

COMUNICAZIONE 10

APPLICAZIONE DI PIANI VACCINALI NEI CONFRONTI DEL VIRUS DELLA MALATTIA DI NEWCASTLE NELLO STRUZZO (*Struthio camelus*): RISULTATI PRELIMINARI

P. CASAGRANDE PROIETTI¹, M.P. FRANCIOSINI¹, G. PREDARI², G.ASDRUBALI¹

¹Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie, Sezione di Igiene e Patologia, Università degli studi di Perugia;

²Libero professionista

Parole chiave: struzzo, malattia di Newcastle, vaccinazioni, test HI, test SN

Different NDV vaccine strategies in ostriches (*Struthio camelus*): preliminary results

Key words: ostrich, Newcastle disease, vaccination, test HI, test SN

Summary: The aim of this study was to assess the efficacy related to application of different vaccinal programmes in ostriches, according to European Permanent Veterinarian Committee, by immune response evaluation.

Correspondence: Patrizia Casagrande Proietti - Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie, Sezione di Igiene e Patologia, Università degli studi di Perugia- Facoltà di Medicina Veterinaria, Via S. Costanzo 4, 06100 Perugia. Email pcpatavi@unipg.it

Introduzione

Il rapido ed imprevedibile aumento del commercio internazionale di ratiti in particolare dello struzzo (*Struthio camelus*), verificatosi negli anni '90 in Italia e, quindi, anche nella nostra Regione, costituisce una fonte di preoccupazione per le infezioni che tali uccelli possono portare.

Gli struzzi devono essere allevati all'aperto e vengono, quindi, a contatto di uccelli selvatici e di altri animali, con possibile scambio di virus e di vari agenti infettivi. In conseguenza dei recenti episodi di Pseudopeste segnalati nel nostro Paese si è dovuto ricorrere, come prevede il DPR 657/96, all'applicazione di un programma di vaccinazione e monitoraggio approvato dal Comitato veterinario permanente europeo nel luglio 2000. Al momento, per il controllo internazionale della Pseudopeste negli struzzi viene previsto un intervento minimo di due vaccinazioni a distanza di 15 giorni con vaccino vivo attenuato, mentre la vaccinazione con vaccino spento rimane facoltativa. Da alcuni studi (7) sembra che la vaccinazione con vaccino vivo attenuato, stimolando prevalentemente l'immunità cellulo-mediata, non è in grado di proteggere dall'infezione con virus selvaggio; sarebbe necessaria, quindi, per conferire una protezione completa, la somministrazione anche di un vaccino spento che determini una valida risposta umorale (8). Lo scopo del presente lavoro è stato quello di sperimentare, seppure in maniera preliminare, l'efficacia di diversi piani vaccinali anche alternativi a quanto stabilito dal Comitato veterinario permanente europeo, per valutare la risposta anticorpale da essi indotta.

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata effettuata in un allevamento di struzzi del Centro Italia, costituito da circa 300 soggetti. I pulcini alla schiusa sono stati divisi in tre gruppi, ciascuno dei quali è stato sottoposto ad un diverso protocollo vaccinale.

Gruppo A: 12 soggetti vaccinati in schiusa e a 15 giorni con vaccino vivo attenuato ceppo La Sota per via oculo-nasale e ad un mese di età con vaccino spento per via sottocutanea;

Gruppo B: 12 soggetti vaccinati in schiusa contemporaneamente con vaccino vivo attenuato ceppo La Sota per via oculo-nasale e spento per via sottocutanea;

Gruppo C: 12 soggetti vaccinati in schiusa contemporaneamente con vaccino vivo attenuato ceppo La Sota per via oculo-nasale e spento per via sottocutanea e a 15 giorni di età con vaccino vivo attenuato ceppo La Sota per via oculo-nasale.

Nei diversi sistemi di vaccinazione sono state impiegate dosi doppie rispetto a quelle utilizzate nel pollo. Su tutti i gruppi sono stati effettuati 2 prelievi di sangue a 60 gg. e a 90 gg. di età; per la ricerca degli anticorpi vaccinali i sieri sono stati saggiati con test HI ed SN.

