



Applicazione di probiotici in campo animale: opportunità e sfide

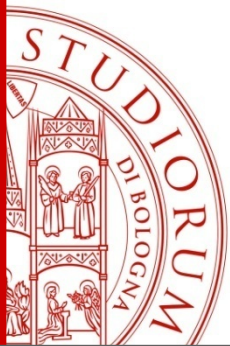
Dott.ssa Loredana Baffoni

Dott.ssa Francesca Gaggia

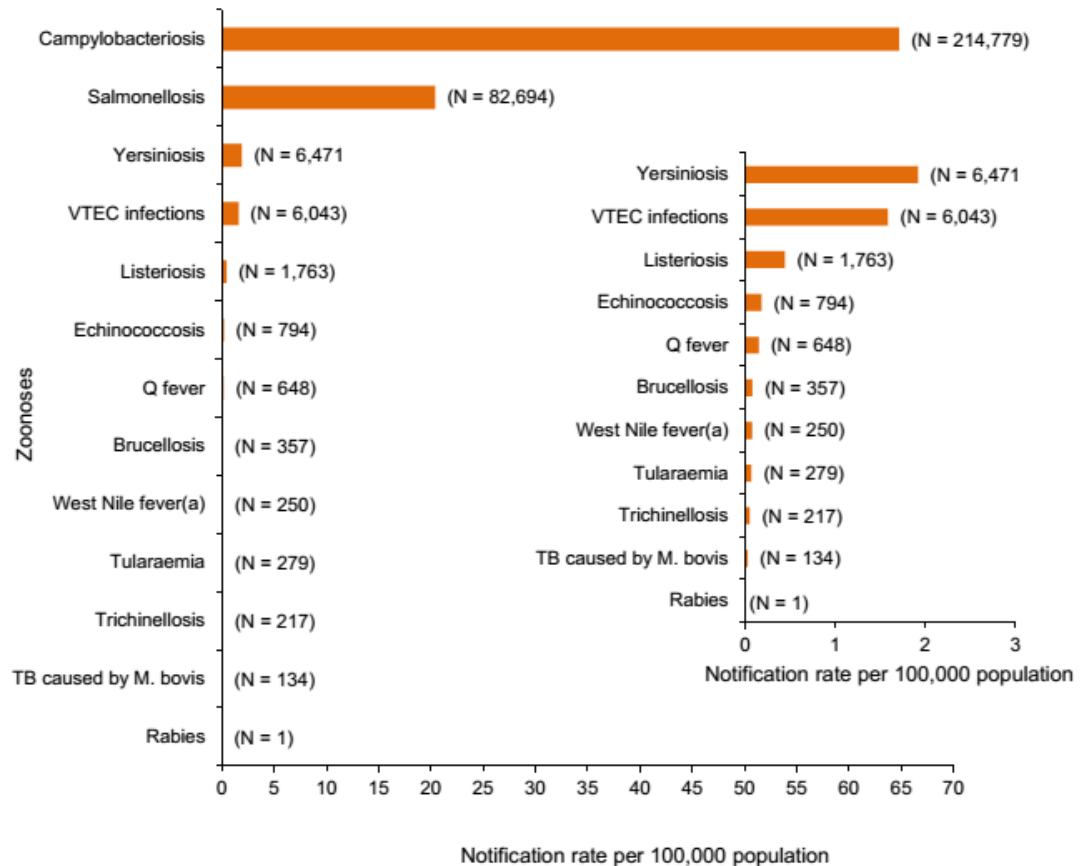
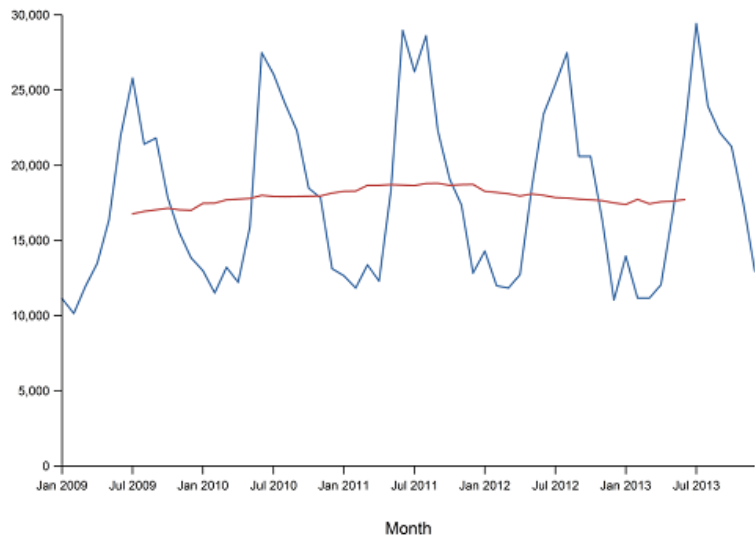
Prof.ssa Diana Di Gioia

