SALMOPORC®

APPROCCIO VACCINALE ALLA SALMONELLA NELLA SPECIE SUINA:

DOMANDE E RISPOSTE

Emanuela Pileri,
DVM, PhD, Technical Manager Italia

Sviluppo del ceppo vaccinale di Salmoporc

attenuazione

CEPPO VIRULENTO DI CAMPO (capostipite)

LD_{50} 2.0 x 10^0 in cfu/mouse

Isolamento e test del ceppo (marker, virulenza, immunogenicità)

Mutagenesi indotta chimicamente

MUTANTE SINGLE MARKER (Istidine)

- VIRULENZA RIDOTTA

LD_{50} 2.4 x 10^5 in cfu/mouse

Isolamento e test del ceppo (marker, virulenza, immunogenicità)

Mutagenesi indotta chimicamente

MUTANTE DOPPIO MARKER (**Adenina, Istidina**)

- Avirulento
- Immunogenetico
- Geneticamente stabile
- Ridotta persistenza nell'ambiente

LD_{50} 2.0 x 10^7 in cfu/mouse

Indicazioni (SPC)

- Immunizzazione attiva di **scrofe e scrofette** per ridurre l'escrezione di ceppi selvaggi di *Salmonella* Typhimurium durante la lattazione

- Immunizzazione attiva di **suinetti in lattazione e svezzati,** per ridurre la colonizzazione batterica e l'escrezione così come i sintomi clinici da infezione da *Salmonella* Typhimurium

- **E' stata dimostrata sia per *Salmonella* Typhimurium DT 104 che per i ceppi monofasici di Salmonella Typhimurium**

- Inizio dell'Immunità: 2 settimane dopo la 2ª vaccinazione

- Durata dell'immunità: 19 settimane (suinetti)
  24 settimane (scrofe)

Dose e schema vaccinale

- **Dose: 1ml (contiene 5 x 10^8 – 5 x 10^9 cfu)**

SCROFA

- 2 INIEZIONI ***S.C.*** con un intervallo di 3 settimane (6 e 3 settimane *ante partum*)
- ri-vaccinazione: singola somministrazione 3 settimane *ante partum*

SUINETTI/SUINI SVEZZATI

- PRIMA vaccinazione **orale**: dal 3° gg di vita
- SECONDA vaccinazione **orale**: 3 settimane dopo

È necessario considerare il programma antibiotico in uso in azienda

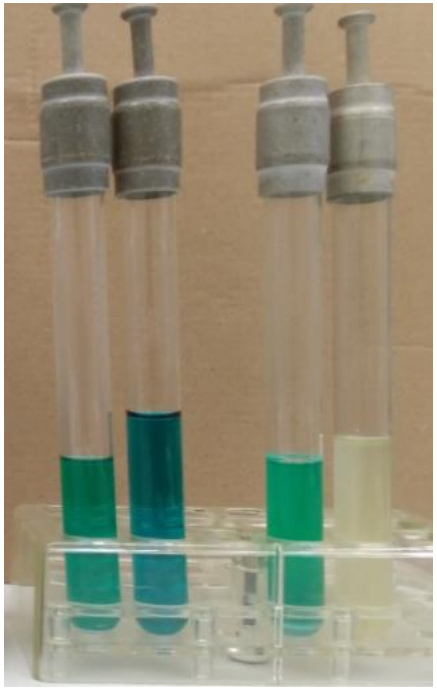
DOMANDE

Come differenziare il ceppo vaccinale da quelli di campo?

I test disponibili sono forniti unicamente da Ceva?

Cosa si fa in laboratorio?

