

SIMULAZIONE *IN VITRO* DELL'EFFETTO DELLA DILUIZIONE IN ACQUA CLORATA DI VAC-SAFE SULLA VITALITÀ DI VACCINI VIVI AVIARI

Russo E.¹, Quaglia G.², Catelli E.², Lupini C.²

¹*MSD Animal Health, Strada di Olgia Vecchia Snc, Centro Direzionali Milano 2, Palazzo Canova, 20054, Segrate (MI), Italy;*

²*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie Alma Mater Studiorum Università di Bologna, via Tolara di Sopra, 50, 40064, Ozzano dell'Emilia (BO), Italy.*

Summary

One of the most important points in vaccine administration *per os* is water quality. Many substances commonly present in tap water can inactivate vaccines, and the most important one is chlorine. Some products have been developed to inactivate chlorine if dissolved in water 10 minutes before the vaccine. The diffusion of dosing pump instead of tanks for the preparation of medicated water changed the procedure for the use of these products, in tanks they are mixed with water, 10 minutes after vaccine is added and medicated water is administered, with dosing pump there is a stock solution highly concentrated of vaccine and these products, that is mixed with chlorinated water. The aim of this study was to create the same condition in the lab to see if this change of procedure can affect the livability of Infectious Bronchitis (IB) live attenuated vaccine. The same batch of IB vaccine was titrated after dilution in distilled water, in the chlorine inactivator at high concentration and after dilution with the chlorine inactivator at high concentration with consequent addition of chlorinated water. The chlorine inactivator has no detrimental effect on IB vaccine, also at high concentration.

This result suggests the use of chlorine inactivator in stock solution for IB vaccine administration with dosing pump in tap water could be an effective route of administration. Future collection of field data can be useful to confirm what happened in the lab.

INTRODUZIONE

In ambito aviario la vaccinazione con vaccini vivi attenuati somministrati in acqua di abbeverata è una pratica molto comune, e nel corso degli anni sono stati sviluppati numerosi vaccini che possono essere impiegati attraverso questa via di somministrazione. Uno dei punti chiave per una buona vaccinazione è la modalità di preparazione della soluzione vaccinale. A questo riguardo la qualità dell'acqua è un elemento essenziale per garantire una corretta vaccinazione, vanno valutati il pH e la presenza di sostanze in grado di inattivare i vaccini, prima fra tutte il cloro, sempre presente nell'acqua di acquedotto ad una concentrazione variabile. Il vaccino vivo attenuato per la Bronchite Infettiva (IB) in particolare risulta essere molto sensibile al cloro (1). Parallelamente alla diffusione dell'uso di acqua di acquedotto, dal punto di vista sanitario più sicura di quella di pozzo, sono stati messi a punto prodotti in grado di migliorare la qualità dell'acqua: portando il pH alla neutralità, inattivando il cloro e chelando alcuni metalli pesanti. Tali prodotti vanno sciolti nell'acqua e lasciati agire

una decina di minuti prima di aggiungere il vaccino, ed hanno lo scopo di preservarne la vitalità.

Nei vecchi sistemi zootecnici che prevedevano la preparazione dell'acqua medicata in grosse vasche collocate all'inizio dell'impianto idrico di ogni capannone era facile sanificare l'acqua utilizzata per la vaccinazione. Oggi sempre più allevamenti hanno sostituito questo tipo di sistema con pompe dosatrici in grado di aspirare quantità stabilite di acqua medicata estremamente concentrata (soluzione madre), miscelandola all'acqua di acquedotto sino a raggiungere la concentrazione finale richiesta. Questo sistema rende notevolmente più semplice la preparazione di acqua medicata, ma nel caso della somministrazione del vaccino impedisce la sanificazione dell'acqua prima dell'aggiunta del vaccino. Con l'impiego della pompa dosatrice si rende necessario l'aggiunta di prodotti in grado di migliorare la qualità dell'acqua alla soluzione madre del vaccino. Il vaccino viene quindi esposto contemporaneamente ad una concentrazione estremamente elevata di queste sostanze e al cloro.

