

VACCINAZIONE NEWCASTLE: NUOVE STRATEGIE DI CONTROLLO E PROSPETTIVE FUTURE

Boldini S.¹, Russo E.¹, Fregnani G.², Tosi G.², Beoni M.³, Fiorentini L.², Magrini M.¹, Trevisani G.³, Parigi M.²

¹ *MSD Animal Health Srl, via F.lli Cervi snc Centro Direzionale Milano Due - Palazzo Canova 20090 Segrate (MI) Italy.*

² *Istituto Zooprofilattico Sperimentale Della Lombardia e Dell'Emilia Romagna, Sede Territoriale di Forlì, Via Don E. Servadei 3E/3F, 47122 Forlì (FC) Italy.*

³ *Eurovo, via Mensa 3, 48022 Santa Maria in Fabriago (RA) Italy.*

Summary

Newcastle disease is an important pathology that causes severe illness and high economic losses in poultry worldwide. Vaccination programs and high biosecurity standards are the only measures to prevent the diffusion of virulent NDV field strains and the disease. In order to control this pathology, many countries established governmental control programs based on vaccination. Today vectored vaccines are commonly used in hatchery because of its efficacy and the simple administration and it is now possible use them in the Italian governmental vaccination program against ND.

This field monitoring analyze the immune-response in three groups of pullets after administration of different vaccination programs (two live and two inactivated vaccines; one rHVT-ND-IBD two live and one inactivated vaccines; one rHVT-ND-IBD one live and one inactivated vaccine), focusing on antibodies titers obtained using three analytical methods: ELISA, HI and VN. Both Elisa and HI showed a similar antibody titers trend in all groups, with a strong increase after the last inactivated vaccine, confirmed by VN.

In order to follow the Italian control plan, this work permitted to obtain data about the role that rHVT-ND-IBD vaccine plays in protection against NDV.

INTRODUZIONE

La malattia di Newcastle (ND) è una patologia del pollame, sostenuta da un Paramixovirus sierotipo 1 (APMV-1), Avulavirus aviario-1 (AvAV-1) secondo la nuova nomenclatura[1]. Patogenicità e sintomatologia clinica sono molto variabili a seconda del ceppo coinvolto. Si distinguono, infatti, cinque patotipi: velogeno viscerotropo, velogeno enterotropo, mesogeno, lentogeno e avirulento [3]. NDV può infettare tutte le specie di avicoli commerciali ed alcune specie di uccelli selvatici con ruolo di reservoir [2,3]. È endemica nel pollame in gran parte del mondo [2,5] e la malattia sostenuta da ceppi velogeni è soggetta a denuncia obbligatoria e inclusa nella lista A dell'Office International des Epizooties (OIE) [4]. In seguito alla grave epidemia di ND del 2000 [6] è stata recepita la direttiva comunitaria 92/66/CEE attraverso il DPR 657/96 e sue successive modifiche, il quale stabilisce il protocollo vaccinale minimo obbligatorio per ogni specie allevata sensibile ad APMV-1 [7] (nota prot. 600.6/24461/25N/118). La profilassi indiretta, associata a efficaci misure di biosicurezza, è, infatti, l'unico mezzo di controllo

effettivo e prevede l'utilizzo di vaccini vivi e vaccini inattivati (rispettivamente ICPI <0,4 e <0,7 dir. 93/152/EEC). Dal 4 giugno 2019 è entrato in vigore il nuovo piano vaccinale secondo il quale, per ovaiole e riproduttori, sono obbligatori due interventi vaccinali con vaccino vivo attenuato (il primo in incubatoio) e uno con vaccino inattivato prima dell'entrata in deposizione. Secondo la normativa, inoltre, è possibile utilizzare anche i vaccini ricombinanti, qualora il nuovo piano vaccinale assicuri per tutta la durata del ciclo produttivo un'immunità superiore o uguale a quella indotta dal piano vaccinale suggerito dal ministero, che prevede solo l'utilizzo di vaccini tradizionali.

I test sierologici sono lo strumento più semplice per valutare l'efficacia della vaccinazione, i più utilizzati in diagnostica di routine sono: l'inibizione dell'emoagglutinazione (HI), utilizzata ufficialmente per la valutazione del titolo anticorpale medio, e i Kit commerciali ELISA [9], che possono essere costruiti al fine di evidenziare la risposta ad un ceppo di campo o ai vaccini, anche vettorizzati (IDvet, BioChek)[10].

