DW.** 2012. History of Orbivirus research in South Africa. *J S Afr Vet Assoc* 83: 532. doi: 10.4102/jsava.v83i1.532
114. **Węglarczyk S.** 2018. Kernel density estimation and its application. *ITM Web of Conferences*, 23, 00037. <https://doi.org/10.1051/itmconf/20182300037>
115. **Welby S, Shaik G, Veldhuis A, Brouwer-Middelesch A, Peroz C, Santman-Berends IM, et al.** 2016. Effectiveness and Cost Efficiency of Different Surveillance Components for Proving Freedom and Early Detection of Disease: Bluetongue

- Serotype 8 in Cattle as Case Study for Belgium, France and the Netherlands. *Transbound Emerg Dis* 64: 1771-1778. doi: 10.1111/tbed.12564
116. **Wilson AJ, Mellor PS.** 2009. Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philos Trans R Soc B Biol* 364: 2669-2681. doi: 10.1098 / rstb.2009.0091
117. **Worwa G, Hilbe M, Ehrensperger F, Chaignat V, Hofmann MA, Griot C, Maclachlan NJ, Thuer B.** 2009. Experimental transplacental infection of sheep with bluetongue virus serotype 8. *Vet Rec.* 164:499–500. doi: 10.1136/vr.164.16.499
118. **Wu W, Celma CC, Kerviel A, Roy P.** 2019. Mapping the pH Sensors Critical for Host Cell Entry by a Complex Nonenveloped Virus. *J Virol*: 93:e01897-18. doi: 10.1128/JVI.01897-18
119. **Wu W, Roy P.** 2022. Sialic Acid Binding Sites in VP2 of Bluetongue Virus and Their Use during Virus Entry. *J Virol*: 96:e0167721. doi: 10.1128/JVI.01677-21
120. **Zientara S, Sánchez-Vizcaíno JM.** 2013. Control of bluetongue in Europe. *Microbiolog Vet* 16: 33-7. doi: 10.1016 / j.vetmic.2013.01.0

VII. ANEXOS:

Anexo 1. Relación de animales positivos y negativos detallado según provincia, distrito y departamento de la selva del Perú.

Departamento	Provincia	Distrito	predios	Positivo	Negativo
AMAZONAS	Condorcanqui	Nieva	5	3	7
	Utcubamba	Jamalca	4	0	8
		Bagua Grande	4	2	6
	Rodriguez de Mendoza	Longar	4	0	8
	Chachapoyas	Montevideo	4	0	8
		Levanto	4	0	8
	Luya	Santo Tomas	5	0	10
	Bongara	Yambrasbamba	5	0	10
Bagua	La Peca	4	3	5	
LORETO	Ucayali	Vargas Guerra	3	5	1
	Maynas	Iquitos	1	2	0
		Mazan	1	2	0
		San Juan Bautista	1	2	0
	Requena	Jenaro Herrera	1	2	0
	Mariscal Ramos Castilla	Ramon Castilla	3	3	3
	Datem del Marañon	Barranca	1	1	1
Putumayo	Putumayo	1	2	0	
SAN MARTIN	Moyobamba	Calzada	9	18	0
	Mariscal Caceres	Campanilla	4	8	0
	El Dorado	Agua Blanca	5	10	0
	Lamas	Alonso de Alvarado	4	8	0
		Cuñumbuqui	5	10	0
	Picota	Buenos Aires	4	8	0
	Rioja	Pardo Miguel	4	8	0
	Tocache	Uchiza	1	2	0
		Nuevo Progreso	2	4	0
	Huallaga	Alto Saposoa	5	10	0
Bellavista	Alto Biavo	9	13	5	
San Martin	Alberto Leveau	5	10	0	
UCAYALI	Coronel Portillo	Campoverde	3	6	0
		Nueva Requena	1	2	0

	Padre Abad	Padre Abad	3	6	0
		Curimana	2	4	0
	Atalaya	Raimondi	6	12	0
MADRE DE DIOS	Tambopata	Tambopata	5	10	0
		Las Piedras	1	2	0
	Manu	Manu	2	4	0
		Huepetuhe	1	2	0
	Tahuamanu	Iberia	2	4	0

Anexo 3. Relación de porcentajes de competición de bovinos analizados de la selva del Perú según departamento, provincia, distrito