Incubazione (18h) in acqua peptonata tamponata (BPW)



Arricchimento selettivo in brodo tetrationato verde bile brillante (TBG) e Rappaport Vassiliadis Soy broth (RVS)

Semina in piastre su agar oxoide Brilliance per Salmonella

Differenziazione del ceppo vaccinale dai ceppi di campo

Inoculazione del Kit Diagnostico *Salmonella* IDT con un ceppo puro di *Salmonella*

Dopo inoculazione
clear/clear

Ceppo vaccinale
clear/ turbid

Ceppo di campo
turbid/turbid

Differenziazione con PCR

Alcuni laboratori offrono la possibilità di una PCR per rilevare e tipizzare la Salmonella dopo lo step di pre-arricchimento

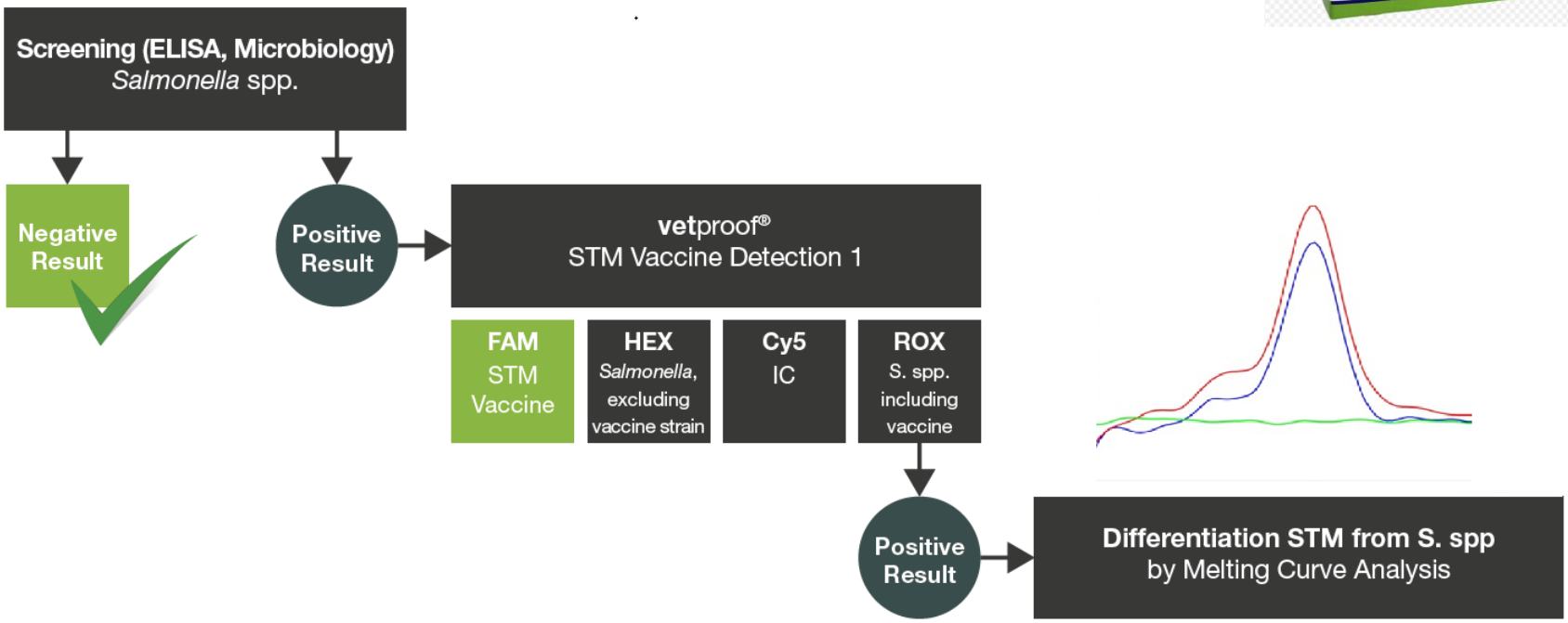
Vantaggi:

- Metodo più sensibile (meno falsi negativi)
- Risultati più rapidi (2 – 3 gg vs. 1 – 2 settimane)

Svantaggi:

- Non tutti i laboratori offrono la PCR
- La PCR non è possible senza il pre-arricchimento
- Non tutte le sierovarianti possono essere rilevate
- Il costo è spesso più alto della coltura

Biotecon Diagnostic Kit



Disponibile per tutti I laboratori

Come si può monitorare l'efficacia dell'intervento vaccinale?

