



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Facultad de Medicina Veterinaria

Unidad de Posgrado

**Caracterización molecular de Corona virus (CoV)  
detectados en crías de alpacas (Vicugna pacos)**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias  
Veterinarias mención en Salud Animal

**AUTOR**

Luis Ramiro LUNA ESPINOZA

**ASESOR**

Abelardo Lenin MATURRANO HERNÁNDEZ

Lima, Perú

2012

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue detectar y caracterizar molecularmente a Coronavirus a partir de muestras de heces diarreicas y tejido pulmonar con lesiones neumónicas en crías de alpacas de 1-6 semanas de edad procedentes de un centro de crianza ubicado en el departamento de Puno. Se detectó el virus mediante la prueba de RT-PCR anidada, usando cebadores externos específicos a los 3 géneros de Coronavirus (alfa, beta y gammacoronavirus) y cebadores internos específicos sólo para betacoronavirus. Se detectaron secuencias del género betacoronavirus en el 67% (10/15) de muestras diarreicas y en el 50% (8/16) de muestras de tejido pulmonar. Para la realización del análisis molecular de las secuencias virales detectadas, se procedió a amplificar mediante PCR fragmentos del gen codificante de la espícula (S), usando para ello 8 pares de cebadores derivados de secuencias consenso en Coronavirus bovino (BCoV). Se observó amplificación de fragmentos del gen S sólo en 3 muestras procedentes de heces diarreicas, de estas, 2 amplificaron para todos los cebadores y 1 amplificó para un par de cebadores que se alineaban a nivel del dominio S2 del gen S. No se logró obtener ningún fragmento en las muestras restantes (7 de heces y 8 de tejido pulmonar). Las secuencias del fragmento común obtenidos en estas 3 muestras fueron similares, y el análisis filogenético reveló una mayor identidad genética (99.7%) principalmente hacia cepas BCoV diarreicas aisladas en Estados Unidos respecto al aislado norteamericano de CoV de alpaca (98.3%). El presente trabajo constituye la primera evidencia de betacoronavirus presente en casos de neumonía en crías de alpacas y la cercana identidad genética de cepas de CoV de alpacas peruanas con cepas norteamericanas

**Palabras clave:** Alpacas, betacoronavirus neumonía, diarrea, análisis filogenético.

## ABSTRACT

The aim of this study was to detect and characterize molecularly Coronavirus from diarrheal stool and lung tissue with pneumonic lesions samples in alpacas crias from 1-6 weeks of age from a breeding center located in the department of Puno. Virus was detected by RT-Nested PCR test, using external primers specific for the three genres of Coronavirus (alpha, beta and gammacoronavirus) and specific internal primers betacoronavirus only. Sequences of this genus were detected in 67% (10/15) of diarrhea and 50% (8 / 16) of lung tissue samples. For the realization of the molecular analysis of viral sequences detected, we proceeded to amplify by PCR fragments of the gene encoding the spike (S), using 8 primer pairs derived from consensus sequences in bovine coronavirus (BCoV). Fragments amplification of the S gene was observed in three samples from diarrheal stools, of these, two amplified for all primers and one amplified for a single pair of primers that aligned at the S2 domain of the gene S. It was not possible to obtain any fragment in the remaining samples (7 of stool and 8 lung tissue). The common fragment sequences obtained in these 3 samples were similar, and phylogenetic analysis revealed a higher genetic identity (99.7%) mainly to diarrhea BCoV strains isolated in the United States on respect to the isolated North American alpaca's CoV (98.3%). This work constitutes the first evidence of pneumonia associated betacoronavirus in alpacas crias and the close genetic identity of CoV of Peruvian alpaca with North American strains

**Keywords:** Alpacas, betacoronavirus, pneumonia, diarrhea, phylogenetic analysis.