

## ASSOCIAZIONE FRA VACCINI VIVI ATTENUATI NELLA PROFILASSI DELLA MALATTIA DI NEWCASTLE E DELL'INFEZIONE DA *METAPNEUMOVIRUS* AVIARE NEL POLLO

Ganapathy K.<sup>1</sup>, Catelli E.<sup>2</sup>, Benedetti V.<sup>2\*</sup>, Lupini C.<sup>2</sup>, Ricchizzi E.<sup>2</sup>, Lemiere S.<sup>3</sup>, Montiel E.<sup>4</sup>, Jones R.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *University of Liverpool, Department of Veterinary Pathology, Leahurst, CH64 7TE, Neston, United Kingdom.*

<sup>2</sup> *Università Bologna Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale. Facoltà di Medicina Veterinaria, 40064 Ozzano Emilia (BO), Italy*

<sup>3</sup> *Meril SAS, 13b Avenue Albert Einstein, 69100 Villeurbanne, France*

<sup>4</sup> *Meril Select, Inc. P.O. Drawer 2497, Gainesville GA 30503, USA*

*\*Corresponding author: Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale. Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Bologna. Via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano dell'Emilia (BO), Italia – Tel. +39 051 2097074 E-mail: valebene82@libero.it*

### Introduzione

La Malattia di Newcastle (ND), sostenuta dai ceppi patogeni di *Paramyxovirus 1*, è ritenuta una delle più temibili forme infettive dei volatili per la sua gravità e trasmissibilità; in specie quali il pollo può causare mortalità fino al 100%. Assieme alle norme di profilassi diretta, la vaccinazione è punto cardine del controllo della malattia.

L'infezione da *Metapneumovirus* aviare (AMPV) causa la Rinotracheite infettiva del tacchino ed è fra le cause, assieme ad *Escherichia coli*, della Sindrome della testa gonfia nel pollo. Anche per la profilassi di quest'infezione, ampiamente diffusa nel nostro Paese, la vaccinazione è strumento imprescindibile che, anche nel pollo, sta assumendo grande rilevanza.

Poiché, per entrambi i virus, la vaccinazione viene consigliata nelle prime settimane di vita mediante vaccino vivo, di particolare interesse pratico risulterebbe poter associare questi interventi. In tale evenienza risultano necessarie informazioni sulla compatibilità fra i virus vaccinali. Infatti, quando si associano vaccini vivi diversi è fondamentale assicurarsi che non vi siano interferenze negative fra essi, tali da compromettere l'efficacia delle vaccinazioni o addirittura causare effetti patologici indesiderati.

L'obiettivo del presente lavoro è stato appunto quello di valutare l'interferenza fra ceppi vaccinali di NDV e AMPV somministrati in polli *Specific Pathogen Free* (SPF) singolarmente o in associazione. La ricerca è stata svolta mediante prove sperimentali condotte in condizioni di isolamento biologico e sono stati usati come indicatori la persistenza dei virus vaccinali nell'ospite, la risposta immunitaria e la protezione dalla forma clinica e dalla replicazione virale dopo infezione di prova.

### Materiale e Metodi

Nella prova sono stati utilizzati vaccini vivi costituiti dai seguenti ceppi:

- per NDV: ceppo VG/GA e ceppo La Sota;
- per AMPV: ceppo PL21 sottotipo B.

Nella Tabella 1 è riportato il programma vaccinale a cui sono stati sottoposti i gruppi sperimentali.

Prima della somministrazione i vaccini sono stati accuratamente dissolti in acqua sterile. Per le vaccinazioni in associazione, dopo dissoluzione, i ceppi vaccinali venivano mescolati insieme, sempre in acqua sterile. A ciascun soggetto è stato somministrato un volume di 100 µl suddiviso in 2 parti uguali: 50 µl per via oculare e 50 µl per via orale, contenente virus vaccinale alle dosi per soggetto consigliata dalla casa produttrice.

Per valutare l'interferenza e l'innocuità dell'associazione fra i vaccini, gli animali sono stati monitorati, dopo gli interventi vaccinali, per eventuale comparsa di sintomatologia clinica ed i virus vaccinali sono stati re-isolati (NDV e AMPV) o evidenziati mediante RT nested-PCR (AMPV), da tamponi oro-faringei, a tempi stabiliti (0, 2, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 giorni di vita). L'isolamento di NDV è stato eseguito su uova embrionate di pollo SPF (Senne, 1998), mentre AMPV è stato isolato su colture di anelli tracheali di embrione di pollo (TOC) (Cook *et al.*, 1976). La RT nested-PCR per AMPV è stata eseguita secondo Cavanagh *et al.* (1999). Gli esami sierologici, eseguiti a 14, 21, 28, 35, 42 e 49 giorni di vita, sono stati effettuati mediante tecnica ELISA, per AMPV, e Inibizione dell'emoagglutinazione (HI), per la ricerca degli anticorpi anti-NDV.

A 42 giorni di vita, sei animali per gruppo sono stati movimentati e sottoposti ad infezione di prova con NDV (ceppo APMV-1/chicken/Italy/3015/00; ICPI 1,8) o AMPV sottotipo B. Dal 1° giorno post-infezione (p.i.) fino al termine della prova (50° giorno di vita), gli animali sono stati monitorati quotidianamente per comparsa di sintomi clinici riferibili ad AMPV o NDV. Ai giorni 5 e 8 p.i., da tutti i soggetti sottoposti ad infezione sperimentale con AMPV, sono stati raccolti tamponi oro-faringei per RT nested-PCR ed isolamento virale su TOC.