Come si può monitorare l'efficacia dell'intervento vaccinale?

1. Determinazione della prevalenza della Salmonella in azienda mediante batteriologia

Campionamento in azienda

- Microbiologia
  - Pool di feci col ¨metodo del sobvrascarpa¨
  - Campioni ambientali mediante tamponi
- Consente di differenziare i tipi di Salmonella in azienda (incluso il ceppo vaccinale) e di stabilirne la prevalenza

SALMOPORC®

Campionamento in azienda

- **In media vengono raccolti 15 campioni per azienda. Ogni campione è composto almeno da un copriscarpe e da un tampone ambientale. Devono essere analizzati tutti i reparti produttivi.**

Reparti

- Sale parto vuote, pulite e disinfettate
- Sale parto, dalla 1ª alla 3ª settimana di vita dei suinetti

- Svezzamenti, sala vuota, pulita e disinfettata.
- Svezzamenti, sale suinetti di 4, 5, 7, 10 settimane di vita.

- Gestazione in gabbia
- Gestazione libera, box vuoto, pulito e disinfettato più quelli con le scrofe
- Adattamento scrofette

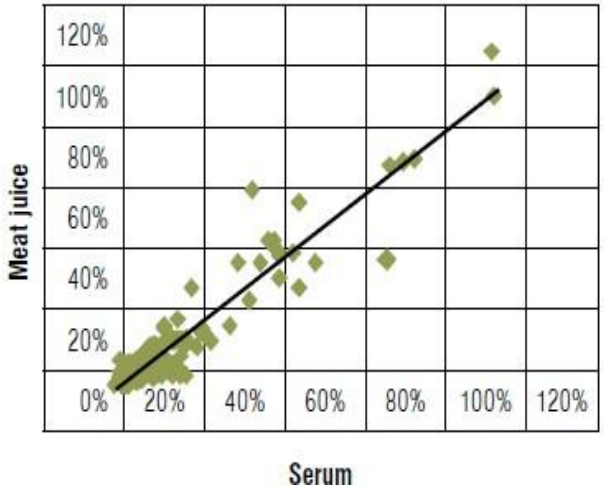
Come si può monitorare l'efficacia dell'intervento vaccinale?

2. Determinazione della prevalenza della Salmonella in azienda mediante sierologia

Kit sierologici commerciali

IDEXX Salmonella Ab Test

Correlation Serum/Meat Juice



Swine *Salmonella*

Serum/meat juice correlation, n=132

Slope=0.991

R^2=0.9044

Conclusion: IDEXX Swine *Salmonella* Ab Test shows a good correlation between serum and meat juice samples.

Kit sierologici commerciali

IDEXX Salmonella Ab Test

La concentrazione di anticorpi nel succo di carne può variare a seconda di:

- Metodologia
- pH – valore
- Muscolo campionato (collo vs. diaframma) (Nobmann et al., 2011)

