

VALUTAZIONE DELLO STRESS DETERMINATO DALLA MODALITÀ DI SOMMINISTRAZIONE DEL VACCINO IN SUINETTI DI CIRCA TRE SETTIMANE DI VITA

EVALUATION OF DISTRESS IN THREE WEEKS OLD PIGLETS IN RELATION TO THE ROUTE OF ADMINISTRATION OF THE VACCINE

MINERVINI S.¹, SCOLLO A.^{2,3}, CEVIDALLI, A.¹, BORTOLETTO G.¹, GOTTARDO F.²

¹ MSD, Animal Health, Italia; ² Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, Università degli Studi di Padova,

³ Libero Professionista Suivet

Parole chiave: benessere animale, vaccinazione, intradermica, suinetti

Key words: animal welfare, vaccination, intradermal, piglets

Riassunto: In medicina veterinaria non si può prescindere dal rispetto e miglioramento del benessere animale (BA) perciò si rende necessario valutare non solo l'efficacia tecnica di un dato intervento, ma anche il suo impatto sul BA. Lo studio ha inteso valutare i benefici in termini di BA della somministrazione del vaccino per *Mycoplasma hyopneumoniae* e PCV2 per via intradermica (ID) rispetto al metodo tradizionale intramuscolo con ago (IM). La ricerca ha utilizzato 106 suinetti in svezzamento (53 IM e 53 ID), su 18 suinetti/gruppo sono stati effettuati prelievi ematici per l'analisi del cortisolo mentre i rimanenti sono stati inclusi nei controlli comportamentali (4 sessioni di osservazioni di 40 min. a 0, 3, 24 e 48 h dalla vaccinazione). Su tutti i suinetti (106) sono stati effettuati dei filmati con registrazione audio al momento della vaccinazione per valutare le reazioni di fuga e le vocalizzazioni.

Le informazioni più rilevanti si sono ottenute dall'analisi video e audio dei filmati. Il 90% dei suinetti ID non ha manifestato alcuna reazione all'atto della vaccinazione vs il 55% del gruppo IM (P<0,001). Nel gruppo IM un 18% degli animali ha continuato ad agitarsi anche dopo la vaccinazione mentre per ID nessun suinetto ha manifestato questo comportamento (P<0,01). Nessuna vocalizzazione è stata emessa dal 55% dei suinetti ID vs il 25% del gruppo IM. Grida ripetute si sono registrate per il 50% dei suini IM e solo per il 13% degli ID (P<0,001).

Lo studio ha bene evidenziato il beneficio per il benessere del suino della vaccinazione intradermica senza ago in fase di inoculo. Merita un approfondimento la valutazione degli effetti positivi di ID sul comportamento dopo la vaccinazione e sul cortisolo, esiti che in questo studio sono emersi solo in modo tendenziale.

Abstract: In veterinary medicine, in order to address animal welfare (AW) issues, it is not sufficient to study only the technical effectiveness of a given intervention, but also to assess its impact on AW. The aim of the study was to evaluate the benefits in terms of AW of the intradermal administration (ID) of *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 vaccine compared to the traditional intramuscular needle method (IM). The research used 106 weaning piglets (53 IM and 53 ID), blood samples were taken from 18 piglets for each treatment group in order to perform the analysis of cortisol while the remaining were included in behavioral observations (4 sessions of observations of 40 min. at 0, 3, 24 and 48 h from vaccination). All piglets (106) were video and audio recorded at the time of vaccination to evaluate the flight reaction and the vocalizations.

The most relevant information was obtained from the video and audio analysis of the videos taken during vaccination. Ninety percent of ID piglets did not show any reaction at the time of vaccination vs 55% of the IM ones ($P < 0.001$). In the IM group, 18% of the animals continued to be agitated after vaccination, while for ID no piglet showed this behavior ($P < 0,01$). No vocalization was issued by 55% of ID piglets (25% of IM). Repeated screams were recorded for 50% of IM pigs and only for 13% of ID ($P < 0.001$). The study has highlighted the benefit for the welfare of the pig of needle-free intradermal vaccination in the inoculation phase. The evaluation of the positive effects of ID on the behavior after vaccination and on cortisol is worth investigating, considering that in this study they emerged only tententiously.

INTRODUZIONE

Si stima che approssimativamente il 70% della popolazione di suini in allevamento sia vaccinata contro *Mycoplasma hyopneumoniae*, e forse una percentuale ancora maggiore sia vaccinata contro il PCV2. I vaccini attualmente disponibili sul mercato hanno dimostrato di essere efficaci nella riduzione dei sintomi clinici, della mortalità, delle lesioni polmonari e nel miglioramento delle performance degli animali in caso di infezione da *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 [1].