La continua evoluzione dell'industria avicola, degli aspetti sanitari ad essa correlati e l'innovazione in campo vaccinale, hanno creato la necessità di una rivalutazione degli aspetti normativi che disciplinano il controllo della malattia sul territorio italiano. Lo scopo del presente monitoraggio è ottenere dati sierologici con differenti metodiche, che possano fornire un supporto nella pianificazione mirata degli interventi vaccinali ND in fase pollastra.

MATERIALI E METODI

Animali e piani vaccinali

Tre gruppi di pollastre figlie dello stesso gruppo di riproduttori e schiuse nell'arco di una settimana dal medesimo incubatoio, sono stati vaccinati secondo tre diversi piani vaccinali e accasati a terra in tre diversi capannoni del medesimo allevamento:

- Gruppo 1A: vaccinazione tradizionale con un vaccino vivo attenuato somministrato spray al giorno 1 in incubatoio, un vaccino vivo attenuato somministrato a 18 giorni in acqua di bevanda; due vaccini spenti somministrati a 39 e 88 giorni intramuscolo.
- Gruppo 2B: rHVT-ND-IBD via sottocute e un vaccino vivo attenuato somministrato spray in incubatoio al giorno 1, un vaccino vivo attenuato al giorno 15 in acqua di bevanda; uno spento somministrato a 88 giorni intramuscolo.
- Gruppo 3C: rHVT-ND-IBD via sottocute, un vaccino vivo attenuato somministrato spray in incubatoio al giorno 1 e un vaccino spento somministrato al giorno 88 intramuscolo.

Gli animali sono stati monitorati clinicamente durante tutta la durata della prova e non è stata riscontrata mortalità anomala, sintomatologia clinica e/o reazioni vaccinali.

Campionamento e indagini sierologiche

I campioni sierologici effettuati nell'ambito delle normali procedure di monitoraggio di routine prevedevano il prelievo di 20 campioni di sangue per capannone a 1, 11, 18, 25, 39, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 107, 114, 122, 128 giorni di età.

Alle normali analisi sierologiche di routine, che prevedono la quantificazione degli

anticorpi per malattia di Newcastle mediante Inibizione dell'emoagglutinazione (HI), sono state aggiunte le quantificazioni degli anticorpi per malattia di Newcastle mediante ELISA con kit ID Screen®Newcastle Disease Indirect ID Vet, e, nei campioni effettuati da 60 giorni in poi, mediante Virus Neutralizzazione (VN). Tutte le analisi sono state eseguite presso l'Istituto Zooprofilattico della Lombardia ed Emilia Romagna, sede territoriale di Forlì.

RISULTATI

I tre gruppi hanno mostrato un andamento simile dei titoli anticorpali. In seguito alla seconda somministrazione di vaccino vivo attenuato a 18 giorni nei gruppi 1A e 2B, i titoli anticorpali hanno subito un calo sovrapponibile a quello del gruppo 3C che non ha ricevuto il vaccino (Figura 1 e 2). Il gruppo 1A, l'unico ad aver ricevuto il primo vaccino spento a 39 giorni, ha presentato un picco più alto a 60 giorni rispetto ai gruppi 2B e 3C (Figura 1 e 2).

Dopo la somministrazione del vaccino spento a 88 giorni, i gruppi hanno mostrato una analoga risposta al vaccino con valori sovrapponibili (Figure 1, 2 e 3).