Kit sierologici commerciali

IDEXX Salmonella Ab Test

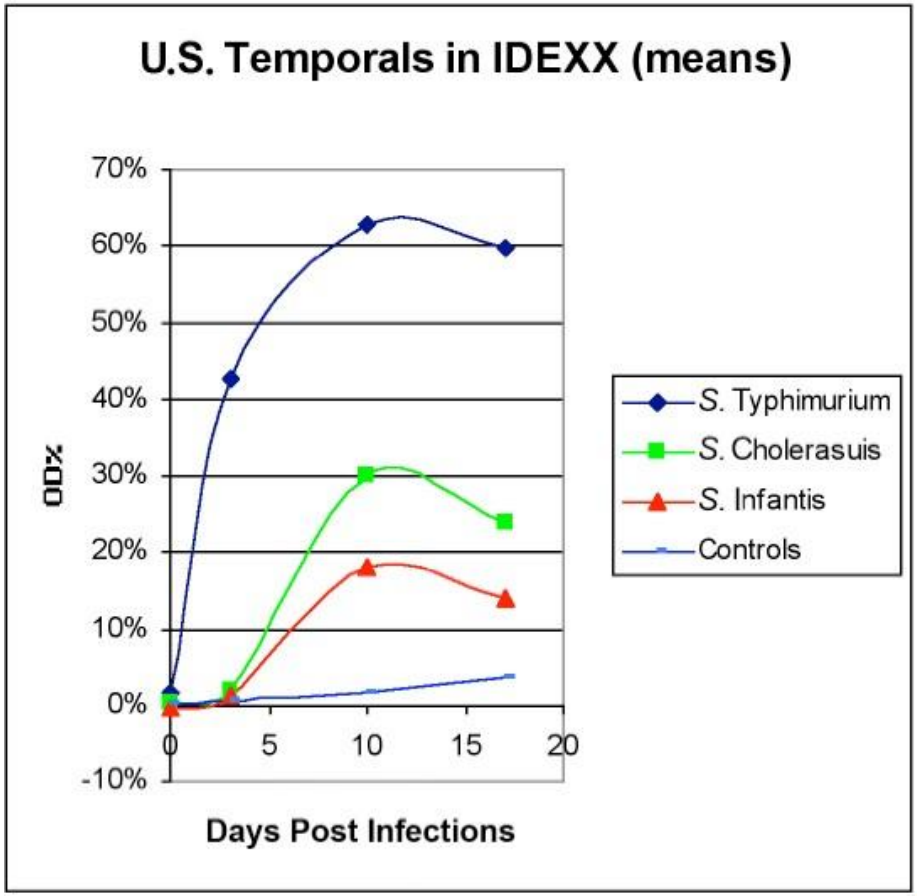
Serotype Detection

		Serum origin			
Serotype	**Group**	**Designation**		**Country**	**Result**
S. typhimurium	B	National reference	STM 1, 2, 3	Germany	+
		Deventer reference	SW-TYP	The Netherlands	+
		ELISA calibration sera	1, 2, 3	Denmark	+
		Ring test sample	24–30	The Netherlands	+
S. derby	B	Weybridge reference	194, 195	United Kingdom	+
S. brandenburg	B	Ring test sample	11–13	The Netherlands	+
S. cholerasuis	C1	National reference	SCS 1, 2, 3	Germany	+
S. livingstone	C1	Deventer reference	SW-LIV	The Netherlands	+
		Ring test sample	19–20	The Netherlands	+
S. infantis	C1	ELISA calibration sera	4	Denmark	+
		Weybridge reference	199, 253, 254	United Kingdom	+
S. panama	D	Weybridge reference	259, 260	United Kingdom	+
		Ring test sample	10	The Netherlands	+
S. enteritidis	D	Field sample		Denmark	+

Kit sierologici commerciali

- La sieroconversione può essere dimostrata nella maggior parte degli animali 3-10 giorni post-infezione (usando come cut-off il 10% OD)

IDEXX Salmonella Ab Test



Come si può monitorare l'efficacia dell'intervento vaccinale?

CASI REALI

Caso I

Azienda a ciclo chiuso

330 scrofe

Condizioni strutturali “subottimali" (installazioni vecchie)