DEPARTAMENTO	PROVINCIA	DISTRITO	LATITUD	LONGITUD	% competición	RESULTADO
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.613662	-77.69733	100	Negativo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.613662	-77.69733	100	Negativo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.892651	-78.02664	5	Positivo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.892651	-78.02664	93	Negativo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.67234	-77.82842	6	Positivo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.67234	-77.82842	4	Positivo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.76049	-76.821116	100	Negativo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.76049	-76.821116	100	Negativo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.926509	-77.82804	100	Negativo
Amazonas	Condorcanqui	Nieva	-4.926509	-77.82804	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-78.24651	-5.49286	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-78.24651	-5.49286	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-71.23601	-5.95697	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-71.23601	-5.95697	79	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.400242	-77.541752	100	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.400242	-77.541752	98	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.386285	-77.546182	100	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.386285	-77.546182	100	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.386258	-77.546154	100	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.386258	-77.546154	100	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.405053	-77.53203	100	Negativo
Amazonas	Rodriguez De Mendoza	Longar	-6.405053	-77.53203	100	Negativo

Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.81511	-6.60256	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.81511	-6.60256	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.79415	-6.62964	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.79415	-6.62964	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.78812	-6.626008	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.78812	-6.626008	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.79552	-6.62024	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Montevideo	-77.79552	-6.62024	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.87218	-6.284009	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.87218	-6.284009	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.8762	-6.2785	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.8762	-6.2785	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.8752	-6.2795	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.8752	-6.2795	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.88198	-6.27441	100	Negativo
Amazonas	Chachapoyas	Levanto	-77.88198	-6.27441	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-78.23212	-5.955552	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-78.23212	-5.955552	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-78.24364	-5.94914	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Jamalca	-78.24364	-5.94914	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.86479	-65.7696	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.86479	-65.7696	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.85884	-6.56609	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.85884	-6.56609	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.85884	-6.56609	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.85884	-6.56609	100	Negativo

Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.85805	-6.565618	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.85805	-6.565618	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.86733	-6.58448	100	Negativo
Amazonas	Luya	Santo Tomas	-77.86733	-6.58448	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90659	-5.78536	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90659	-5.78536	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.89973	-5.78475	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.89973	-5.78475	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90834	-5.719111	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90834	-5.719111	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90591	-5.70946	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90591	-5.70946	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90831	-5.78689	100	Negativo
Amazonas	Bongara	Yambrasbamba	-77.90831	-5.78689	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.52331	-5.87651	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.52331	-5.87651	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.47871	-5.9238	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.47871	-5.9238	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.09721	-6.01508	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.09721	-6.01508	100	Negativo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.51337	-5.88027	20	Positivo
Amazonas	Utcubamba	Bagua Grande	-78.51337	-5.88027	4	Positivo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.39837	-5.2027	4	Positivo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.39837	-5.2027	4	Positivo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.43182	-5.62886	100	Negativo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.43182	-5.62886	4	Positivo

Amazonas	Bagua	La Peca	-78.43322	-5.61889	100	Negativo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.43322	-5.61889	100	Negativo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.43315	-5.619125	100	Negativo
Amazonas	Bagua	La Peca	-78.43315	-5.619125	100	Negativo
Loreto	Ucayali	Vargas Guerra	-6.893882	-75.176103	3	Positivo
Loreto	Ucayali	Vargas Guerra	-6.893882	-75.176103	3	Positivo
Loreto	Ucayali	Vargas Guerra	-6.889504	-75.998436	4	Positivo
Loreto	Ucayali	Vargas Guerra	-6.889504	-75.998436	80	Negativo
Loreto	Ucayali	Vargas Guerra	-6.965733	-75.176528	28	Positivo
Loreto	Ucayali	Vargas Guerra	-6.965733	-75.176528	11	Positivo
Loreto	Maynas	Iquitos	-3.770592	-73.375759	3	Positivo
Loreto	Maynas	Iquitos	-3.770592	-73.375759	3	Positivo
Loreto	Requena	Jenaro Herrera	-4.917715	-73.646819	3	Positivo
Loreto	Requena	Jenaro Herrera	-4.917715	-73.646819	3	Positivo
Loreto	Maynas	Mazan	-3.510528	-73.117844	4	Positivo
Loreto	Maynas	Mazan	-3.510528	-73.117844	11	Positivo
Loreto	Maynas	San Juan Bautista	-3.810253	-73.346696	3	Positivo
Loreto	Maynas	San Juan Bautista	-3.810253	-73.346696	3	Positivo
Loreto	Mariscal Ramon Castilla	Ramon Castilla	-3.553767	-70.29226	8	Positivo
Loreto	Mariscal Ramon Castilla	Ramon Castilla	-3.553767	-70.29226	71	Negativo
Loreto	Mariscal Ramon Castilla	Ramon Castilla	-3.5602	-70.2821	15	Positivo
Loreto	Mariscal Ramon Castilla	Ramon Castilla	-3.5602	-70.2821	67	Negativo
Loreto	Mariscal Ramon Castilla	Ramon Castilla	-3.5524	-70.2936	47	Negativo
Loreto	Mariscal Ramon Castilla	Ramon Castilla	-3.5524	-70.2936	3	Positivo
Loreto	Datem Del Maraon	Barranca	-4.803085	-76.543942	60	Negativo
Loreto	Datem Del Maraon	Barranca	-4.803085	-76.543942	15	Positivo