Le medie dei titoli anticorpali sono state paragonate utilizzando il test t di Student.

## **Risultati e Discussione**

Nessun sintomo clinico è stato osservato negli animali sia in seguito alla prima vaccinazione che alla seconda, confermando la sicurezza dei vaccini testati anche se somministrati in associazione.

Il vaccino per ND, ceppo VG/GA, è stato eliminato dagli animali sino al 7° giorno post-vaccinazione, mai è stato eliminato il ceppo La Sota, anche quando somministrato in associazione col ceppo PL21.

Il ceppo PL21, per contro, è stato eliminato per un periodo più lungo (sino al 21° giorno post-vaccinazione) nel gruppo con vaccinazione simultanea con NDV, rispetto al gruppo vaccinato solo per AMPV. Questi risultati confermano quanto già riportato da Ganaphaty *et al.* (2005).

La risposta anticorpale nei riguardi del ceppo vaccinale PL21 per AMPV, sia dopo somministrazione singola sia in associazione con La sota, mostra un andamento simile e crescente con l'aumentare dell'età, che, nonostante un iniziale significativo ritardo nel gruppo 5, raggiunge titoli identici a 28 giorni post vaccinazione nei due gruppi. L'iniziale depressione immunitaria è probabilmente dovuta all'incapacità di AMPV di competere con NDV vaccinale, come già riportato anche da Ganaphaty *et al.* (2005).

Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata fra i titoli di anticorpi anti-NDV ottenuti sia dopo vaccinazione con VG/GA, che in seguito a richiamo

con La Sota, da solo o in associazione con PL21. In particolare, in seguito alla doppia vaccinazione non si è registrato alcun movimento nei livelli anticorpali, confermando i dati riportati da Ganapathy *et al.* (2006).

In seguito all'infezione di prova con AMPV, nessuna sintomatologia clinica specifica è stata osservata nei gruppi vaccinati (in singolo o in associazione con NDV), ed in nessuna occasione è stato re-isolato il virus. Un soggetto del gruppo vaccinato con solo PL21 è risultato tuttavia positivo alla RT nested-PCR per AMPV al 5° giorno p.i. Al contrario i soggetti di controllo non vaccinati hanno mostrato la sintomatologia attesa.

Stessa protezione completa si è osservata a seguito dell'infezione di prova con NDV in tutti i gruppi vaccinati (in singolo o in associazione con AMPV). Al contrario i soggetti non vaccinati hanno mostrato grave sintomatologia tipica dell'infezione da ND che ha avuto come esito il 100% di mortalità.

### **Conclusioni**

L'esito della sperimentazione condotta permette di concludere che tutti i piani vaccinali testati per la profilassi della Malattia di Newcastle o dell'infezione da AMPV, sia con vaccinazione singola che in associazione, conferiscono un'eccellente protezione al challenge omologo. Resta da stabilire la durata di tale protezione.

La dimostrazione dell'efficacia di piani vaccinali che prevedano la contemporanea somministrazione di vaccini vivi attenuati per AMPV e NDV ha importanti risvolti economici nella gestione sanitaria dell'allevamento avicolo, in quanto la riduzione dei singoli interventi vaccinali determina un abbattimento dei costi ad essi correlati e limitazione dello stress provocato agli animali dagli interventi stessi. I risultati ottenuti forniscono quindi un contributo fondamentale all'ancora perfeffibile gestione dei piani vaccinali nell'allevamento del pollo con conseguente immediato risvolto applicativo.

### **Bibliografia**

Cavanagh D., Mawditt K., Britton P., Naylor C.J. (1999). Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broiler using type-specific Polymerase chain reactions. *Avian Pathology*, 28, 593-605

Cook J.K.A., Darbyshire J.H., Peter R.W. (1976). The use of chicken tracheal organ cultures for the isolation and assay of avian infectious bronchitis virus. *Archives of Virology*, 50, 109-118.

Ganapathy K., Cargill P., Montiel E. and Jones R.C. (2005). Interaction between live avian pneumovirus and Newcastle disease virus vaccines in specific pathogen free chickens. *Avian Pathology*, 34, 297-302

Ganapathy K., Todd V., Cargill P., Montiel E., Jones R.C. (2006). Interaction between a live avian pneumovirus vaccine and two different Newcastle disease virus vaccines in broiler chickens with maternal antibodies to Newcastle disease virus. *Avian Pathology*, 35, 429-434.

Senne D.A. (1998). Virus propagation in embryonating eggs. In: Swayne D.E., Wilson J.R., Jackwood M.W., Pearson J.E., Reed W.M. (Eds) *A laboratory manual for the Isolation and identification of avian pathogens*. American Association of Avian Pathologists. Kennett Square, Pennsylvania. pp. 235-240.

MERIAL - Uno sguardo lungimirante...

*Salmonella* Enteritidis  
&  
*Salmonella* Typhimurium

chiedi consiglio al tuo Servizio Veterinario



...e le uova sono più sicure

Tabella 1: Programma vaccinale applicato ai singoli gruppi sperimentali

Gruppi sperimentali	N° animali	Età alla vaccinazione	
		0*	21*
Gp. 1 (controllo non vaccinato)	16	Acqua sterile	Acqua sterile
Gp. 2	16	NDV (VG/GA)§	Acqua sterile
Gp. 3	16	NDV (VG/GA)	AMPV (PL21)
Gp. 4	16	NDV (VG/GA)	NDV (La Sota)
Gp. 5	16	NDV (VG/GA)	(PL21 + La Sota)

\*giorni di vita

§ ceppo vaccinale