Ottobre 2013

Diarrea in svezzamento

Aumento degli scarti

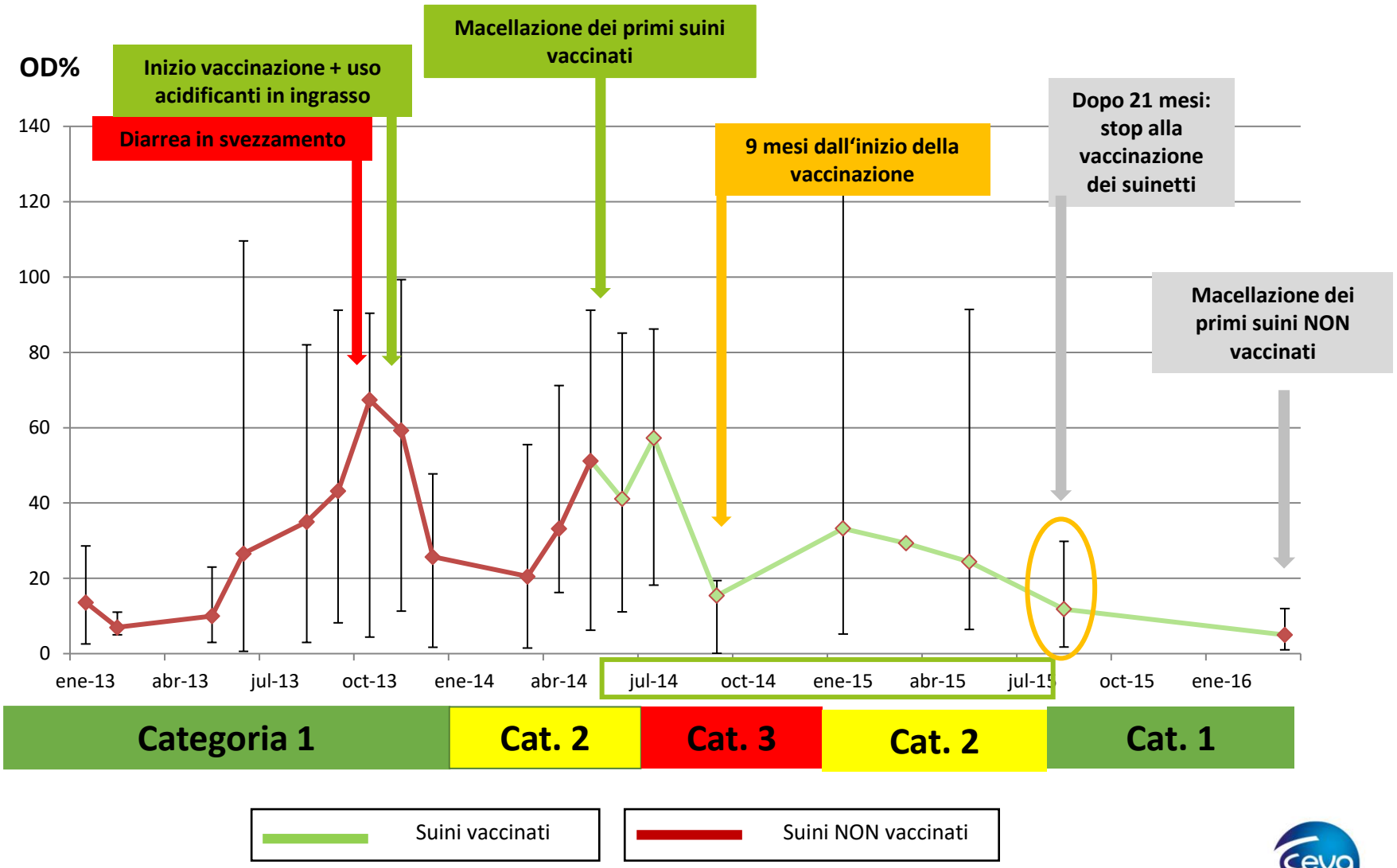
Diagnostico

Necroscopia → *S.* Typhimurium

Campioni di feci → *S.* Typhimurium

→ Inizio vaccinazione scrofe e suinetti

Caso I


OD%
Inizio vaccinazione + uso acidificanti in ingrasso
Diarrea in svezzamento
Macellazione dei primi suini vaccinati
9 mesi dall'inizio della vaccinazione
Dopo 21 mesi: stop alla vaccinazione dei suinetti
Macellazione dei primi suini NON vaccinati
140
120
100
80
60
40
20
0
ene-13
abr-13
jul-13
oct-13
ene-14
abr-14
jul-14
oct-14
ene-15
abr-15
jul-15
oct-15
ene-16
Categoria 1
Cat. 2
Cat. 3
Cat. 2
Cat. 1
Suini vaccinati
Suini NON vaccinati