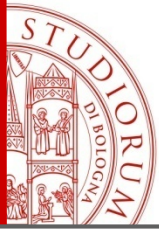
Dip. Scienze Agrarie - Microbiologia

Alma Mater Studiorum, Bologna

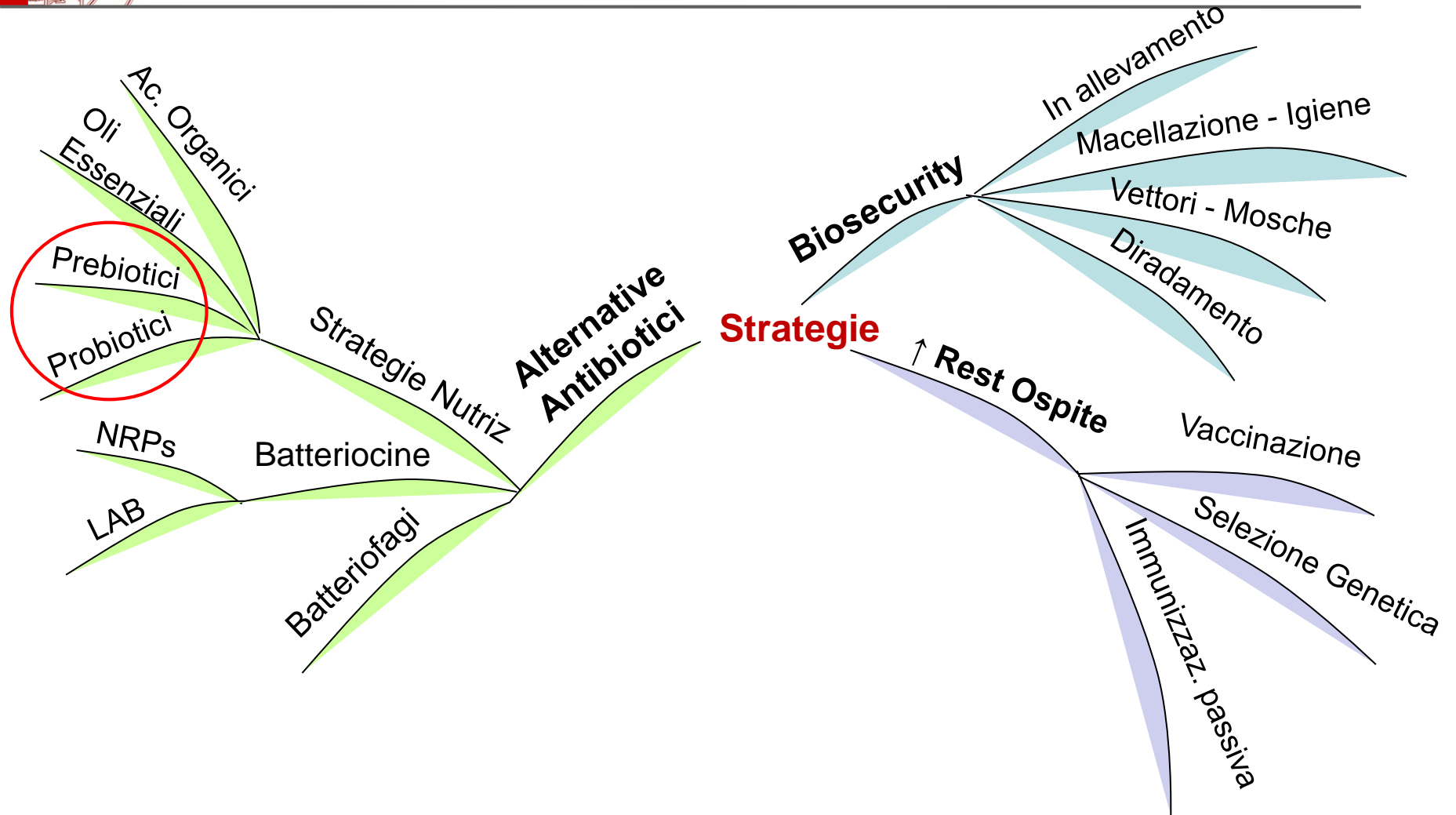


ZOONOSI EU





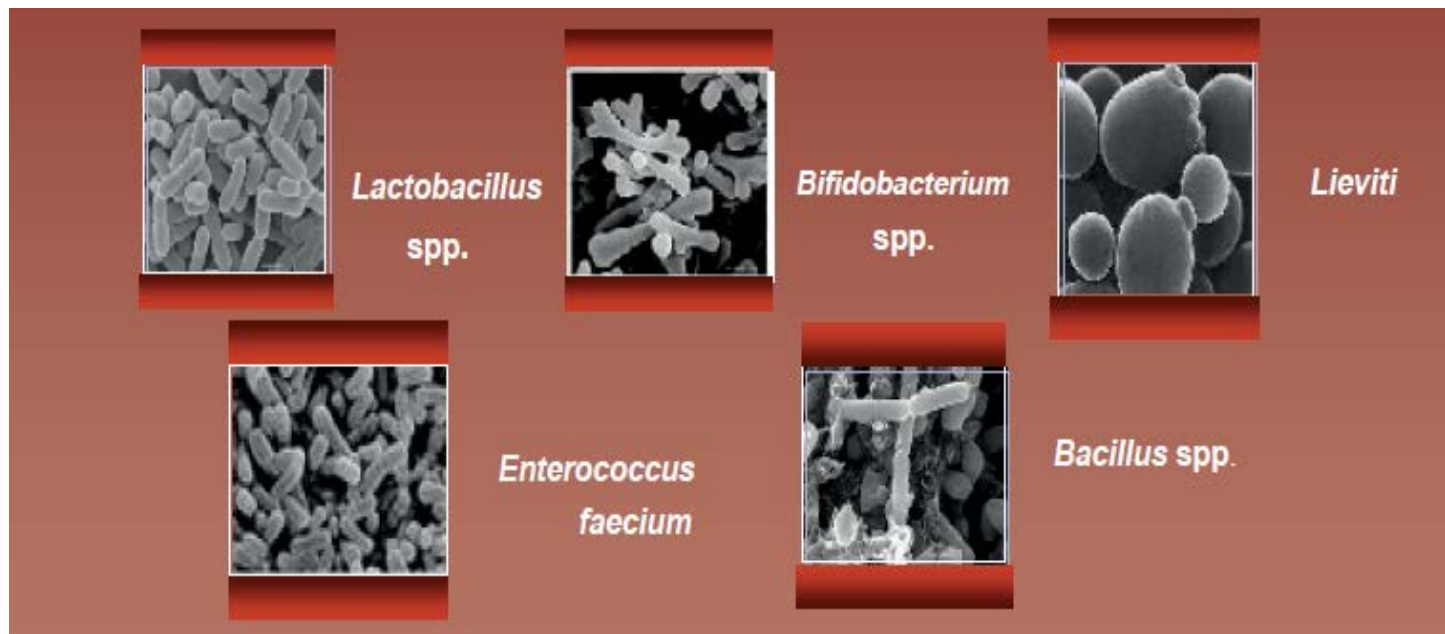
STRATEGIE STUDIATE



PROBIOTICI

“Microrganismi vitali che, ingeriti in adeguate quantità, conferiscono proprietà benefiche all’ospite, senza necessariamente colonizzare il tratto gastrointestinale”

FAO/WHO, (2002)



PREBIOTICI

In base al numero di monomeri legati tra loro i prebiotici possono così essere classificati:

- **Disaccaridi**
- **Oligosaccaridi (3-10 monomeri)**
- **Polisaccaridi**

Prebiotici più comunemente utilizzati

- Lattulosio**
- Inulina**
- Frutto-oligosaccaridi (FOS)**
- Galatto-oligosaccaridi (GOS)**
- Transgalatto-oligosaccaridi (TOS)**
- Xilo-oligosaccaridi (XOS)**



La modulazione del microbiota intestinale tramite la dieta può essere ottenuta mediante somministrazione per via orale di

Composti prebiotici

Il concetto di "prebiotico" fu proposto per la prima volta da Gibson e Roberfroid nel 1995:

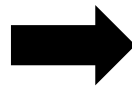


"ingredienti fermentati selettivamente che inducono specifici cambiamenti sia nella composizione che nell'attività del microbiota gastrointestinale, apportando benefici per il benessere e la salute dell'ospite"

Perchè è importante il microbiota?

DIVERSITA' FUNZIONALE

MICROBIOMA



10⁶ GENI

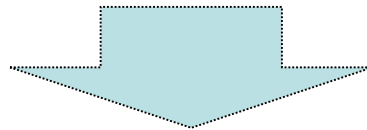
58% conosciuti

42% non
conosciuti

- metabolismo dei carboidrati (CAZymes)
- metabolismo energetico
- metabolismo aminoacidi
- biosintesi di metaboliti secondary-cofattori-vitamine

Perchè è importante il microbiota?

- Miglioramento delle **funzioni digestive**
- Sintesi di vitamine
- **Barriera contro colonizzatori e invasori patogeni**
- Sviluppo, educazione e funzioni del **sistema immunitario**
- Rafforzamento dell'**impermeabilità epiteliale**
- Detossificazione da xenobiotici



IMPLEMENTAZIONE CON CEPPI PERFORMANTI



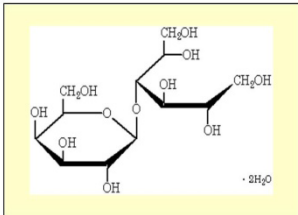
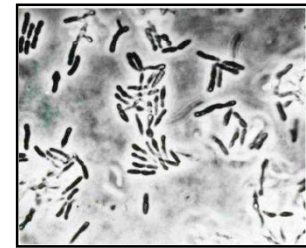
Probiotici e prebiotici in mangimi: alternative all'uso di antibiotici

~~ANTIBIOTICI~~

regolamento n. 1831/2003 CE

PROBIOTICI (es: bifidobatteri, lattobacilli)

- Modulazione microbiota
- Inibizione patogeni
- Performance dell'animale
- Digeribilità nutrienti

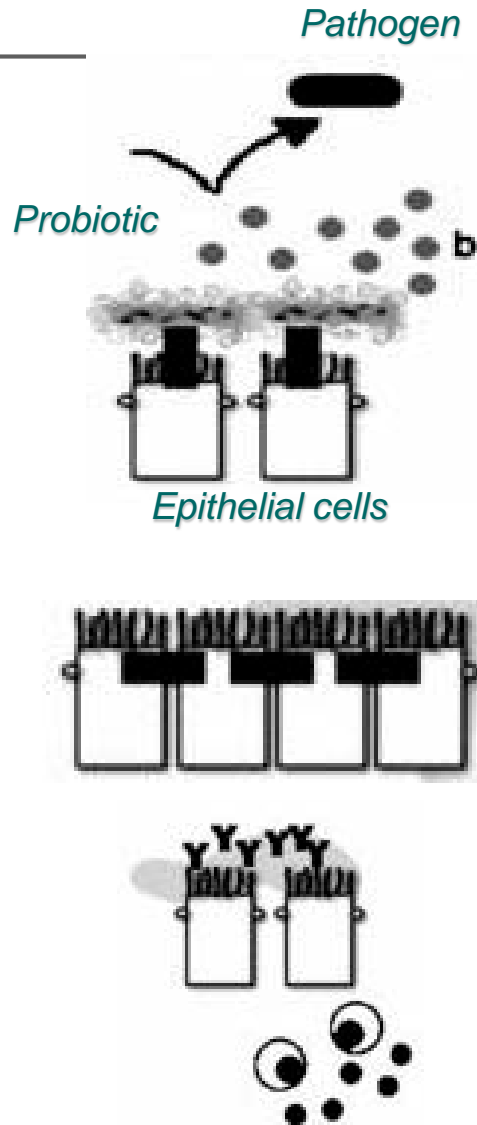


PREBIOTICI (es: FOS, GOS, XOS)

- Modulazione del microbiota (batteri "benefici")
- Substrati per la fermentazione
- Produzione di prodotti finali della fermentazione
- Effetti benefici nel lume intestinale

