

**Titolo del progetto (max 30 parole):**

**EFFETTO DI PROBIOTICI AGGIUNTI ALLA DIETA SU BENESSERE, CARATTERISTICHE DELLA MICROFLORA INTESTINALE E PERFORMANCE PRODUTTIVE NELLA GALLINA OVAIOLA.**

**Abstract (max 300 parole, esclusa la eventuale bibliografia consultata):**

I principali microrganismi ad azione probiotica utilizzati in alimentazione animale sono ceppi batterici (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* e *Bacillus* spp.) o funghi appartenenti al genere *Saccharomyces*. L'azione dei probiotici può derivare sia da un effetto nutrizionale diretto che di bioregolazione della flora intestinale e di "rinforzo" delle difese naturali dell'ospite. L'obiettivo della ricerca è di valutare l'effetto dell'integrazione alimentare con lieviti sui principali parametri zootecnici e di benessere della gallina ovaiola. La ricerca sarà condotta su 3 gruppi di animali allevati in strutture separate con le medesime condizioni ambientali. I tre gruppi di animali saranno alimentati con tre diete diverse (mangime addizionato di lieviti spenti, mangime addizionato di lieviti vivi, mangime controllo senza aggiunta di lieviti) per un periodo compreso da due settimane prima dell'entrata in deposizione, fino al settimo mese da questa. La prova sarà replicata nel secondo anno di ricerca. Saranno eseguiti dei prelievi di sangue all'inizio della prova e dell'ovodeposizione, all'acme della deposizione e al termine della prova al fine di determinare i principali indicatori metabolici, dello stato infiammatorio, dello stato ossidativo e del sistema immunitario innato e acquisito. All'inizio della prova, all'acme della deposizione e al termine della prova sarà valutata la microflora intestinale tramite l'esecuzione di esami batteriologici. Nei soggetti sacrificati saranno prelevati dei campioni d'intestino per la valutazione istologica di eventuali modificazioni della mucosa intestinale. Durante il periodo di prova saranno misurate le performance zootecniche in un numero significativo di soggetti.

Principali scopi della ricerca sono la valutazione dell'effetto del trattamento sulle performance, sulla risposta immunitaria e sulle condizioni dell'ecosistema intestinale. I risultati del progetto potranno inoltre permettere la stesura di linee guida sulla gestione dei piani di razionamento e delle condizioni di benessere della gallina ovaiola.

**Bibliografia consultata:**

1. Cesari, V., Mangiagalli, M. G., Giardini, A., Galimberti, P., Carteri, S., Gallazzi, D., & Toschi, I. (2014). Egg quality and productive performance of laying hens fed different levels of skimmed milk powder added to a diet containing *Lactobacillus acidophilus*. *Poultry Science*, 93(5), 1197-1201.
2. Kidd, M. T., Araujo, L., Araujo, C., McDaniel, C. D., & McIntyre, D. (2013). A study assessing hen and progeny performance through dam diet fortification with a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product. *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(4), 872-877.
3. Kizerwetter-Swida, M., Binek, M. (2009). Protective effect of potentially probiotic *Lactobacillus* strain on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Pol J. Vet. Sci*, 12, 15-20.
4. Lensing, M., van der Klis, J. D., Yoon, I., & Moore, D. T. (2012). Efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intestinal health and productivity of coccidian-challenged laying hens. *Poultry Science*, 91(7), 1590-1597.
5. Mikulski, D., Jankowski, J., Naczmanski, J., Mikulska, M., & Demey, V. (2012). Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry Science*, 91(10), 2691-2700.
6. Youssef, A. W., Hassan, H. M. A., Ali, H. M., & Mohamed, M. A. (2013). Effect of probiotics, prebiotics and organic acids on layer performance and egg quality. *Asian Journal of Poultry Science*, 7(2), 65-74.

### **Stato dell'arte (max 500 parole)**

I probiotici rivestono un'importanza rilevante nell'alimentazione umana e animale, che consiste principalmente nella modulazione della popolazione batterica che colonizza l'organismo e nella regolazione delle sue attività. I principali microrganismi utilizzati in alimentazione animale sono ceppi batterici (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* e *Bacillus* spp.) o funghi appartenenti al genere *Saccharomyces*. I benefici di un regolare consumo di probiotici comprendono un'ottimizzazione delle difese immunitarie, una diminuita incidenza e una minore durata delle infezioni intestinali, un adeguato controllo delle risposte di tipo allergico ed una migliore attività digestiva. L'azione positiva dei probiotici può derivare sia da un effetto nutrizionale diretto (legato al substrato proteico, glucidico, minerale e vitaminico offerto dalle cellule microbiche all'interno del lume intestinale dell'animale) che da un effetto di bioregolazione della flora intestinale e di "rinforzo" delle difese naturali dell'ospite (Fuller, 1977; Fuller, 2001).

