

DIARREAS NEONATALES POR ROTAVIRUS EQUINO: OPTIMIZACIÓN DE LA VACUNA Y DESARROLLO DE UN SUPLEMENTO DIETARIO A BASE DE ANTICUERPOS IGY

EQUINE ROTAVIRUS DIARRHEA'S IN NEONATES: OPTIMIZATION OF THE ACTUAL VACCINE AND DEVELOPMENT OF A FOOD SUPPLEMENT BASED ON IGY

Investigadores USAL:

Vissani, María Aldana (aldana.vissani@usal.edu.ar); Barrandeguy, María Edith; Carossino, Mariano; Zabal, Osvaldo Alfredo

Investigadores Externos:

Olguin Perglione, Cecilia¹; Parreño, Viviana¹

¹INTA Castelar

Palabras clave: Rotavirus equino; Diarrea; Profilaxis; Potrillos; G-tipos.

Keywords: *Equine rotavirus; Diarrhea; Prophylaxis; Foals; G-types.*

Resumen

La infección con rotavirus equino tipo A (ERVA) es la principal causa de diarrea en potrillos menores a 4 meses de edad. Las cepas de ERVA se clasifican en G- y P-tipos, sobre la base de las proteínas externas de la cápside viral, VP7 y VP4, respectivamente, siendo G3P[12] y G14P[12] las cepas predominantes en el mundo. A partir de 1992, el genotipo detectado en Argentina fue G3P[12]. Luego, en 2000, se detectó por primera vez el genotipo G14P[12], cuya incidencia fue aumentando, sobre todo en los años 2006-2007; entre 2008 y 2014, la detección de ambos genotipos se presentó de forma alternada cíclica.

Actualmente, un componente importante en la prevención es la vacunación de las yeguas gestantes con una vacuna que contiene, entre otros, ERVA G3P[12], pero no contiene la cepa G14P[12]. Por otra parte, el tratamiento de las diarreas es sintomático. El objetivo del proyecto es optimizar las estrategias de prevención y control de las diarreas neonatales producidas por ERVA en potrillos, mediante la actualización de la vacuna, incluyendo la cepa G14P[12]; así como también mediante el desarrollo de una herramienta de inmunidad pasiva basada en la tecnología IgY, que pueda ser administrada por vía oral a los potrillos neonatos como preventivo o terapéutico.

A partir de 3 cepas de ERVA (ARG/E8701-5/16/MCCH RVA/2-5/16; ARG/E8701-6/16/MCCH RVA/2-6/16; ARG/E8701-9/16/MCCH RVA/2-9/16) previamente aisladas de un brote de diarrea ocurrido en potrillos en un establecimiento de cría de equinos Sangre Pura de Carrera de la provincia de Buenos Aires en 2016, y caracterizadas como variante G14P[12] (Carossino *et al.*, 2018), se realizaron múltiples infecciones en células MA104 con la finalidad de amplificar el virus, para ser incluido en la vacuna. La producción para lograr la masa antigénica necesaria para generar las vacunas con

el fin de inmunizar yeguas y gallinas no pudo ser alcanzada. Entonces, se buscaron otras alternativas de cultivos celulares permisibles para la multiplicación de rotavirus bovino, como células CACO2 y HRT18, con resultados igualmente desalentadores.

Paralelamente y con la finalidad de disponer de datos actualizados de la prevalencia de ERVA, se realizó el diagnóstico y caracterización de los G-tipos en muestras de material fecal de potrillos con diarrea remitidas al laboratorio en el período 2016-2020. Se analizaron 179 muestras de material fecal, correspondientes a 42 brotes de diarrea en potrillos, mediante las técnicas de ELISA e inmunocromatografía de flujo lateral, y, posteriormente, aquellas que resultaron positivas a ERVA fueron caracterizadas en G-tipos por PCR en tiempo real (Carossino *et al.*, 2018). Se detectó ERVA en el 23 % (41/179) de las muestras analizadas correspondientes al 33 % (14/42) de los brotes de diarrea. En el 76 % (31/41), el ERVA detectado fue G14 y en el 24 % (10/41), G3. Analizando las frecuencias anuales obtenidas, se detectó mayor incidencia de G14 (>50 %) entre los años 2016-2019, mientras que G3 fue el genotipo predominante en 2020 (80 %). Los resultados obtenidos permiten concluir que la tasa de detección de ERVA (23 %) fue similar a la descripta en años anteriores con una alternancia en la predominancia de los genotipos circulantes, también observada en períodos previos. En virtud de que el problema (diarreas en potrillos) aún persiste y que la estrategia de optimización de la vacuna fue infructuosa, se intentará, en un próximo proyecto de investigación, obtener una vacuna mediante herramientas biotecnológicas.

Abstract

Equine rotavirus A (ERVA) is the major cause of diarrhea in foals under four months of age. Based on the VP7 and VP4 proteins, ERVA strains are classified into G- and P- genotypes respectively, being G3P[12] and G14P[12] the most predominant worldwide. While G3P[12] has been the predominant genotype in Argentina since 1992, the incidence of G14P[12] has steadily increased following its first detection in 2000, particularly during 2006 and 2007. In the period 2008-2014, both genotypes circulated in our territory with a cyclical pattern.

Prevention consists mainly of the vaccination of pregnant mares with an inactivated vaccine containing the equine genotype G3P[12], among others, but without G14P[12]. On the other hand, the treatment of ERVA diarrhea is only supportive. The aim of this project is to optimize prevention and control strategies of ERVA diarrheas in foals by the optimization of the current vaccine, including the strain G14P[12], as well as by the development of a passive immune strategy based on IgY technology, to be administered orally to neonatal foals as preventive or therapeutic.

*Three ERVA strains (ARG/E8701-5/16/MCCH RVA/2-5/16; ARG/E8701-6/16/MCCH RVA/2-6/16; ARG/E8701-9/16/MCCH RVA/2-9/16) previously isolated from an outbreak of diarrhea in Thoroughbred foals in Buenos Aires province during 2016, and later characterized as G14P[12] strain (Carossino *et al.*, 2018) were used to infect monolayers of MA104 cells to propagate the virus. However, the viral production required to provide sufficient antigenic mass could not be reached. Other alternatives of propagation in CACO2 and HRT18 were sought, both susceptible to bovine rotavirus infection, with equally disappointing results.*

*In parallel, diagnosis and characterization of ERVA strains were performed in order to have an updated prevalence of ERVA, on foals' diarrhea samples submitted to the laboratory during 2016-2020. A total of 179 fecal samples corresponding to 42 foal diarrhea outbreaks were analyzed by ELISA and lateral flow immunochromatography, and ERVA-positive samples were characterized by a G3/G14 multiplex genotyping qPCR (Carossino *et al.*, 2018). Equine RVA was detected in 23% (41/179) of the samples and in 33% (14/42) of the reported outbreaks of diarrhea. Overall, 76% (31/41) of ERVA strains were classified as G14 while 24% (10/41) were classified as G3 genotype.*

Based on annual frequencies, a higher incidence (>50% of ERVA strains) of G14 was noted during 2016-2019, with a predominance of G3 strains in 2020 (80% of ERVA strains). By the obtained results, we conclude that the detection rate of ERVA presented during this 4-year study period is similar to the one presented in previous reports. Given that the problem (diarrhea in foals) persists and that the optimization strategy of the vaccine has been unsuccessful, an attempt will be made, in a future research project, to obtain a vaccine using biotechnological tools.