Negli ultimi anni è stata inoltre paragonata l'efficacia della vaccinazione convenzionale con ago per via intramuscolare con la più recente via di vaccinazione intradermica senza ago e uno studio [2] ha confermato che per entrambe le vie di vaccinazione, la risposta umorale sistemica, quella cellulosa-mediata e quella locale sono ben stimolate.

Tuttavia, in risposta al crescente interesse dell'opinione pubblica che reputa gli animali esseri senzienti si rende necessario non solo studiare l'efficacia di un dato intervento, ma anche il suo impatto sul benessere animale. Il BA è argomento di grande attualità per tutto il comparto zootecnico e, per il suino, lo è in modo particolare.

Oltre alle tematiche generali, già da tempo oggetto di discussione, e trasversali a tutte le categorie di animali da reddito quali la disponibilità di spazio e le caratteristiche della pavimentazione, più recentemente il tema della riduzione del dolore legata alle mutilazioni zootecniche quali castrazione, taglio della coda e limatura dei denti ha acquisito notevole importanza. Su queste ultime problematiche sono stati pubblicati recentemente numerosi lavori [3], [4], [5]. Data la sensibilità manifestata dall'opinione pubblica, il tema della riduzione della sofferenza degli animali da reddito si sta estendendo anche ad altre pratiche, tra queste ci sono i trattamenti sanitari che prevedono l'uso dell'ago [6]. Questo studio ha quindi voluto valutare la risposta comportamentale e fisiologica dei suinetti al momento della somministrazione del vaccino per *Mycoplasma hyopneumoniae* e PCV2 mediante via intramuscolare con ago (gruppo IM) rispetto ad un sistema senz'ago per via intradermica (gruppo ID) estendendo i rilievi sperimentali ai giorni seguenti la vaccinazione.

MATERIALE E METODI

Lo studio si è svolto in una scrofaia a ciclo aperto della Provincia di Brescia, utilizzando 106 suinetti di età compresa tra le 3 e le 4 settimane. I suinetti da includere nello studio sono stati selezionati a 2 settimane di vita da 14 nidiata di scrofe pluripare, scegliendo in ogni nidiata 3 o 4 suinetti per tesi (6/8 suinetti/scrofa) di peso simile (peso medio iniziale: 5,31 kg Gruppo IM e 5,38 kg gruppo ID). I suinetti sono stati identificati con marca auricolare di colore giallo per il gruppo IM (53 suinetti) e verde per il gruppo ID (53 suinetti). Nei due giorni seguenti gli animali sono stati svezzati e spostati in un locale svezzamento sito nella stessa scrofaia. Tutte le operazioni di selezione e marcatura degli animali da mettere in prova sono state effettuata circa 10 giorni prima della vaccinazione per evitare che lo stress legato a queste

pratiche potesse interferire con le rilevazioni di parametri fisiologici e comportamentali durante la prova. Nel locale svezzamento, gli animali dei due gruppi sperimentali sono stati mescolati ed egualmente ripartiti in 4 box con pavimentazione a grigliato di plastica, ventilazione artificiale ed alimentazione a secco a volontà. A circa 26 giorni di vita, gli animali sono stati vaccinati con la modalità prevista dal proprio gruppo sperimentale.

I suinetti appartenenti al gruppo ID sono stati vaccinati per *Mycoplasma hyopneumoniae* e PCV2 somministrando rispettivamente da un lato del collo 0,2 ml di Porsilis® M Hyo ID Once (MSD Animal Health) e dall'altro lato 0,2 ml di Porcilis® PCV ID (MSD Animal Health) entrambi inoculati per via intradermica impiegando due apparecchi per la vaccinazione senza ago IDAL™ (MSD Animal Health).

I suinetti appartenenti al gruppo IM sono stati vaccinati per gli stessi patogeni, come era già in uso fare l'azienda suinicola selezionata, somministrando sullo stesso lato del collo 2 ml di Stellamune One (Eli Lilly It. Spa Div. Elanco) e 2 ml di Suvaxyn PCV (Zoetis). Per la somministrazione è stata utilizzata una siringa multidose con doppio ago e doppio connettore in modo da inoculare entrambi i vaccini con un unico gesto. Gli aghi utilizzati erano di acciaio e avevano un calibro di 21 G e lunghezza di 16 mm, questi sono stati sostituiti ad ogni cambio di box di animali da vaccinare.