Caso II

Azienda a ciclo chiuso

- 120 Scrofe
- Svezzamento ed ingrasso su paglia
- Elevato numero di gatti
- Silos granaglie aperti

Caso II

- Pulizia dei compartimenti vuoti unicamente con ramazze , a volte con sola acqua.
- Pessima qualità igenica dell'acqua e dell'alimento
- **Primavera 2015:** diarrea ad aumento degli scarti in svezzamento, Ingrasso in categoria 3

Strategia→ Vaccinazione delle scrofe e dei suinetti

Obbiettivo→ Riduzione della pressione infettante e rapido miglioramento della sintomatologia clinica.

NESSUN CAMBIAMENTO NELLE PRATICHE IGENICHE

Caso II

RISULTATI:

Svezzamento: suinetti vaccinati senza diarrea, accrescimento e pesi uniformi

	Giugno 2015		Febbraio 2016		Marzo 2017	
Zona campionata	**Swab**	**copriscarpa**	**swab**	**copriscarpa**	**swab**	**copriscarpa**
Corridoio scrofe	/	STM	/	Ceppo vacc.	/	STM
Sale parto	neg	neg	Ceppo vacc.	Ceppo vacc.	neg	Ceppo vacc.
Inizio svezzamento	/	STM	/	STM	/	STM
Svezzamento sala 1	/	STM	STM	STM	neg	STM
Svezzamento sala 5	STM	STM	STM	neg	neg	neg
Svezzamento vuoto	/	STM	STM	STM	Ceppo vacc.	STM
Trogolo acqua svezz. 1	STM	/	/	/	/	/
Trogolo acqua svezz. 2	STM	/	/	/	/	/
Box ingrasso vuoto	/	/	neg	STM	/	/
Ingrasso 1	STM	STM	neg	neg	neg	neg
Ingrasso 5	/	neg	neg	Ceppo vacc.	neg	neg
Polvere sui silos di magime	STM	/	neg	neg		neg
Polvere sulla paglia	STM	/	STM	neg	/	neg
Parte esterna dell'ingrasso	STM	/	neg	neg	/	neg
Feci di uccelli	/	/	neg	Ceppo vacc.	/	/

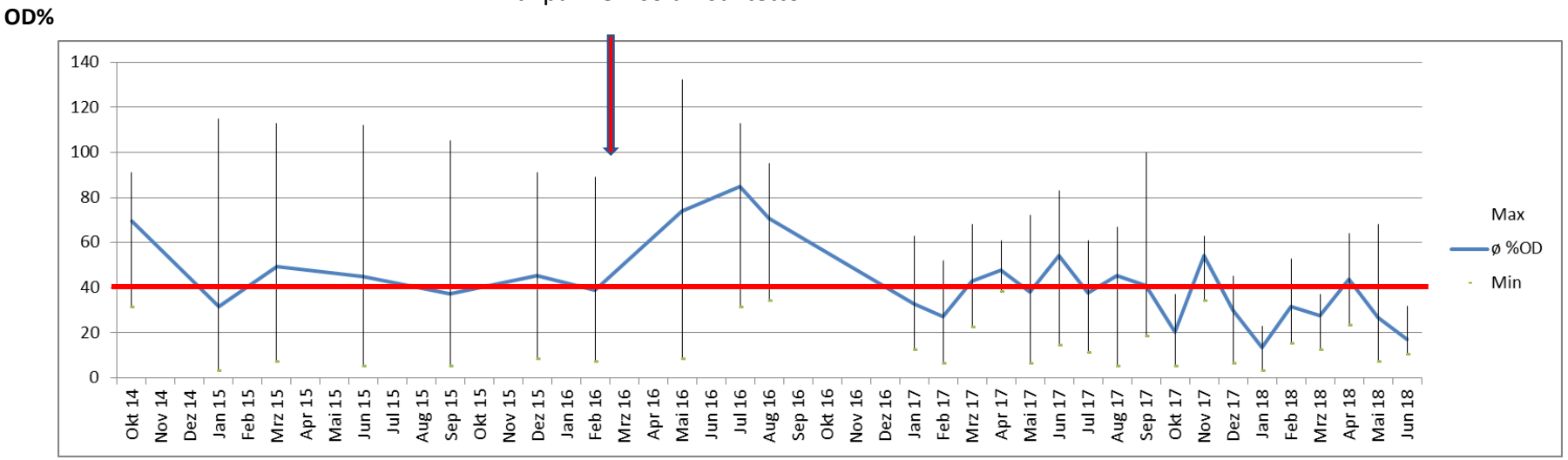
La vaccinazione è in grado di ridurre la prevalenza della Salmonella, anche quando non vengono migliorate le condizioni igieniche. In tal caso però potrebbe essere necessario un tempo piú lungo per raggiungere l'obbiettivo.