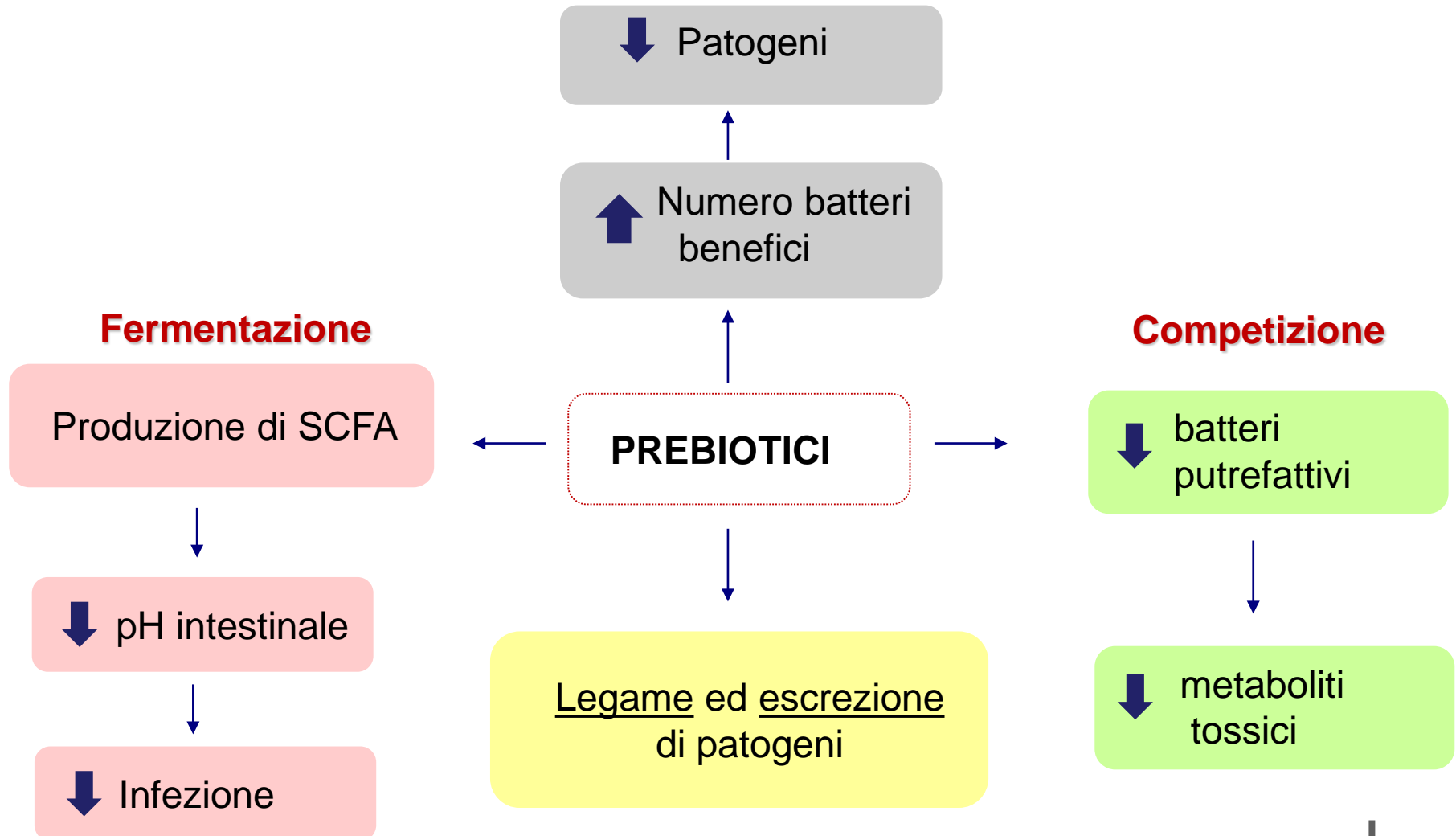
SINBIOTICI

PROBIOTICI NEGLI ANIMALI: meccanismi

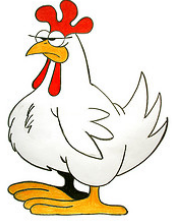


- Produzione di molecole antimicrobiche
 - ❖ Batteriocine e acidi organici
- Competizione con i patogeni
 - ❖ Siti di adesione & nutrienti
- Contributo all'integrità dell'epitelio
 - ❖ Effetto barriera
- Modulazione del sistema immunitario
 - ❖ Innato e adattativo

PREBIOTICI NEGLI ANIMALI: meccanismi



Esperienza UNIBO



Campylobacter jejuni



1. Screening *in vitro* di ceppi probiotici contro patogeni
2. Screening *in vitro* prebiotici
3. Trial *in vivo* dei 2 migliori probiotici
4. Trial *in vivo* dei 2 migliori prebiotici
5. Trial *in vivo* del sinbiotico

“*B. longum* PCB133 + GOS”

S. enterica serovar *typhimurium*
E. coli K88



1. Screening *in vivo* di ceppi probiotici
Screening *in vivo* prebiotici
2. Challenge *in vivo* dei 2 migliori probiotici
3. Challenge *in vivo* del nitrato
4. Trial *in vivo* del sinbiotico + nitrato

“FOS + KNO₃ + *B. animalis* Ra18”

CRITERI DI SELEZIONE DI UN PROBIOTICO



Trial *in vivo*

Modulazione Sist. Immunitario – citotossicità

Capacità di aderire all'epitelio

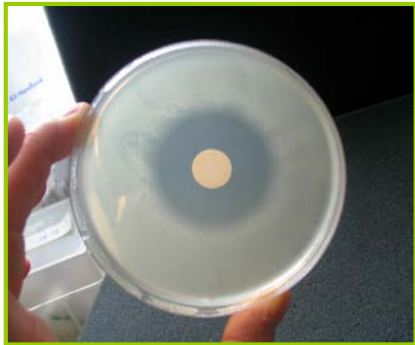
Attività antimicrobica vs patogeni target

Resistenza al tratto gastrointestinale

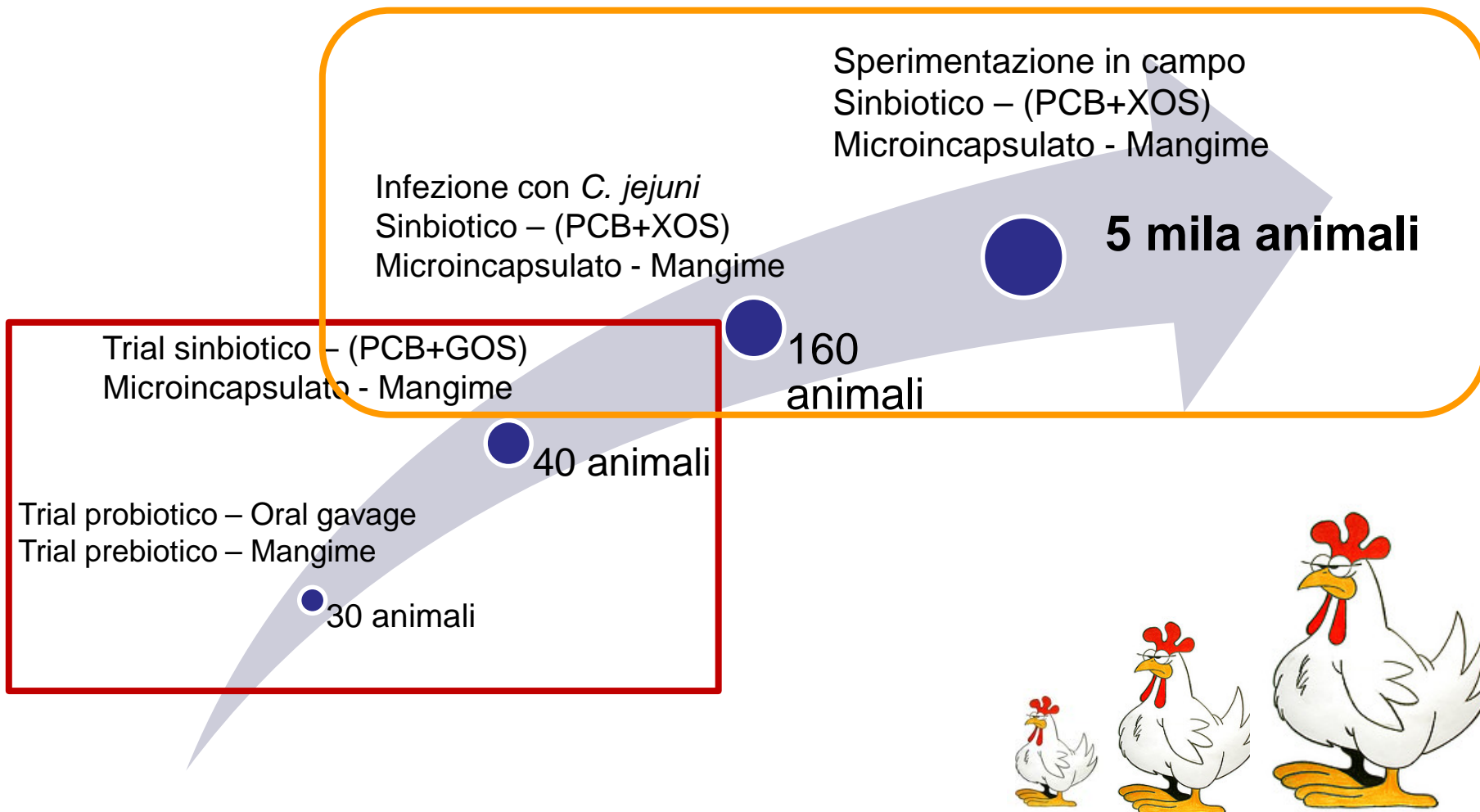
Resistenza alla produzione e conservazione