Rilievi sperimentali:

Tutti gli animali sono stati pesati individualmente in sala parto a due settimane dalla nascita (al momento del reclutamento), e di nuovo 48 ore dopo la vaccinazione.

Le rilevazioni comportamentali hanno previsto:

1. Al momento della vaccinazione, la realizzazione per tutti gli animali coinvolti nello studio di un filmato completo di audio per riprendere in dettaglio la reazione nel momento dell'inoculo. Ogni filmato è stato successivamente analizzato da un osservatore che non aveva partecipato alla rilevazione in campo. Il rilevatore ha attribuito un punteggio alla reazione di fuga alla vaccinazione (0 = Rimane fermo e non necessita di sforzi per il contenimento; 1 = Si muove al momento della vaccinazione per poi tornare fermo; 2 = Continua ad agitarsi anche dopo la vaccinazione fino al riposizionamento a terra) e alle vocalizzazioni emesse (0 = Nessuna vocalizzazione o brevi grugniti; 1 = Grugnisce ripetutamente ed emette non più di un grido; 2 = Emette almeno due grida).
2. Dopo la vaccinazione su 48 suinetti (24 per ciascun gruppo sperimentale) sono state effettuate ulteriori osservazioni comportamentali applicando l'*Istantaneous Scan Sampling* [7], il metodo prevede la registrazione ad intervalli di 5 minuti della posizione occupata da ciascun suinetto nel box (al centro del box sotto la lampada, ai lati del box vicino alla mangiatoia o in un angolo del box), se l'animale è isolato o, invece, è a contatto con i compagni ed, infine, l'attività svolta (riposa in decubito, è in piedi inattivo, è in piedi e svolge una qualche attività esplorativa o di gioco, mangia). Le osservazioni comportamentali della durata di 40 minuti si sono ripetute per 4 volte a 0, 3, 24 e 48 ore rispetto al momento della vaccinazione per valutare il comportamento tre giorni seguenti la vaccinazione. Il numero progressivo della marca auricolare di ciascun suinetto è stato trascritto con pennarello sulla schiena dell'animale al momento del contenimento per la vaccinazione. In questo modo si è facilitato il riconoscimento individuale dei soggetti da sottoporre ad osservazione senza che fosse necessario avvicinarsi agli animali e senza creare disturbo agli stessi. Le osservazioni comportamentali sono iniziate una volta completata la vaccinazione di tutti gli animali del box.

Il cortisolo plasmatico è stato misurato su campioni raccolti da 18 suinetti per tesi, utilizzando animali diversi da quelli reclutati per l'osservazione comportamentale per evitare che la manipolazione dovuta al prelievo ematico potesse influenzare il comportamento degli animali. I campioni di sangue sono stati prelevati dalla vena cava anteriore usando siringhe da 2.5 ml e poi conservati in provette senza anticoagulante. I prelievi sono stati effettuati 1 ora prima

della vaccinazione al fine di indentificare il livello basale individuale di ciascun soggetto e poi ripetuti 30 minuti e due ore dopo la vaccinazione.

I dati relativi alle reazioni di fuga e alle vocalizzazioni sono stati analizzati utilizzando il test di confronto per K proporzioni, i dati comportamentali sono stati analizzati mediante analisi della varianza usando un modello che ha considerato l'effetto del trattamento, della rilevazione e della relativa interazione. I dati del cortisolo sono invece stati elaborati applicando un modello per analisi ripetute e covariato per il valore basale di cortisolo.