Il test HI è stato eseguito secondo quanto prevede la Direttiva CEE 92/66 (CEE,1992), utilizzando 4 unità emagglutinanti di virus. Sono stati considerati positivi titoli di $\log_2 > 3$.

Il test SN è stato effettuato secondo la metodica standard; sono stati valutati positivi titoli di $\log_2 > 1$ (4). Per valutare la eventuale presenza di risultati statisticamente significativi ottenuti con i differenti piani vaccinali è stata valutata l'analisi della varianza ed effettuato il test di Tukey e del χ^2

Risultati

Con l'utilizzazione del test HI è risultato positivo un campione su 9, mentre tutti gli altri sono negativi. I risultati sierologici relativi al test SN (Tabella 1) mostrano una percentuale di positività del 100% nei sieri del primo prelievo e del secondo prelievo del gruppo A con una media dei titoli espressa in \log_2 rispettivamente di 7.0 e di 6.2. I sieri del primo prelievo del gruppo B risultano positivi per il 50% con una media dei titoli di 5.1; nel secondo prelievo la percentuale di positivi è del 36,3%, con un titolo medio di 5.7. In riferimento al gruppo C la percentuale dei sieri positivi è del 62,5% con un titolo medio di 5.1; i sieri del secondo prelievo mostrano una positività del 71,4% con un titolo medio pari a 4.9.

L'analisi statistica non ha mostrato differenze significative nelle medie dei titoli dei sieri dei 3 gruppi; nel calcolo tra le positività e le negatività una debole significatività è stata riscontrata tra il primo prelievo del gruppo A e il primo prelievo del gruppo B ($P = 0,0498$) nonché tra il 2° prelievo del gruppo A ed il 2° prelievo del gruppo B ($P = 0,0345$).

Dicussione

Dall'analisi dei dati, in merito alle metodiche utilizzate, è possibile affermare, come dimostrato da alcuni Autori, che il test HI risulta scarsamente sensibile per

saggiare anticorpi specifici nei confronti di NDV nei sieri di struzzo (6,3), sebbene sia considerato il test standard per la diagnosi di malattia di Newcastle nel pollame (CEE, 92/66). E' stato infatti osservato che l'HI produce risultati inconsistenti, sia per l'alta incidenza dei falsi negativi (1), sia dei falsi positivi (10). Di contro, altri Autori hanno utilizzato il test HI ottenendo una buona correlazione con altre metodiche, come l'ELISA diretta e indiretta e la sieroneutralizzazione (5,2). Quest'ultima può essere considerata la prova più accurata e sensibile per questo scopo (5), come dimostrano anche i risultati da noi ottenuti, sebbene molto complessa e laboriosa.

Per quanto concerne la risposta immunitaria prodotta in seguito all'applicazione dei piani vaccinali, pur riguardando un numero ridotto di campioni, possiamo affermare, che si è verificata una sierconversione maggiore nei soggetti appartenenti al gruppo A; infatti, i sieri prelevati dagli struzzi a 60 gg., mostrano una percentuale di positività pari al 100%, con una media aritmetica dei titoli di 7.0 che diminuisce di un logaritmo nei soggetti di 90 gg. E' da sottolineare, comunque, che anche nei soggetti del gruppo B e C la vaccinazione ha stimolato una buona risposta anticorpale nei confronti di NDV; il titolo medio, infatti, oscilla tra 4.9 e 5.7 con percentuali di positività tra il 36,3% e il 71,4%.

Questi risultati, verosimilmente giustificati dal fatto che tutti e tre i piani vaccinali hanno previsto l'utilizzo di un vaccino spento, sono in parte in accordo con quelli ottenuti da Bolte et al., (1999). Tali autori hanno rilevato mediante il test di sieroneutralizzazione un titolo medio di 7.6 in sieri di struzzi adulti sottoposti a vaccinazione prima con vaccino vivo e successivamente con vaccino spento.

Allwright (1), Cadman et al., (3), Verwoerd et al., (9), hanno inoltre, dimostrato, mediante la ricerca di anticorpi con HI ed ELISA, che gli struzzi rispondono alla vaccinazione con vaccini vivi e spenti nei confronti di NDV. Dall'applicazione dei test statistici si osserva la presenza di una debole significatività tra i risultati ottenuti nel gruppo A e B, sia nel primo che nel secondo prelievo, giustificata dall'esiguo numero di campioni.