Caso II

RISULTATI

Ingrasso:

Caduta di molta polvere dal soffitto a causa dell'installazione di pannelli solari sul tetto



- La sola vaccinazione aiuta a risolvere il problema nel lungo termine
- L'igene è un aspetto essenziale per accellerare il processo

Caso III

Riproduttori- GP

Allevamento ciclo chiuso:

- 2000 scrofe/rimonta interna
- Alto livello sanitario: libero da HPS, M.hyo, APP, PRRSV

- **Inizio 2013** → gravi problemi di diarrea in svezzamento nonostante l'uso di mangime medicato per 14 gg post-svezzamento

- **Giugno 2013:** esame di 10 suinetti post-mortem: positivo a *S.*Typhimurium

Caso III

Strategia→Vaccinazione di scrofe e suinetti
Obbiettivo→ Riduzione della pressione infettante e rapido miglioramento della sintomatologia clinica.

Inoltre→ Miglioramento delle condizioni igeniche:

- Cambio stivali in ogni compartimento
- Lavaggio dei pavimenti dopo ogni spostamento degli animali..

Caso III

Protocollo di vaccinazione usato:

Suinetti:

- Vaccinazione di tutti i suinetti (2 dosi per OS) per un periodo di **11 mesi.**

Scrofette: a tutte le scrofette appena nate (anche nella nuova azienda di 3000 scrofe) si applica tuttoggi il seguente protocollo:

- 2 vaccinazioni orali (al 3° giorno di vita e allo svezzamento)
- booster 160 giorni di vita (via SC)
- 3 settimane prima di ogni parto (via SC)

Scrofe: Attivazione protocollo **nel 2015** (6 e 3 settimane pre-parto SC) e tuttoggi:

- booster 3 settimane pre-parto.