RISULTATI

Le informazioni più rilevanti dello studio si sono ottenute dall'analisi dei video registrati durante la vaccinazione che hanno fatto emergere le maggiori differenze tra i due gruppi. Osservando i dati relativi alla reazione di fuga riportati in figura 1a si nota che il 90% dei suinetti del gruppo ID non ha manifestato alcuna reazione all'atto della vaccinazione contro il 55% di quelli del gruppo IM ($P<0,001$). Per quest'ultimo gruppo il 18% degli animali ha continuato ad agitarsi anche dopo la vaccinazione fino al riposizionamento a terra mentre nessuno dei suinetti ID ha manifestato questa risposta comportamentale ($P<0,01$). La figura 1b si riferisce alle vocalizzazioni emesse durante la vaccinazione e conferma quanto già osservato in termini di reazioni. Il 55% dei suinetti ID contro il 25% di quelli IM non ha emesso nessuna vocalizzazione ($P<0,008$) mentre grida ripetute si sono registrate per il 50% dei suini IM e solo il 13% degli ID ($P<0,001$). Per i restanti comportamenti osservati non si sono registrate differenze statisticamente significative come medie generali tra trattamenti, tuttavia per i comportamenti "in piedi e attivo a svolgere attività esplorative e/o di gioco" e "mangia" i valori registrati a tre ore dalla vaccinazione mostrano una tendenza statistica ($P=0,10$) e sono maggiori per il gruppo ID rispetto a quello IM. Relativamente al cortisolo, seppur in assenza di un pieno effetto della modalità di vaccinazione ($P=0,08$), per la somministrazione ID si registrano concentrazioni medie inferiori al netto dei valori basali registrati prima della vaccinazione. Per quanto riguarda pesi ed accrescimenti non si sono registrate differenze significative tra i 2 due gruppi.

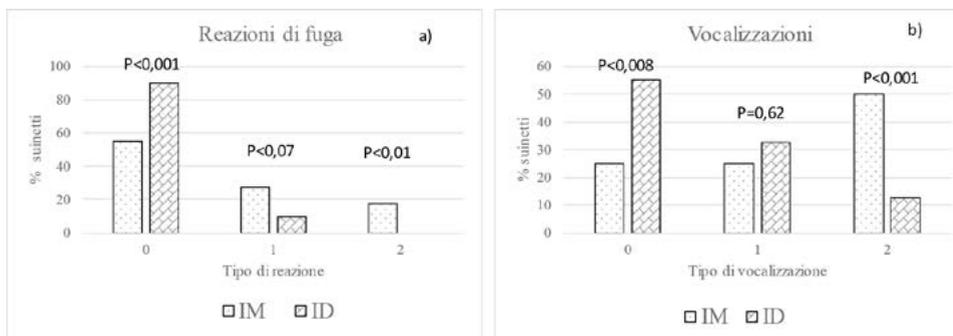


Figura 1 a) Reazioni di fuga dei suinetti al momento della vaccinazione (0 = Rimane fermo; 1 = Si muove al momento della vaccinazione per poi tornare fermo; 2 = continua ad agitarsi anche dopo la vaccinazione fino al riposizionamento a terra); 2 b) Vocalizzazioni emesse dai suinetti al momento della vaccinazione (0 = nessuna vocalizzazione o brevi grugniti; 1 = Grugnisce ripetutamente ed emette non più di un grido; 2 = Emette almeno due grida).

Figure 1 a) Flight reaction of piglets at the time of vaccination (0 = It remains still, 1 = It moves at the time of vaccination after which it remain still, 2 = It continues to fidget even after handling has ceased. Figure 1 b) vocalizations issued by piglets at the time of vaccination (0 = No vocalization or short grunts; 1 = repeated grunts and issues no more than 1 scream; 2 = Issues at least two screams).

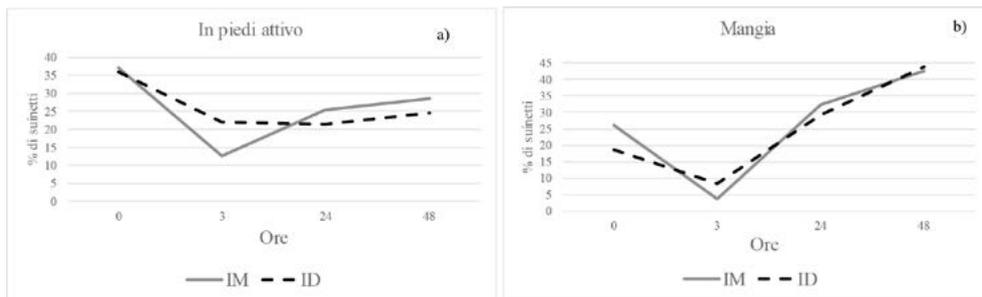


Figura 2 a) % di suinetti in piedi e attivi in diverse sessioni di osservazione; 2 b) % di suinetti che si stanno alimentando durante diverse sessioni di osservazione

Figure 2 a): % of piglets standing and active during different observation sessions; 2 b) % of piglets eating during different observation sessions