Loreto	Putumayo	Putumayo	-2.460614	-72.661216	3	Positivo
Loreto	Putumayo	Putumayo	-2.460614	-72.661216	3	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.7033	-69.437885	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.7033	-69.437885	2	Positivo
Madre De Dios	Manu	Huepetuhe	-12.99424	-70.52716	2	Positivo
Madre De Dios	Manu	Huepetuhe	-12.99424	-70.52716	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.72818	-69.346609	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.72818	-69.346609	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.5905	-69.251692	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.5905	-69.251692	2	Positivo
Madre De Dios	Tahuamanu	Iberia	-11.37018	-69.47776	2	Positivo
Madre De Dios	Tahuamanu	Iberia	-11.37018	-69.47776	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.67888	-69.14743	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.67888	-69.14743	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.69554	-69.11043	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Tambopata	-12.69554	-69.11043	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Las Piedras	-12.96649	-69.14053	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Las Piedras	-12.96649	-69.14053	2	Positivo
Madre De Dios	Tahuamanu	Iberia	-11.35254	-69.47634	2	Positivo
Madre De Dios	Tahuamanu	Iberia	-11.35254	-69.47634	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Laberinto	-12.74641	-69.46475	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Laberinto	-12.74641	-69.46475	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Las Piedras	-12.48466	-69.24992	2	Positivo
Madre De Dios	Tambopata	Las Piedras	-12.48466	-69.24992	2	Positivo
Madre De Dios	Manu	Manu	-12.86153	-71.360647	2	Positivo
Madre De Dios	Manu	Manu	-12.86153	-71.360647	2	Positivo

Madre De Dios	Manu	Manu	-12.89016	-71.360487	2	Positivo
Madre De Dios	Manu	Manu	-12.89016	-71.360487	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.016421	-77.06547	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.016421	-77.06547	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.003912	-77.06759	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.003912	-77.06759	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.004355	-77.267678	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.004355	-77.267678	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.022958	-77.064468	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.022958	-77.064468	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.00864	-77.065576	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.00864	-77.065576	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.044791	-77.085297	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.044791	-77.085297	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.054409	-77.09032	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.054409	-77.09032	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.035661	-77.088954	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.035661	-77.088954	2	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.48274	-76.668508	3	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.48274	-76.668508	3	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.486202	-76.65306	2	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.486202	-76.65306	2	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.04645	-77.101109	3	Positivo
San Martin	Moyobamba	Calzada	-6.04645	-77.101109	3	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.501759	-76.66626	3	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.501759	-76.66626	3	Positivo

San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.470453	-76.653211	2	Positivo
San Martin	Mariscal Caceres	Campanilla	-7.470453	-76.653211	3	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.702174	-76.709008	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.702174	-76.709008	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.697907	-76.718332	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.697907	-76.718332	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.697929	-76.727652	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.697929	-76.727652	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.699466	-76.733197	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.699466	-76.733197	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.699466	-76.733197	2	Positivo
San Martin	El Dorado	Agua Blanca	-6.699466	-76.733197	3	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.25814	-76.779774	2	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.25814	-76.779774	2	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.285838	-76.758294	3	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.285838	-76.758294	3	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.241351	-76.809253	2	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.241351	-76.809253	2	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.266408	-76.77873	2	Positivo
San Martin	Lamas	Alonso De Alvarado	-6.266408	-76.77873	2	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.737681	-76.35677	2	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.737681	-76.35677	3	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.743376	-76.34678	2	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.743376	-76.34678	2	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.727647	-76.407669	3	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.727647	-76.407669	3	Positivo