Antibiotico resistenza

Identificazione tassonomica

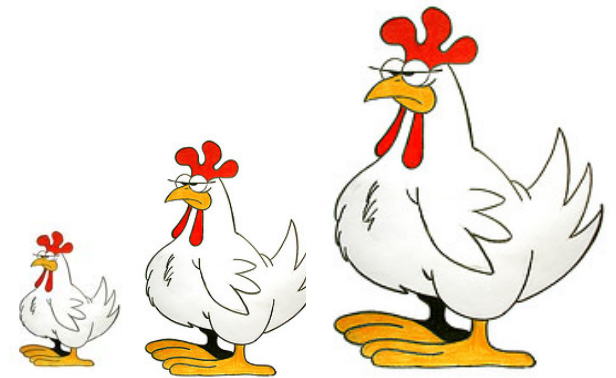
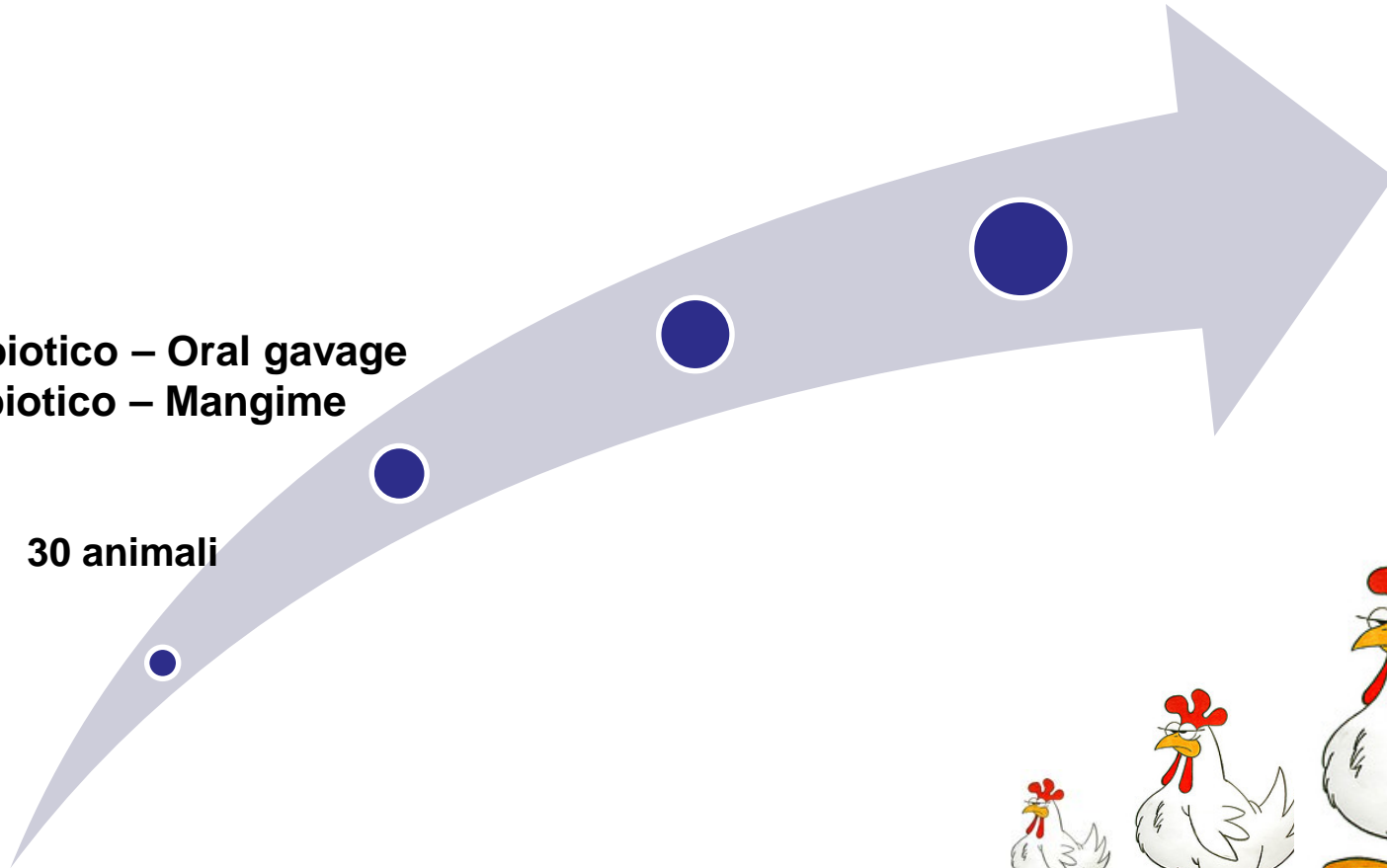


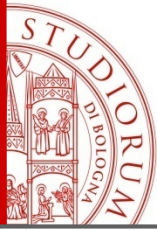
~ 100 ceppi testati



Trial probiotico – Oral gavage
Trial prebiotico – Mangime

30 animali





Conclusioni Preliminari:

- ✓ *Bifidobacterium longum* PCB133 mostra persistenza nel tratto GI
- ✓ Oral gavage → in num. di PCB133 è contenuto
- ✓ Diminuzione significativa di *C. jejuni*

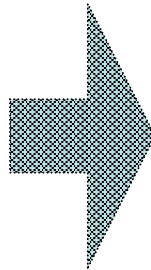
Gruppo PCB133

Aumento dei bifidobatteri ($p < 0.05$)

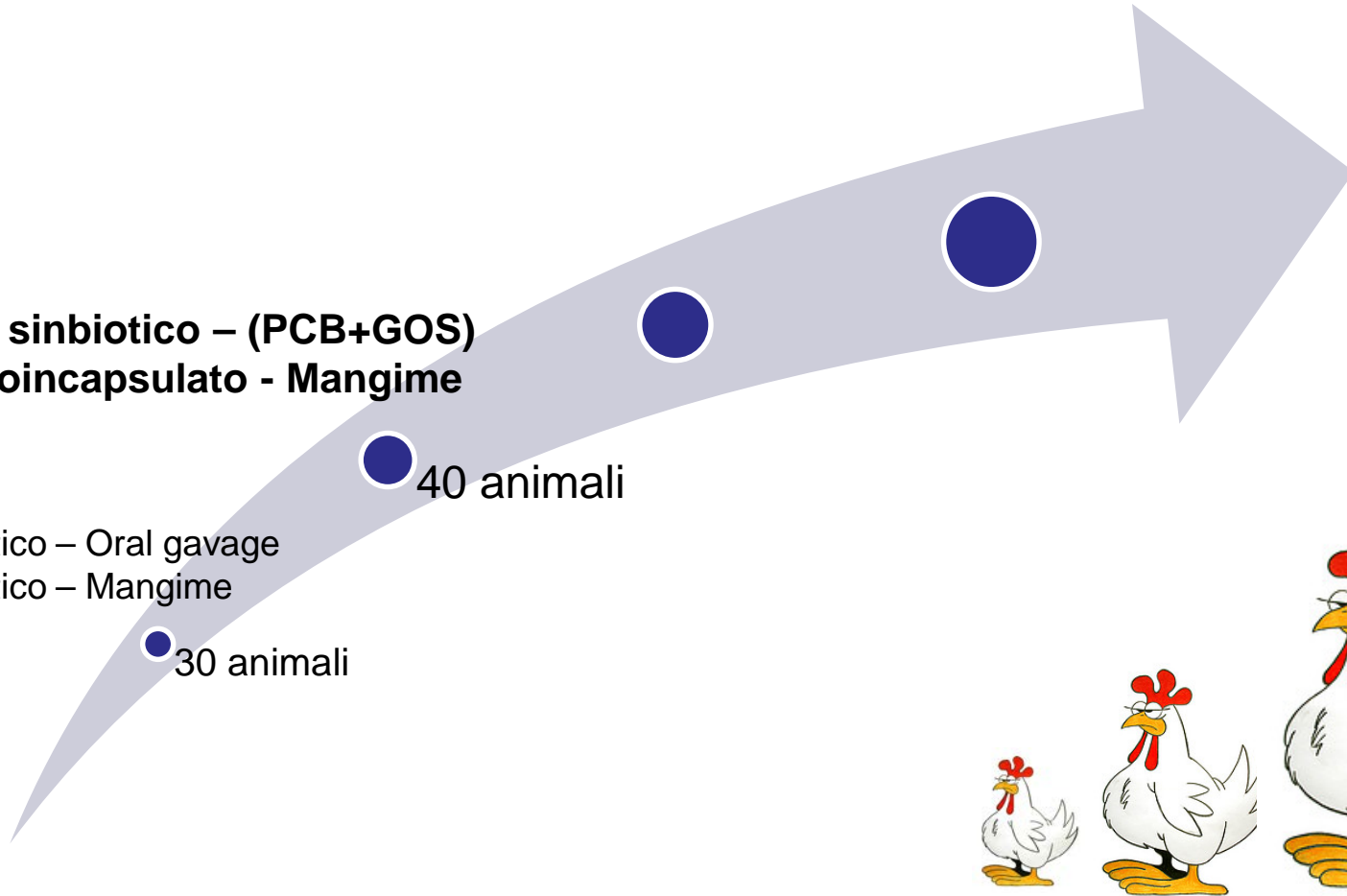
Diminuzione di *Campylobacter* spp. ($p < 0.01$)