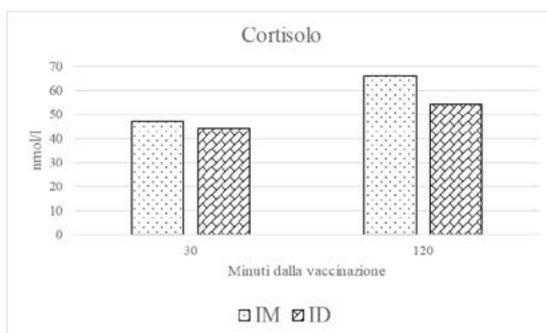


Figura 3: Concentrazione del cortisolo ematico

Figure 3: Blood concentration of cortisol

DISCUSSIONE

La vaccinazione rappresenta un fattore stressante per il suinetto sia perché richiede un parziale contenimento dell'animale sia per la fase di inoculo vera e propria. I dati raccolti in questo studio confermano per la vaccinazione l'esistenza di uno stress collegato principalmente alla modalità di inoculo del vaccino stesso. L'uso dell'ago provoca nella maggior parte dei soggetti una reazione di fuga e l'emissione di urla che sono associate a stati di ansia e dolore [8] intenso. Il presente studio dimostra come l'assenza di ago (vaccinazione ID) può in gran parte evitare questo stato di sofferenza. Relativamente alla durata dello stato di sconforto, questa ricerca non sembra dare una indicazione definitiva sulle capacità di ripresa dei suinetti nei giorni successivi alla vaccinazione. La modalità di somministrazione del vaccino sembra invece influire chiaramente sul tempo di recupero. Infatti nell'osservazione fatta 3 ore dopo la vaccinazione i suinetti ID sembrano più motivati ad esplorare e ad alimentarsi. Questi comportamenti sono indicatori di una più veloce ripresa dopo la vaccinazione [9]. I dati medi del cortisolo e di comportamento sembrano indicare un minor stress del gruppo ID anche nel medio periodo.

CONCLUSIONI

Lo studio ha bene evidenziato il beneficio della vaccinazione intradermica in termini di

benessere soprattutto nel momento della somministrazione del vaccino. Questo beneficio è misurabile attraverso una ridotta manifestazione di comportamenti di fuga e una modesta produzione di vocalizzazioni di elevata intensità dei suoni ID. Ulteriori approfondimenti per confermare i benefici della vaccinazione intradermica anche nel medio-lungo periodo sono auspicabili. In questo studio tali effetti sono emersi solo in modo tendenziale suffragati dalla manifestazione di comportamenti esplorativi, di ingestione e dai più bassi valori di cortisolo ematico.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Maes, D., Segales, J., Meyns, T., Sibila, M., Pieters, M., Haesebrouck, F., 2008. "Control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs". *Vet. Microbiol.* 126, 297–309.
- [2] Martelli, P., Cordioli P., Alborali L.G., Gozio S., De Angelis E., Ferrari L., Lombardi G., Borghetti P., 2007. "Protection and immune response in pigs intradermally vaccinated against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) and subsequently exposed to a heterologous European (Italian cluster) field strain". *Vaccine* 25: 3400-3408.
- [3] Gottardo F., Scollo A., Contiero B., Ravagnani A., Tavella G., Bernardini D., De Benedictis G. M., Edwards S. A. (2016) "Pain alleviation during castration of piglets: a comparative study of different farm options". *J. Anim. Sci.* 94: 1-12.
- [4] Di Giminiani P., Brierley V. L. M. H., Scollo A., Gottardo F., Malcolm E. M. Edwards, S.A. Leach, M. C. (2016) "The Assessment of Facial Expressions in Piglets Undergoing Tail Docking and Castration: Toward the Development of the Piglet Grimace Scale" *Frontiers in Vet. Sci.* 3
- [5] Scollo A., Contiero B., Gottardo F. (2016) "Frequency of tail lesions and risk factors for tail biting in heavy pig production from weaning to 170kg live weight". *Vet. J.* 207:92-98.
- [6] Sutherland M.A., (2015) "Welfare implications of invasive piglet husbandry procedures, methods of alleviation and alternatives: a review", *New Zealand Vet. J.* Vol. 63, 1-17.
- [7] Martin, P., Bateson, P., 1993. *Measuring Behaviour, an Introductory Guide.* Cambridge University Press, Cambridge.
- [8] Weary D.M., Braithwaite L.A., Fraser D. (1998) "Vocal response to pain in piglets". *App. Anim. Behav. Sci.* 56: 161-172.
- [9] Leslie E., Hernández-Jover M., Newman R., Holyoake P., (2010) Assessment of acute pain experienced by piglets from ear tagging, ear notching and intraperitoneal injectable transponders. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 127, 86-95.