San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.733885	-76.421559	3	Positivo
San Martin	Picota	Buenos Aires	-6.733885	-76.421559	3	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.767668	-77.483592	3	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.767668	-77.483592	4	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.770374	-77.482126	4	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.770374	-77.482126	2	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.790595	-77.473141	2	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.790595	-77.473141	2	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.781099	-77.481591	2	Positivo
San Martin	Rioja	Pardo Miguel	-5.781099	-77.481591	4	Positivo
San Martin	Tocache	Uchiza	-8.477016	-76.467396	3	Positivo
San Martin	Tocache	Uchiza	-8.477016	-76.467396	4	Positivo
San Martin	Tocache	Nuevo Progreso	-8.40158	-76.416338	2	Positivo
San Martin	Tocache	Nuevo Progreso	-8.40158	-76.416338	3	Positivo
San Martin	Tocache	Nuevo Progreso	-8.305323	-76.345429	4	Positivo
San Martin	Tocache	Nuevo Progreso	-8.305323	-76.345429	2	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.914805	-76.792115	2	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.914805	-76.792115	2	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.871757	-76.809589	4	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.871757	-76.809589	3	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.861842	-76.794964	4	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.861842	-76.794964	4	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.854146	-76.80115	2	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.854146	-76.80115	2	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.840046	-76.788475	2	Positivo
San Martin	Huallaga	Alto Saposoa	-6.840046	-76.788475	2	Positivo

San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.241638	-76.496492	7	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.241638	-76.496492	3	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.267193	-76.481795	3	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.267193	-76.481795	77	Negativo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.27226	-76.447528	15	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.27226	-76.447528	4	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.279674	-76.442273	3	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.279674	-76.442273	95	Negativo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.28084	-76.434614	33	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.28084	-76.434614	7	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.281437	-76.432787	100	Negativo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.281437	-76.432787	17	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.286218	-76.421589	3	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.286218	-76.421589	7	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.290315	-76.463723	3	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.290315	-76.463723	3	Positivo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.284055	-76.434597	85	Negativo
San Martin	Bellavista	Alto Biavo	-7.284055	-76.434597	46	Negativo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6	-76.27238	29	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6	-76.27238	3	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.655174	-76.286792	4	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.655174	-76.286792	3	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.676116	-76.282364	3	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.676116	-76.282364	3	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.648821	-76.286445	3	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.648821	-76.286445	3	Positivo

San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.644654	-76.289338	3	Positivo
San Martin	San Martin	Alberto Leveau	-6.644654	-76.289338	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.579156	-76.457865	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.579156	-76.457865	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.600392	-76.494989	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.600392	-76.494989	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.562686	-76.479975	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.562686	-76.479975	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.569731	-76.478806	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.569731	-76.478806	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.565133	-76.47331	3	Positivo
San Martin	Lamas	Cuñumbuqui	-6.565133	-76.47331	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Campoverde	-8.283011	-74.775666	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Campoverde	-8.283011	-74.775666	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Campoverde	-8.329452	-74.770404	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Campoverde	-8.329452	-74.770404	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Padre Abad	-9.076141	-75.454015	8	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Padre Abad	-9.076141	-75.454015	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Padre Abad	-8.91492	-75.361833	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Padre Abad	-8.91492	-75.361833	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Padre Abad	-8.992471	-75.437089	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Padre Abad	-8.992471	-75.437089	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Nueva Requena	-8.227088	-74.770279	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Nueva Requena	-8.227088	-74.770279	4	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Curimana	-8.497556	-75.12955	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Curimana	-8.497556	-75.12955	3	Positivo

Ucayali	Padre Abad	Curimana	-8.448211	-75.069954	3	Positivo
Ucayali	Padre Abad	Curimana	-8.448211	-75.069954	4	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Campoverde	-8.458544	-74.850473	3	Positivo
Ucayali	Coronel Portillo	Campoverde	-8.458544	-74.850473	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.75032	-74.247027	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.75032	-74.247027	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.79045	-74.237115	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.79045	-74.237115	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.80353	-74.231396	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.80353	-74.231396	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.70575	-73.805574	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.70575	-73.805574	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.6962	-73.810639	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.6962	-73.810639	4	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.70093	-73.797532	3	Positivo
Ucayali	Atalaya	Raymondi	-10.70093	-73.797532	3	Positivo