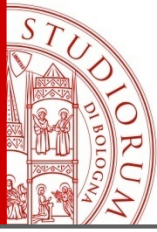
Gruppo GOS

SCELTA



B. longum PCB133 + GOS

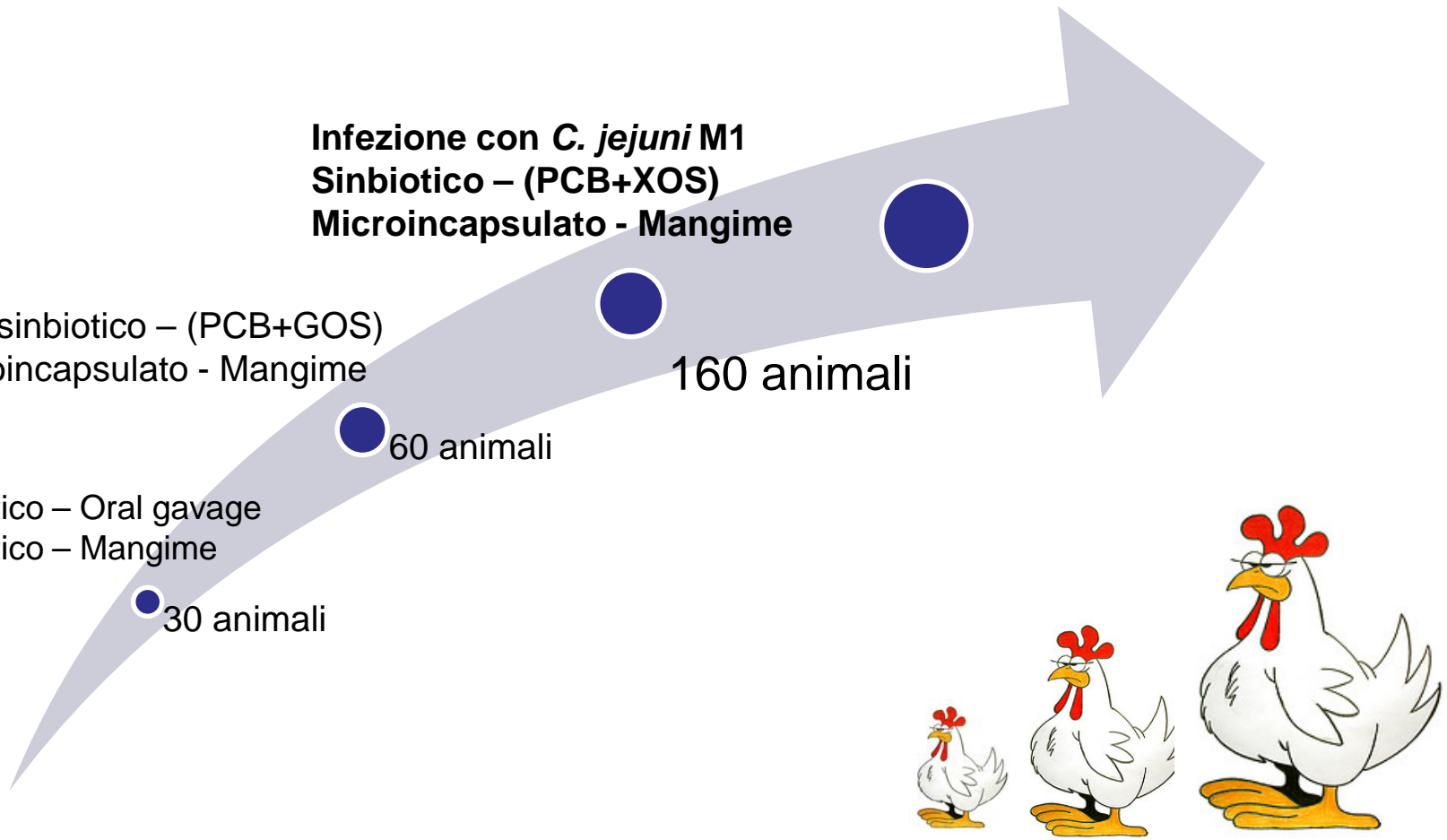




Trattamento SYN: Conclusioni Analisi Quantitativa

- ✦ Microincapsulazione efficace nel proteggere il ceppo durante il transito gastrico ($\sim 10^8$)
- ✦ *B. longum* PCB133 mostra una buona persistenza nell'intestino
- ✦ Aumento della popolazione totale dei bifidobatteri
- ✦ Diminuzione significativa di *C. jejuni* infez. naturale; riduz (~ 1 log)





SPERIMENTAZIONE

✓ Animali Infettati con *C. jejuni* M1 ~ 10⁵ CFU ad 1 giorno di vita

160

GRUPPO A: mangime convenzionale – controllo

GRUPPO B: sinbiotico dal 14° giorno di vita

GRUPPO C: sinbiotico dal 1° giorno di vita

GRUPPO D: probiotico dal 14° giorno di vita



Challenge

**Check
infezione**

1 d

5d

10d

I Campionamento

20d

II Campionamento

30d

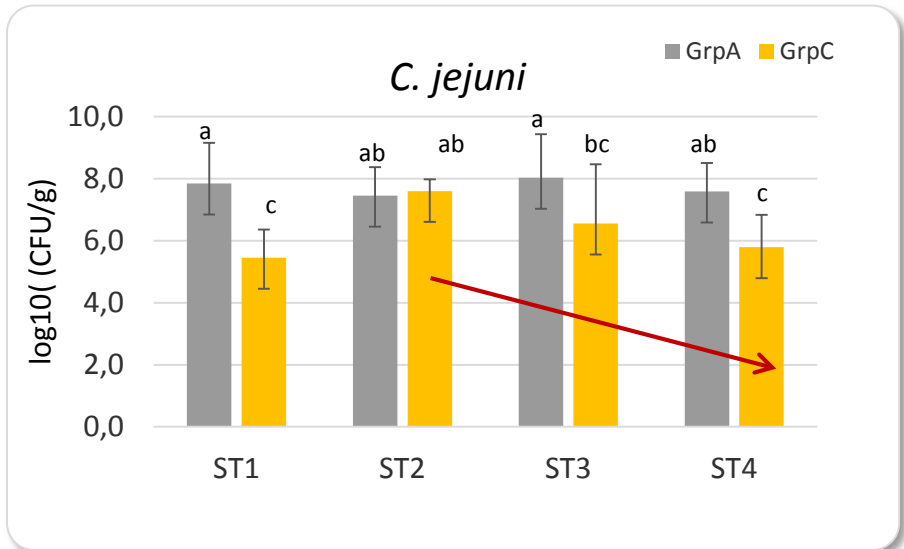
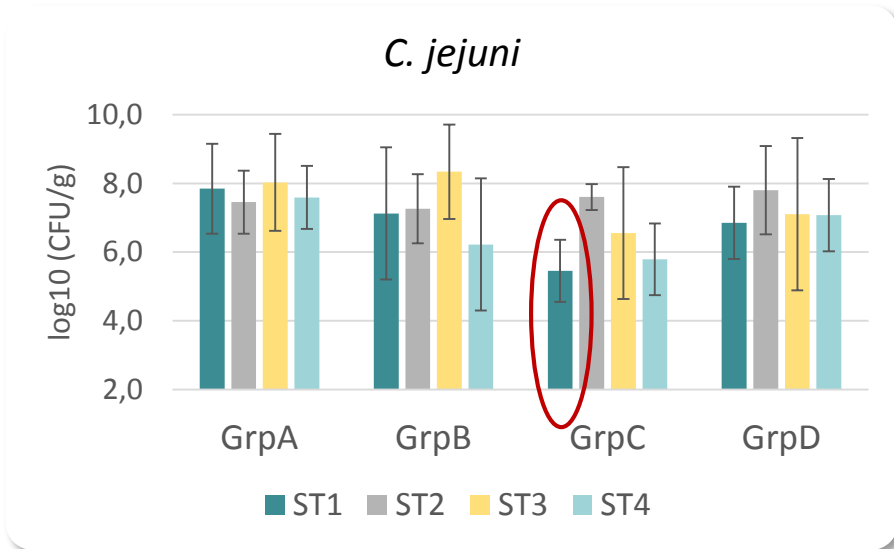
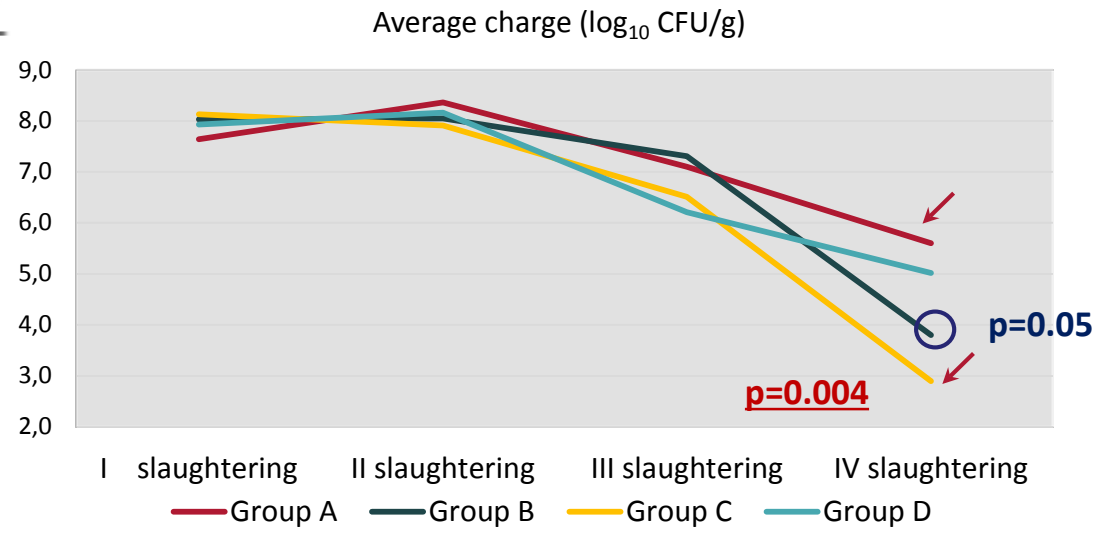
III
Campionamento