Lo scopo del presente lavoro è simulare *in vitro* su organocolture di anelli tracheali di embrione di pollo, l'effetto della diluizione in acqua clorata di un preparato del commercio in grado di inattivare il cloro (VAC-Safe®) sulla vitalità di un vaccino vivo attenuato per la bronchite infettiva aviare.

MATERIALI E METODI

Prodotti testati

Sono stati impiegati nella prova il vaccino vivo attenuato per la Bronchite Infettiva aviare Nobilis IB 4-91 (MSD Animal Health) e lo stabilizzante VAC-Safe® (MSD Animal Health).

Organocolture di anelli tracheali di embrioni di pollo Specific Pathogen Free (SPF)
Le colture di anelli tracheali di embrioni di pollo (TOC), sono state preparate da embrioni di pollo SPF a 18-20 giorni di incubazione, mediante asportazione della trachea e sezionamento della stessa in anelli di circa 0,5 mm di spessore. Le colture conservano, in opportune condizioni, movimento delle ciglia vibratili osservabile al microscopio rovesciato. Questo substrato è stato utilizzato per la titolazione del vaccino per Bronchite Infettiva aviare Nobilis IB 4-91, e per la verifica della tossicità del VAC-Safe® da solo o con il ceppo vaccinale.

Verifica della tossicità su TOC di VAC-Safe®

La tossicità del prodotto VAC-Safe® per le TOC, valutata sulla capacità di dare ciliostasi, è stata testata inoculando il prodotto alla diluizione 0.1 gr/L, in 20 TOC/diluizione. Dopo un'ora dall'inoculazione con VAC-Safe® il terreno è stato rimosso e sostituito con terreno vergine. La motilità ciliare è stata valutata mediante osservazione quotidiana per 7 giorni post-inoculazione. La prova, per ogni diluizione, è stata svolta in triplicato.

Titolazione del vaccino

Il titolo del vaccino Nobilis IB 4-91 utilizzato nel test, è stato ottenuto mediante inoculazione del vaccino in diluizioni seriali (da 10^{-5} a 10^0) su 5 TOC/diluizione. Quotidianamente, fino a 4 giorni post-inoculazione, è stata osservata e registrata

la presenza di eventuale ciliostasi. Il titolo, espresso dose infettante mediana per TOC (CID₅₀) è stato quindi calcolato, mediante il metodo di Reed e Muench (2).

Effetto del VAC-Safe® sul titolo vaccinale

Il virus vaccinale è stato messo a contatto con VAC-Safe® a diverse diluizioni (0.1 gr/L; 0.2 gr/L; 0.4 gr/L), quindi titolato su TOC come precedentemente descritto.

RISULTATI

VAC-Safe® non è risultato tossico per il substrato utilizzato (TOC) non essendo stata osservata ciliostasi a nessuna delle diluizioni del prodotto testate. Si è quindi proceduto con la successiva prova di valutazione dell'effetto della diluizione in acqua di VAC-Safe® sulla vitalità del vaccino in esame. Il titolo virale del vaccino su TOC è risultato pari a 10^{3.6}/ml CID₅₀ sia in assenza che in presenza di VAC-Safe® a diverse concentrazioni.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dimostrano che VAC-Safe® non ha attività inattivante il virus vaccinale Nobilis IB 4-91, anche a concentrazioni molto elevate (fino a 0.4 g/L). Questo dato sperimentale è di notevole importanza pratica poiché, assicurando il mantenimento di un adeguato titolo vaccinale in acqua da bere anche quando la distribuzione avviene con l'ausilio di pompe dosatrici, contribuisce a rendere la via di somministrazione in acqua da bere più corretta ed uniforme. Sarà importante estendere lo studio ad altri vaccini vivi attenuati impiegati in avicoltura e normalmente somministrati in acqua da bere quali il vaccino per bursite infettiva aviaria e quello per la Malattia di Newcastle.

BIBLIOGRAFIA

1. Jordan FT, Nassar TJ (1973). The survival of infectious bronchitis (IB) virus in water. *Avian Pathology* 2:2, 91-101.
2. Reed L.J. e Muench H., 1938. A simple method for estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Hygiene*, 27: 493-497.