A tutt'oggi, comunque, sono ancora scarse le conoscenze in merito alla valutazione della risposta immunitaria nei confronti della malattia di Newcastle nello struzzo: la stima dell'immunità umorale non è così diretta e semplice come nel pollo, in relazione anche alla difficoltà di standardizzazione delle differenti metodiche, come dimostrato dai risultati

contraddittori ottenuti in base alle procedure scelte per la determinazione degli anticorpi.

Ringraziamenti

Gli esami sono stati effettuati presso la Sezione di Virologia dell'Istituto Zooprofilattico di Padova. Si ringraziano la Sig. Anna Toffan e il Sig. Antonio Zuin

Bibliografia

1. Alwright D. (1996). Viruses encountered in intensively reared ostriches in southern Africa. Proceeding of Improving our understanding of Ratites in a Farming Environment (pp.27-33). Oxford U.K.
2. Bolte A. L., Voeckel K. L., Kaleta E.F. (1999). Zur schutzimpfung des Strausses ((*Struthio camelus*, Linne 1758) gegen die Newcastle Krankheit: Nachweis von Impfstoff-Vertraglichkeit und Serokonversion post vaccinationem mittels HAH- und VN-test. Deutsche tiererliche Wochenschrift. 106, 53-84.
3. Cadman H.F., Kelly P.J., De Angelis W. D., Rohde C., Collins N& Zuli T. (1997). Comparison of enzyme linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test for the detection of antibodies against Newcastle disease in ostriches (*Struthio camelus*). Avian Pat. 27, 117-120
4. Kaleta W. F., Siegman O. (1971). Verchleichende untersuchungen uber den Nachweis hamagglutinations shemmen der und virusneutralisierende Antikörper nach Vaccination gegen die Newcastle Disease. Archiv. Fur Geflugelkunde. 35,79-83.
5. Koch G., Cifra G. & Engstrom B.E. (1998). Detection of Newcastle virus-specific antibodies in ostrich sera by three serological methods. Veterinary Record, 143, 10-12.
6. Jorgensen P. H., Lomniczi B., Manvell R. J., Holm E. & Alexander D. J. (1998). Isolation of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease) viruses from a flock of ostriches (*Struthio camelus*) and emus (*Dromaius novaehollandiae*) in Europe with inconsistent serology. Avian Path. 27, 352-358.
7. Reynolds D. L., Maragua A. D. (2000). Protective immunity against Newcastle disease: the role of cell-mediated immunity. Avian Dis. 44(1): 145-154
8. Takada A., Kida H. (1996). Protective response of chickens against Newcastle disease induced by the intranasal vaccination with inactivated virus. Vet. Microb. 50:17-25
9. Verwoerd D. J., Olivier A., Gummow B., Gerdes G.H., Williams R. (1999). Experimental infection of vaccinated slaughter ostriches in a natural open-air feedlot facility with virulent Newcastle disease virus. Avian disease. 43(3) 442-452
10. Williams R., Boshoff C.H., Verwoerd D., Schoemann M., van Wyk A., Gerdes T. H., & Roos H. (1997). Detection of antibodies to Newcastle disease virus in ostriches (*Struthio camelus*) by an indirect ELISA. Avian Diseases, 41,864-869

Tabella 1: Riepilogo titoli SN. Media, Deviazione Standard, Mediana e Moda

Table 1: SN titers. Mean, Standard Deviation, Median, Mode

Prelievo	Gruppo A		Gruppo B		Gruppo C	
	1°	2°	1°	2°	1°	2°
N°positivi	9	6	4	4	5	5
% positivi	100	100	50	36.3	62.5	71.4
Valore Minimo	4	32	0	0	2	0
Valore Massimo	256	256	256	256	64	128
Media dei titoli (log ₂)	7.0	6.2	5.1	5.7	5.1	4.9
Deviazione Stand.	104.8	89.72	89.35	84.75	30.74	44.3
Mediana	128	32	3	2	8	16
Moda	256	32	0	8	64	32
N°campioni	9	6	8	11	8	7