

RESUMEN

La estomatitis vesicular (EV) es una enfermedad causada por el virus de estomatitis vesicular (VEV) que se caracteriza por la presencia de vesículas y úlceras en la lengua, tejidos orales y patas; síntomas indistinguibles de la fiebre aftosa en bovinos, por lo que es importante obtener un diagnóstico rápido y concluyente. En este proyecto se busca obtener un método diagnóstico de estomatitis vesicular bovina e inferir la filogenia del agente causal a partir de muestras colectadas en las regiones Costa y Oriente del Ecuador. En este estudio se realizó la extracción de ARN de muestras de epitelio bovino, se realizó la retro transcripción y la PCR de punto final con cebadores para la fosfoproteína P de VEV; el análisis filogenético se realizó en base a secuencias obtenidas a partir de productos de PCR purificados de muestras de VEVI-1 y VEVNJ. Se logró la estandarización óptima de VEVNJ; la presencia del virus se determinó por la amplificación de un fragmento de 642 pb, observándose un límite de detección de 1 fg/ μ l de producto de PCR purificado. No se logró una estandarización óptima de VEVI-1 pues se observó la presencia de productos inespecíficos, sin embargo, el fragmento de interés de 650 pb sí corresponde al VEVI-1 y por lo tanto se usó para el análisis filogenético. No se logró la estandarización óptima para la detección de VEVI-2 y VEVI-3 en muestras de epitelio bovino. El análisis filogenético mostró que las secuencias obtenidas en este proyecto se agrupan únicamente en VEVI-1 o VEVNJ.

Palabras clave: RT-PCR, virus de estomatitis vesicular, árbol filogenético, Ecuador.

ABSTRACT

Vesicular stomatitis (VS) is a disease caused by vesicular stomatitis virus (VSV) which is characterized by the presence of vesicles and ulcers; Symptoms indistinguishable from foot-and-mouth disease in cattle, so it is important to obtain a rapid and conclusive diagnosis to contain outbreaks of vesicular stomatitis. Therefore, this project seeks to obtain a diagnostic method for bovine vesicular stomatitis and to infer the phylogeny of the causal agent from samples collected in the Coast and East regions of Ecuador to monitor the movement of viral genetic lineages in endemic areas to obtain data on possible outbreaks of EV in the future. In this study, RNA extraction was performed from bovine epithelial field samples, retro transcription and end-point PCR were performed with primers for the P-phosphoprotein of VSV. The phylogenetic analysis was performed based on sequences obtained from purified PCR products of samples diagnosed with VSVI-1 and VSVNJ. The optimal standardization of VSVNJ was achieved, where the presence of the virus was determined by the amplification of a 642 bp fragment, with a detection limit of 1 fg/ μ l of purified PCR product. An optimal standardization of VSVI-1 wasn't achieved, however, the fragment of interest of 650 bp correspond to VSVI-1 and therefore was used for phylogenetic analysis. Optimum standardization for the detection of VSVI-2 and VSVI-3 in bovine epithelial samples was not achieved, since the primers used in this assay prove to be non-specific. Phylogenetic analysis showed that the sequences obtained in this project are grouped only in VSVI-1 or VSVNJ.

Key words: RT-PCR, vesicular stomatitis virus, phylogenetic tree, Ecuador.