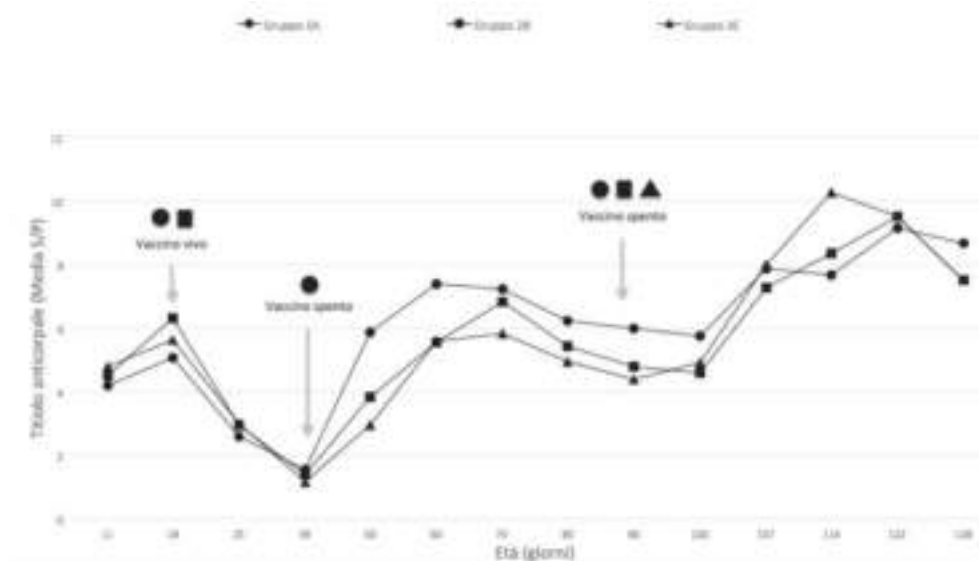


Figura 1. Media dei titoli anticorpali ottenuti con metodica ELISA nei tre gruppi. I simboli indicano il giorno di vaccinazione e corrispondono al gruppo al quale è stato somministrato il vaccino. Il limite di positività di questo test è pari a 0,3

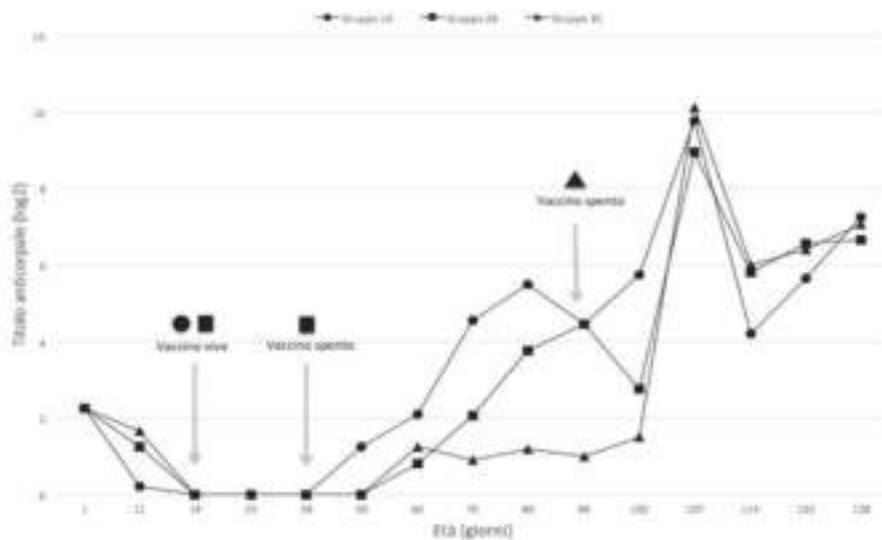


Figura 2. Valore medio del log₂ del titolo anticorpale ottenuto mediante HI nei tre gruppi. I simboli indicano il giorno di vaccinazione e corrispondono al gruppo al quale è stato somministrato il vaccino. I valori al di sotto del limite di positività (1:8) non sono stati testati e sono stati considerati soltanto negativi, ai fini grafici gli è stato attribuito valore pari a zero.