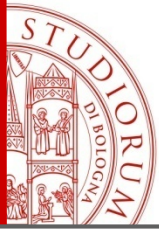
39d

IV Campionamento



RISULTATI Campionamento Cecale : conte in piastra e qPCR





INFLUENZA SUL MICROBIOTA

ANALISI DGGE DEL MICROBIOTA CECALE con primer per il 16S rDNA

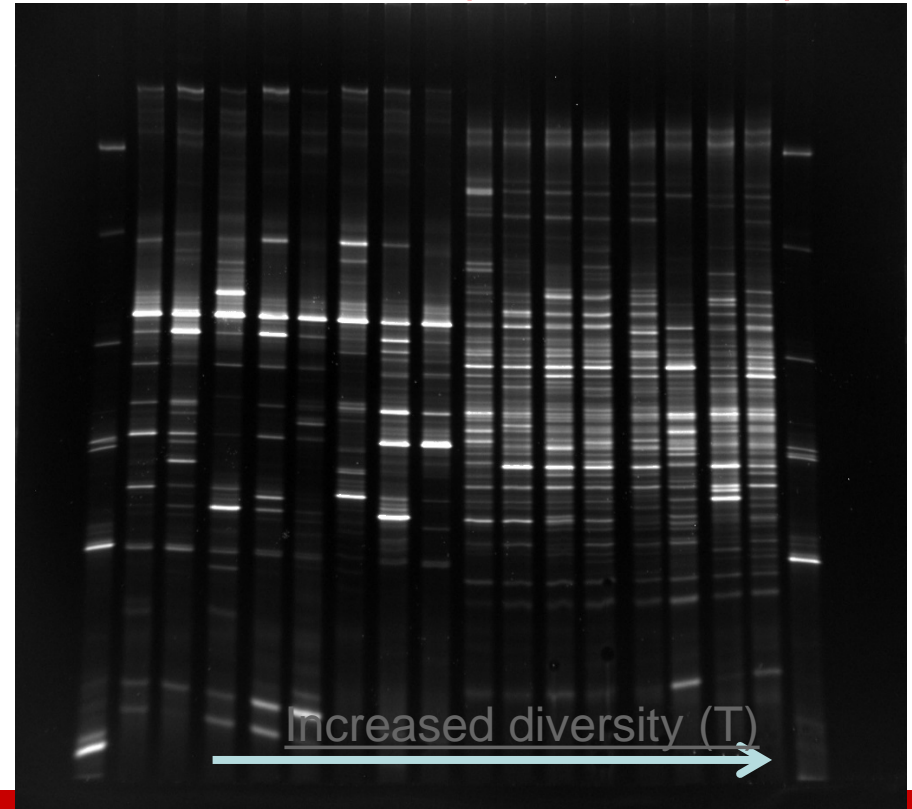
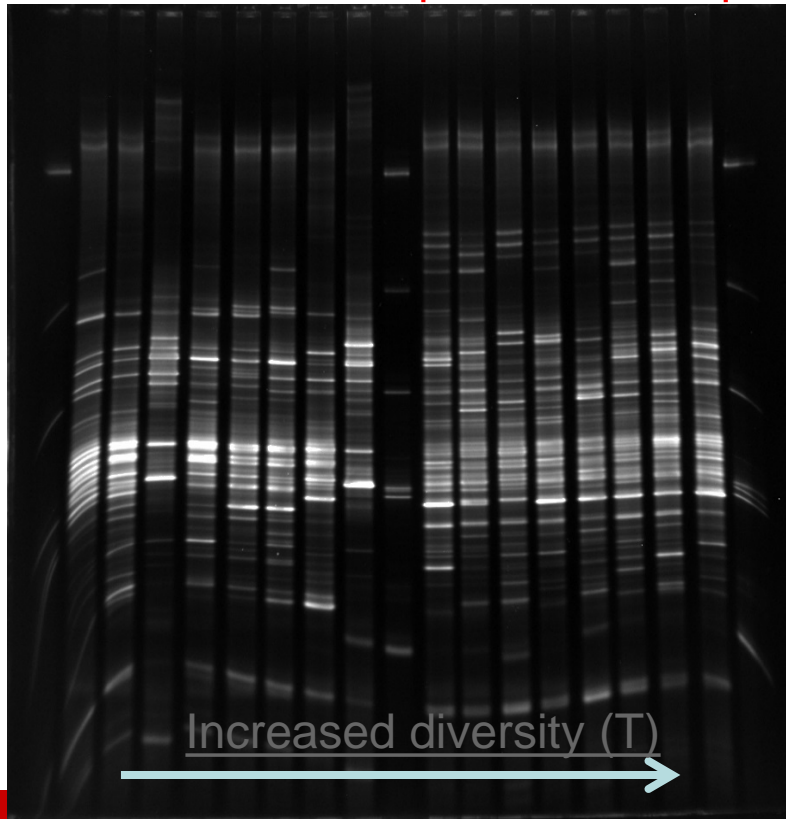
Gruppo A e Gruppo C a 10 e 40 giorni

CTR 10 gg (ST1)

CTR 39 gg (ST4)

TRT 10 gg (ST1)

TRT 39 gg (ST4)





Escissione e Seq delle bande – Gruppo C



TRT 10 gg (ST1)

TRT 39 gg (ST4)

Bacteroides

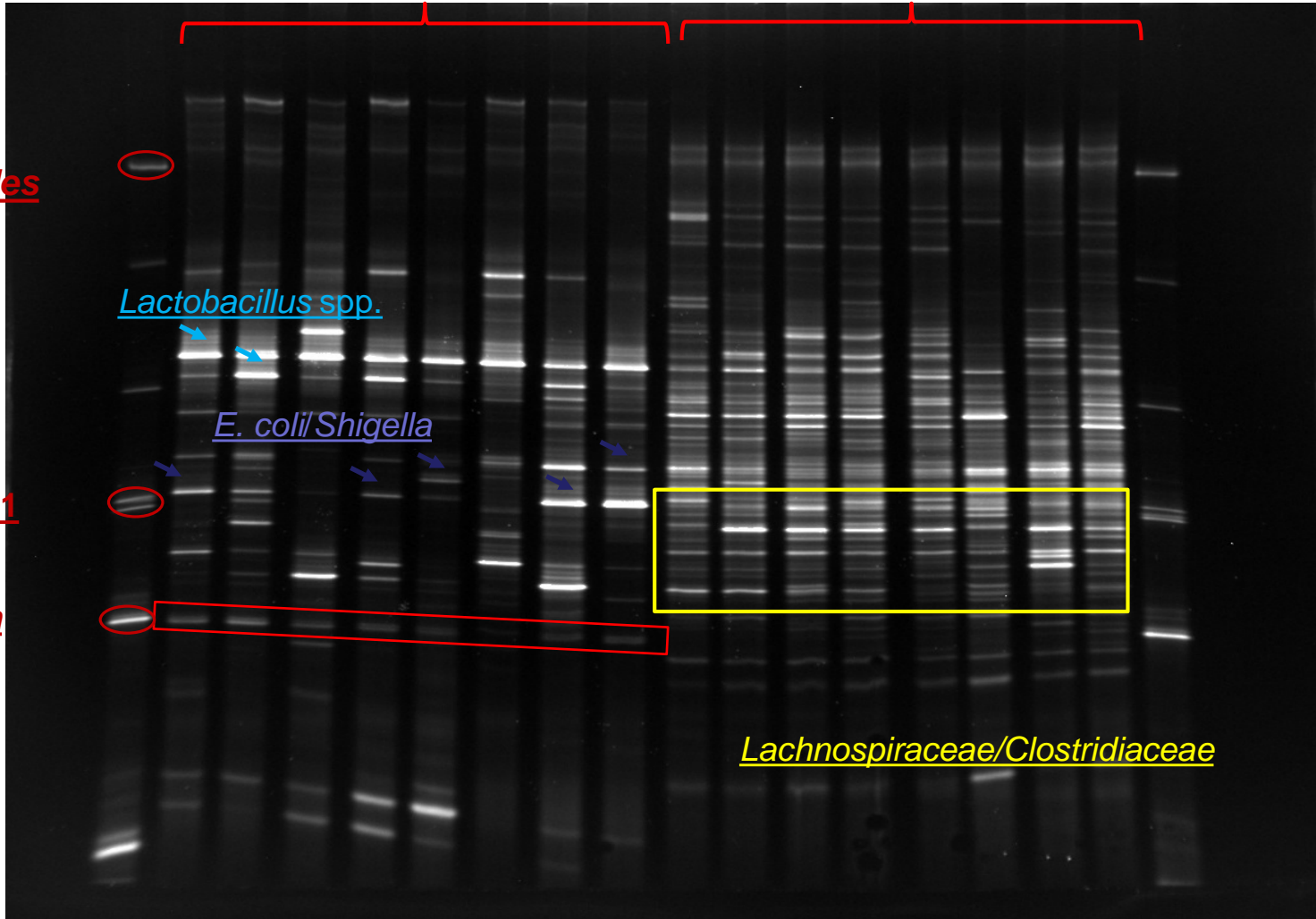
Lactobacillus spp.