- Si mantengono le nuove misure d'igene

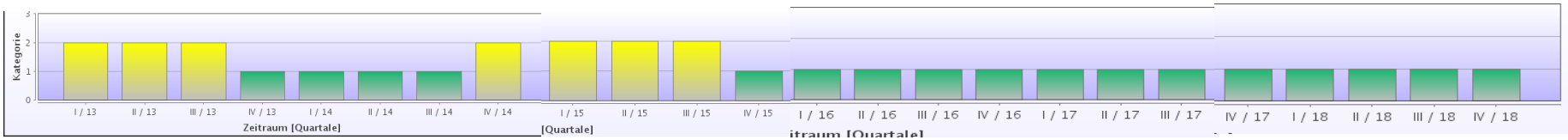
Caso III

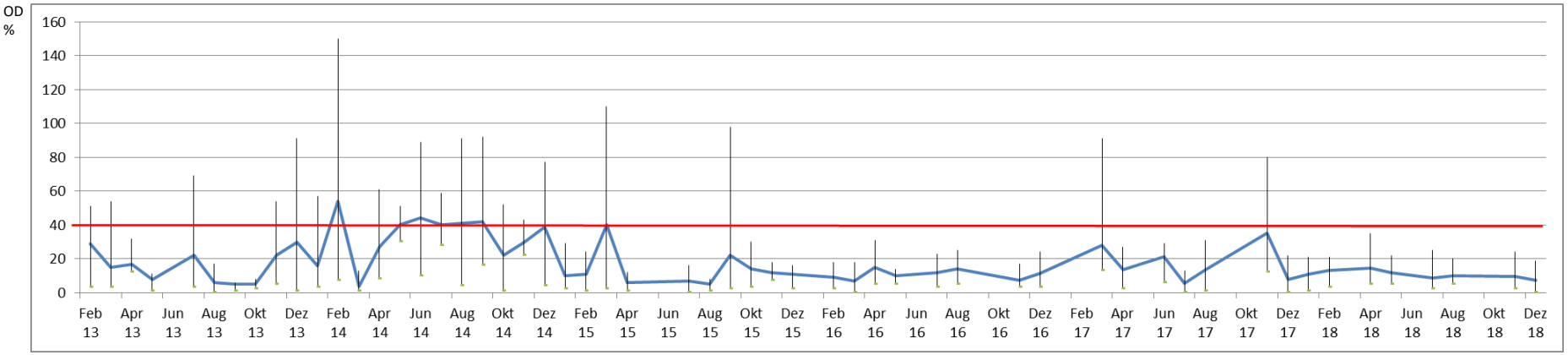
Risultati Svezzamento

	Marzo 2015		Ottobre 15		Giugno 16		Agosto 17	
Sala	swab	sovrascapra	swab	sovrascapra	swab	sovrascapra	swab	sovrascapra
1	/	/	/	/				/
2	/	/	/	/	/	S.C.	/	neg
3	neg	STM	neg	neg	neg	S.C		
4	/	/			neg	S.C.	/	neg
5	S. C	neg	neg	neg	neg	Ceppo vacc.	/	neg
6	/	/	neg	neg	/	neg		/
7	/	/	STM	STM	neg	neg	/	neg
8	neg	Ceppo vacc.	neg	neg	/	neg	/	neg
9	neg	neg	neg	STM	neg	neg	/	neg
10	neg	neg	/	STM	/	neg	/	neg
11	STM	neg	neg	STM			neg	neg
12	neg	STM	STM	Ceppo vacc.	/	neg	S.C.	/
13	neg	STM	neg	neg	/	/	neg	neg
14	neg	neg	neg	STM	/	Ceppo vacc.	/	/
15	neg	STM	neg	STM	/	neg	neg	S.C.
16	neg	neg	neg	S. E	/	neg	neg	neg
17	STM	neg	neg	S. E	/	neg	neg	S.C.
Corridio	/	/		neg			/	neg

Caso III

Risultati Ingrasso: 4 diverse unità produttive hanno lo stesso decorso nonostante alcune fossero inizialmente in categoria 3.





Caso III

Costruzione nuovo sito 1 (3000 scrofe): le prime scrofette entrano a dicembre 2014:

Importante:
IN AZIENDA SI INTRODUCONO SOLO SCROFETTE TRATTATE COL PROGRAMMA VACCINALE COMPLETO (vaccinazione orale e SC):

- Tale programma viene seguito tuttora. Non si vaccinano invece le scrofe

Caso III

	Jul 15		Apr 18	
door	swab	sock	swab	sock
22	neg	neg	neg	neg
1	neg	neg	neg	neg
2	neg	neg	/	/
3	neg	neg	neg	neg
4	neg	neg	/	/
5	neg	neg	neg	neg
6	neg	neg	/	/
7	neg	neg	/	/
8	neg	neg	neg	neg
9	neg	neg	/	/
10	neg	neg	/	/
11	neg	neg	neg	neg
12	neg	neg	neg	neg
13	neg	neg	/	/
14	neg	neg	/	/
15	neg	neg	/	/
16	neg	neg	/	/
17	neg	neg	neg	neg
18	neg	neg	neg	neg

Risultati Svezzamento

Nonostante le scrofette provengano da un ambiente ancora altamente contaminato, l'uso di un rigoroso programma vaccinale ha consentito l'ottenimento di suinetti apparentemente Negativi a Salmonella

Grazie per l'attenzione!