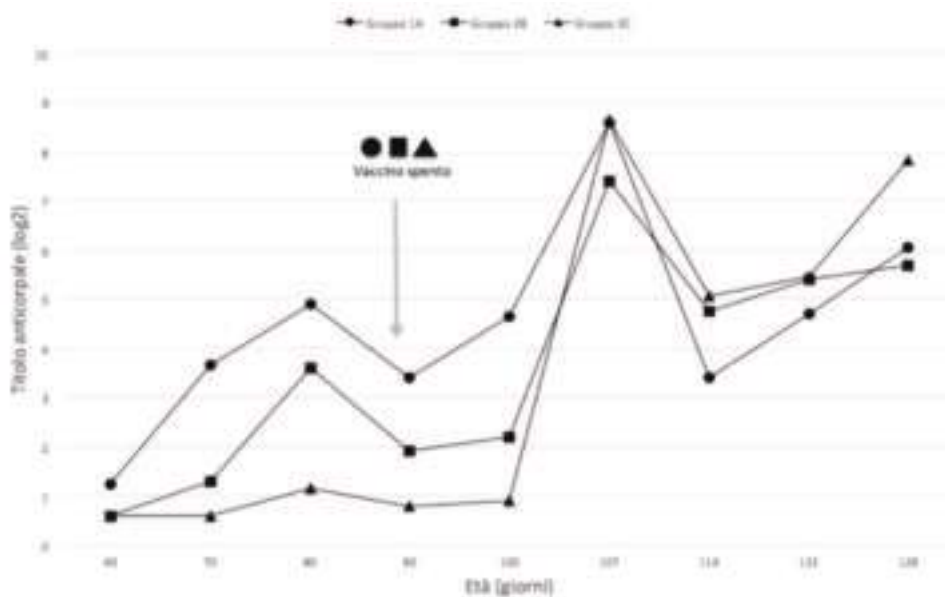


Figura 3. Titolo anticorpale ottenuto con VN nei tre gruppi dal giorno 60 in poi. I simboli indicano il giorno di vaccinazione e corrispondono al gruppo al quale è stato somministrato il vaccino.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'analisi dei dati ottenuti da questo monitoraggio ha permesso di valutare l'andamento dei titoli anticorpali per la malattia di Newcastle in seguito a diversi piani vaccinali su pollastre allevate in campo. Alla luce dei risultati ottenuti in tre gruppi oggetto di studio hanno mostrato un andamento simile del titolo, come dimostrato dalla sierologia mediante ELISA e HI in cui le curve ottenute sono sovrapponibili. Dopo il vivo attenuato somministrato al giorno 18 si è rilevata, con entrambe le metodiche utilizzate in questa fase del monitoraggio, un calo dei titoli in tutti i gruppi. La caduta dei titoli rilevati con HI al di sotto del limite di positività è in accordo con quanto riscontrato in un precedente studio[8].

In seguito alla somministrazione del vaccino inattivato a 88 giorni, si è rilevato un incremento di titoli anticorpali che con tutte le metodiche è risultato sovrapponibile in tutti e tre i gruppi. Questo risultato suggerisce che il vaccino rHVT-ND-IBD associato ad un vivo attenuato via spray in incubatoio e ad uno inattivato prima dell'entrata in deposizione possa fornire alla gallina ovaioia in produzione un livello di protezione analogo al piano vaccinale tradizionale. La riduzione ad un solo intervento con vaccino inattivato, inoltre, è oggi sostenuta dal punto di vista normativo, considerate le recenti modifiche al piano di controllo nazionale, e comporta numerosi vantaggi in termini economici, di biosicurezza e di riduzione dello stress dell'animale.

BIBLIOGRAFIA

1. Amarasinghe GK, Bao Y, Basler CF, Bavari S, Beer M, Bejerman N, Blasdel KR, Bochnowski A, Briese T, Bukreyev A, Calisher CH, Chandran K, Collins PL, Dietzgen RG, Dolnik O, Durrwald R, Dye JM, Easton AJ, Ebihara H, Fang Q, Formenty P, Fouchier RAM, Ghedin E, Harding RM, Hewson R, Higgins CM, Hong J, Horie M, James AP, Jiang D et al. (2017). Taxonomy of the order *Mononegavirales*: update 2017. *Arch Virol* 162:2493–2504.
2. Vienna R, Brown, Sarah N, Bevins. (2017). A review of virulent Newcastle disease viruses in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread. *Veterinary Research* 2017,48:68.
3. DJ Alexander. (2000). Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviruses. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2000,19 (2),443-462.
4. Terrestrial Manual OIE. (2018). Newcastle Disease, chapter3.3.14.
5. K.M. Dimitrov, A.M. Ramey, X. Qiu, J. Bahl, C.L. Afonso (2016) Temporal, geographic, and host distribution of avian paramyxovirus 1 (Newcastle disease virus) *Infect. Genet. Evol.*, 39 (2016), pp.22-34.
6. Capua I., Dalla Pozza M., Marangon S., Mutinelli F., Terregino C. (2002). Newcastle disease outbreaks in Italy. *The Vet Rec* 150 (18):565-568.
7. Communities, C.o.t.E. (1992). Council directive 92/66/EEC of 14 July 1992 introducing community measures for the control of Newcastle disease. *Offic. J. Eur. Communities* L260, 1–20.
8. Tamba M., Tosi G., Massi P., Bacchicocchi F. (2001). Valutazione dell'efficacia nel broiler di diversi piani vaccinali contro la malattia di Newcastle. *Large An. Review*, 7(6),89-90.

9. Patti J. Miller, Guus Koch. (2013). Newcastle Disease. Diseases of Poultry, Thirteenth Edition. David E. Swayne. 2013 John Wiley & Sons, Inc. Published 2013 by John Wiley & Sons, Inc.
10. G. Slacuma, B. Leerdamb , B. Damb. (2012). The use of ELISA (Biochek) to detect antibodies following vaccination with different recombinant HVT vectored vaccines for NDV, ILTV, and IBDV. Proceedings Of The Sixty-First Western Poultry Disease Conference April 2-4, 2012 Scottsdale, AZ