E. coli/Shigella

C. jejuni M1

B. longum
PCB133

Lachnospiraceae/Clostridiaceae

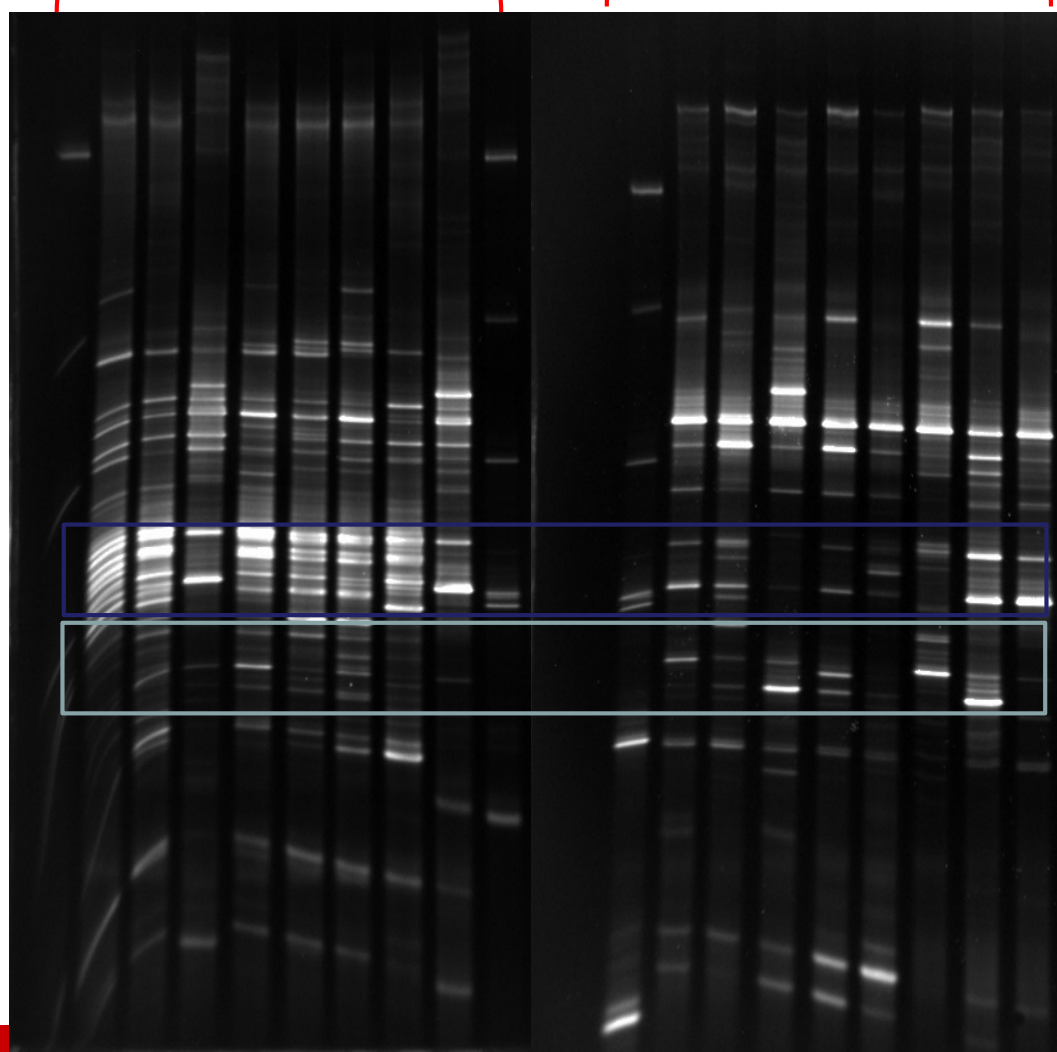




➔ Comparazione del gruppo CTR e TRT negli animali di 10 giorni

CTR 10 gg

TRT 10 gg



Riduzione del numero di bande negli animali trattati



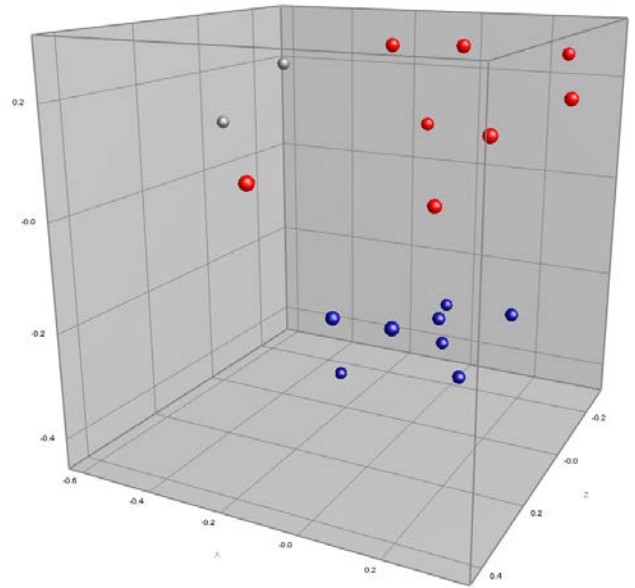
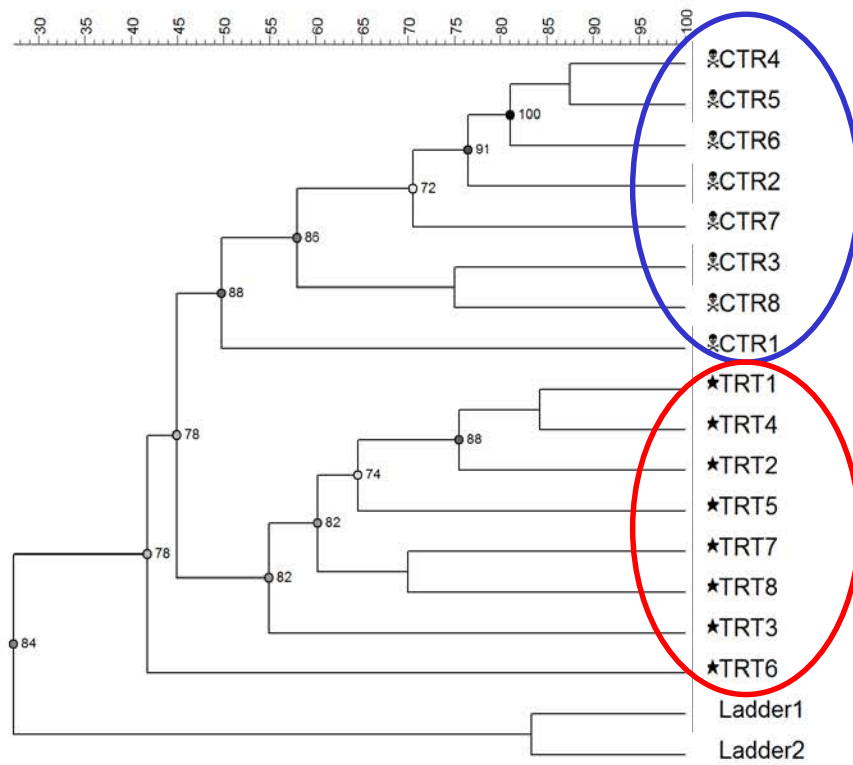
Riduzione della complessità del microbiota



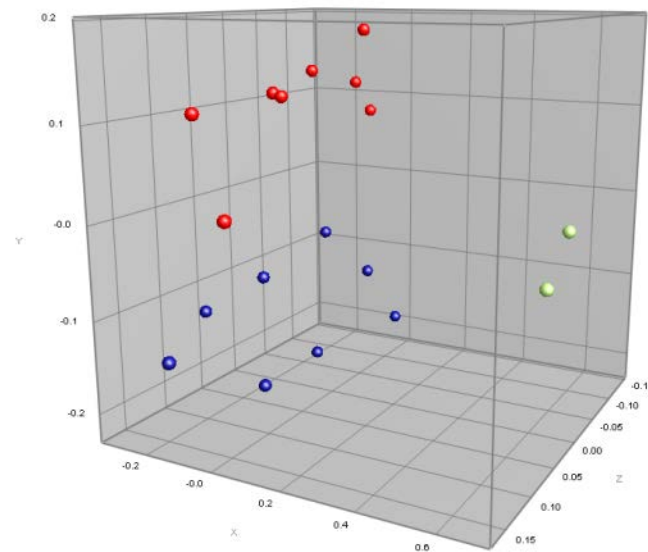
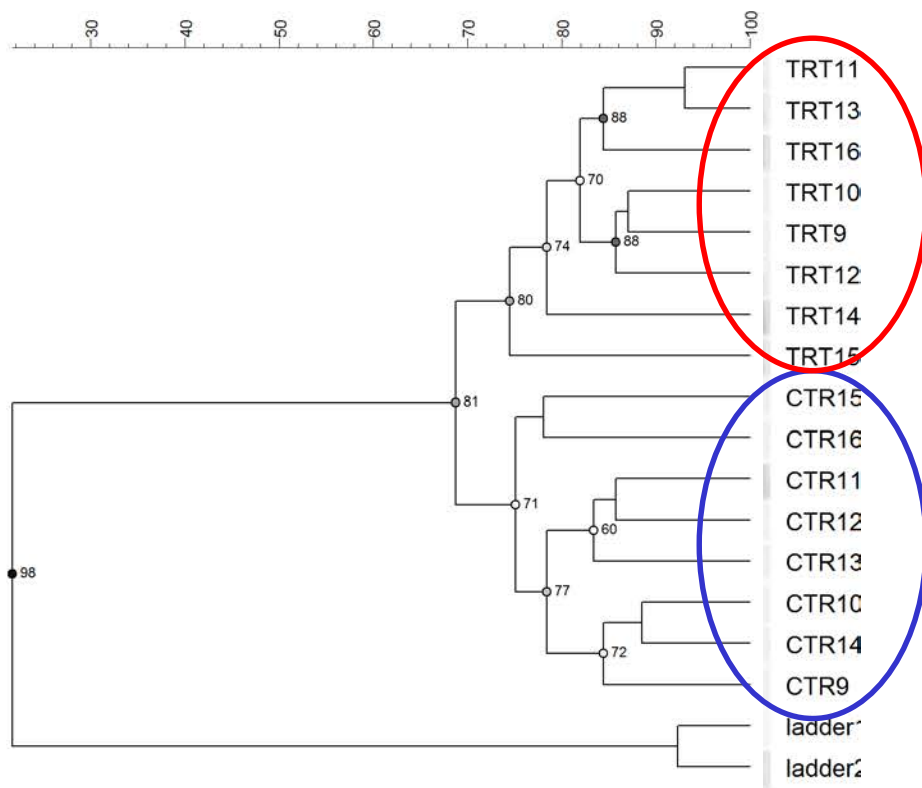
➔ Gruppo *E. coli/Shigella* influenzato dalla somministrazione precoce

➔ E anche il gruppo di *Lachnospiraceae* e *Clostridiaceae*

ST1 – Cluster Analysis e MDS (GelCompare 6.0)



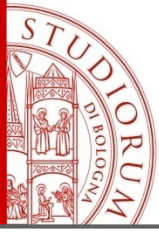
ST4 – Cluster Analysis e MDS (GelCompare 6.0)



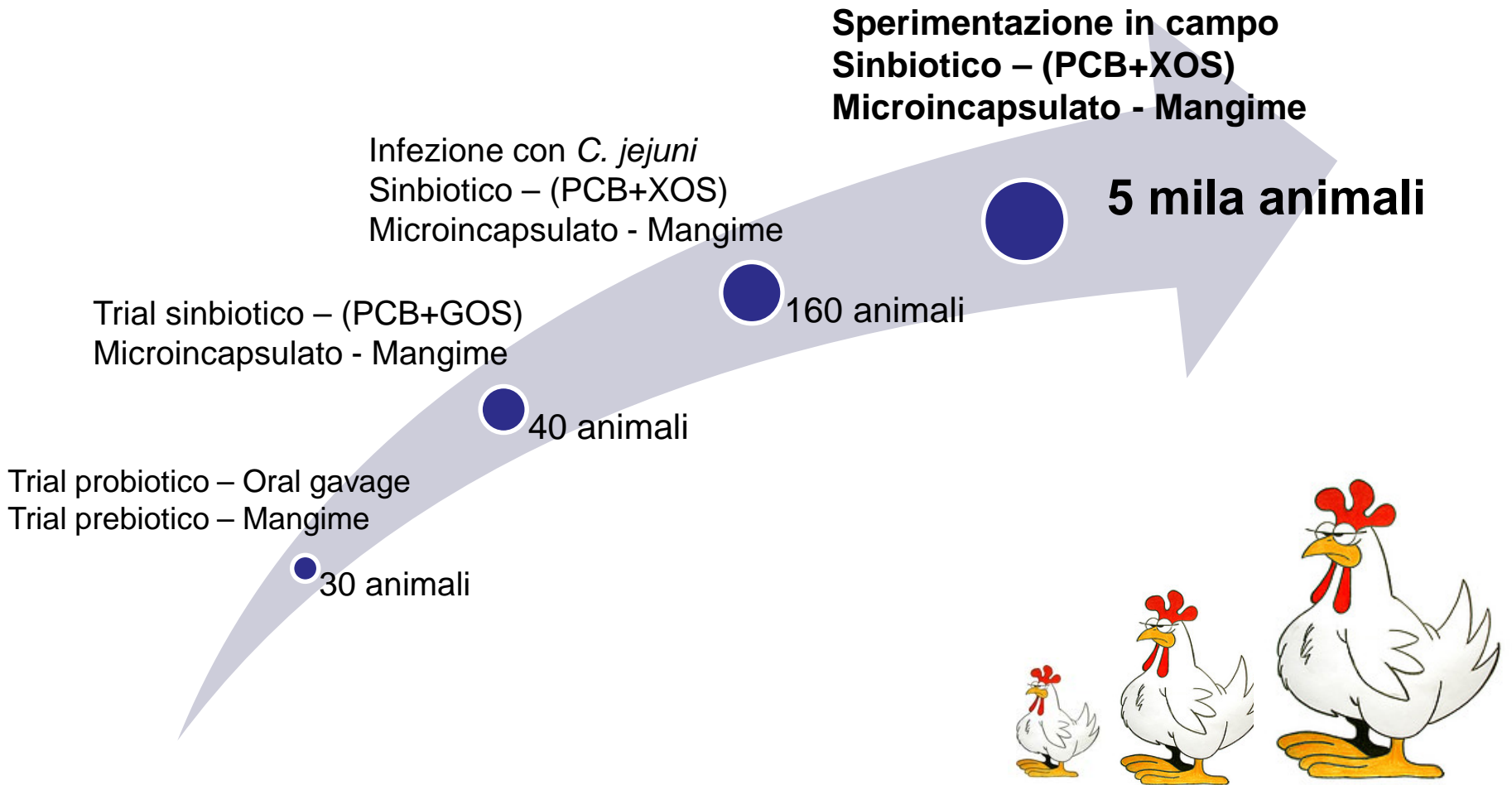
Conclusioni Finali Challenge

- Somministrazione dal primo giorno strategia molto efficace
- Diminuzione molto significativa di *C. jejuni*
- Modulazione del microbiota intestinale





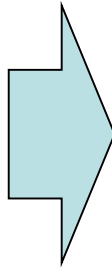
UNIBO e IZPAM&UNIBO



RISULTATI PRELIMINARI

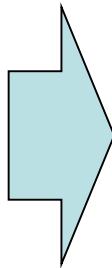
- Bassa rilevazione del *B. longum* PCB133
- Diminuzione del patogeno di minore entità (seppur significativa)

IPOTESI

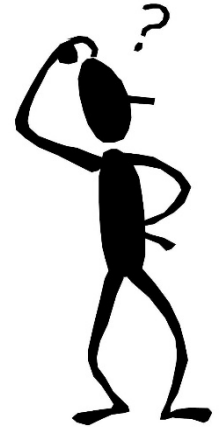


Formulazione del MICROINCAPSULATO non efficace sui grandi numeri ????

SFIDA



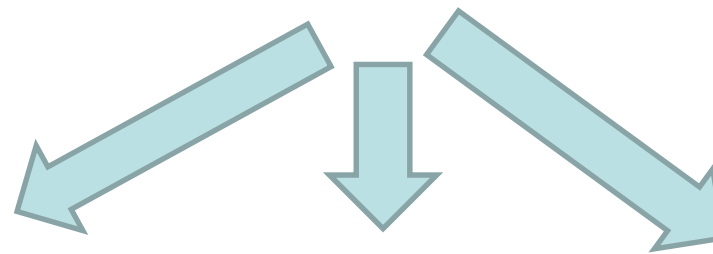
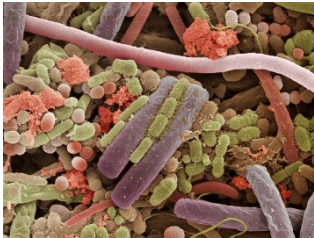
STUDIO DI FORMULAZIONI CHE ABBIANO APPLICAZIONE SEMPICE E MENO DISPERSIVA



PROBIOTICI PER LE API

Effetto di lattobacilli e bifidobatteri somministrati alle api

Microbiota



Produzione di miele



Covata

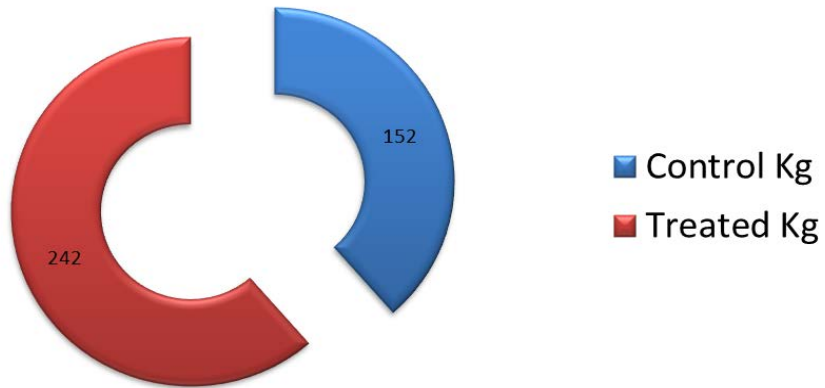


Risultati



Parametri	% Incremento (30gg)	% Incremento (60gg)
Miele	10 (± 0.12)	28 (± 0.46)
Polline	-1,8 (± 0.2)	53 (± 0.96)
Covata	46 (± 1.06)	16 (± 0.77)

Risultati



+40% di miele prodotto nelle arnie trattate



**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**