Kizerwttter-Swida e Binek (2009) hanno rilevato che i probiotici possono ridurre l'incidenza e la durata di alcune forme patologiche negli avicoli, soprattutto a carico dell'apparato gastro-intestinale, essendo in grado di inibire lo sviluppo dei batteri patogeni (sia in vitro che in vivo) attraverso differenti meccanismi.

In sintesi, le modalità di azione dei probiotici nelle specie avicole sono prevalentemente le seguenti:

- Mantenimento della normale microflora intestinale;
- Modificazione del metabolismo grazie all'aumento di enzimi ad azione digestiva, diminuzione della produzione degli enzimi batterici e di ammoniaca;
- Miglioramento dell'assunzione di alimento e dell'indice di conversione;
- Stimolazione del sistema immunitario (Apata 2008; Kabir, 2009).

I lieviti vivi sono legalmente considerati degli additivi utilizzabili in alimentazione animale, in considerazione del loro effetto positivo sulle performance, ed il loro impiego è attualmente regolato dalla normativa europea. L'inclusione di lieviti vivi nella dieta della gallina ovaioia si è rivelata in grado di migliorare una serie di parametri zootecnici quali la produzione quantitativa (Kim et al., 2002 e Shivani et al., 2003) ed il peso delle uova (Han et al., 1999; Park et al., 2001 and Park et al., 2002). Kim et al. (2002) e Kabir (2009) hanno osservato che l'impiego di lieviti nell'alimentazione dell'ovaioia ha indotto un aumento della quantità di alimento ingerito ed un miglioramento dell'indice di conversione. Altri autori hanno dimostrato infine una maggiore resistenza dell'uovo alla rottura (Park et al., 2002) ed una minore percentuale di gusci di basso livello qualitativo per ciò che concerne la consistenza (Park et al., 2001).

### **Obiettivi (max 150 parole)**

L'obiettivo della ricerca è quello ottenere nuove conoscenze relative agli effetti dell'integrazione alimentare con lieviti (vivi e inattivati) sui principali parametri zootecnici e di benessere della gallina ovaioia (stato di salute generale dell'animale, incidenza delle principali malattie infettive e delle parassitosi, risposta immunitaria).

La scelta della gallina ovaioia è legata in parte alla scarsità di studi disponibili per questa categoria in relazione all'uso e agli effetti dei probiotici ed in parte alle recenti disposizioni legislative in merito alle modalità di allevamento della gallina ovaioia.

**Parole chiave (max 5):** probiotici, benessere, microflora intestinale, performance produttive, gallina ovaioia.

**Aree tematiche coinvolte:** studio della relazione tra dieta, sistemi di allevamento e qualità delle produzioni animali

### **Principali metodologie (max 400 parole)**

Il protocollo comporta l'impiego di 3 gruppi di animali (circa 4000 capi/gruppo) allevati in capannoni separati nelle medesime condizioni ambientali e di microclima. I tre gruppi di animali saranno alimentati con tre diete diverse (a: mangime addizionato di lieviti spenti; b: mangime addizionato di lieviti vivi; c: mangime controllo senza aggiunta di lieviti) per un periodo compreso da due settimane prima dell'entrata in deposizione fino al settimo mese da questa. E' stata inoltre prevista una replica della prova durante il secondo anno di ricerca, utile ad ottenere una maggiore validità statistica dei risultati.

Per quanto concerne le misurazioni, verranno eseguiti dei prelievi di sangue all'inizio della prova (intorno alle 18 settimane di vita) e dell'ovodeposizione, all'acme della deposizione e al termine della prova (settimo mese dall'inizio della ovodeposizione) al fine di determinare i principali indicatori dello stato infiammatorio ed ossidativo come le proteine di fase acuta positive e negative ed i radicali liberi.

Saranno valutati inoltre alcuni parametri relativi all'immunità innata (battericidia, lisozima e attività del complemento) e a quella acquisita (risposta anticorpale nei confronti di alcuni piani vaccinali tradizionali, quali quello contro la malattia di Newcastle, la bronchite infettiva e l'EDS '76).

Inoltre saranno monitorate anche le modificazioni dei principali indicatori del profilo metabolico dei

soggetti.

All'inizio della prova, all'acme della deposizione e al termine della prova sarà valutata la microflora intestinale in relazione alle principali famiglie, generi e specie tramite l'esecuzione di esami batteriologici. Inoltre si farà ricorso alla biologia molecolare basata sul sequenziamento della regione 16 S ribosomiale microbica, permettendo in tal modo anche l'identificazione di microrganismi difficilmente coltivabili. In particolare verranno utilizzate sonde oligonucleotidiche sintetiche per il 16S r RNA. Infine sarà ricercata, tramite l'impiego di terreni selettivi, l'eventuale presenza di *Salmonella* spp. da tamponi cloacali, eseguiti in maniera casuale a cadenza settimanale da un numero significativo di soggetti, sia da feci raccolte nella lettiera che da intestini prelevati al momento della macellazione.

Nei soggetti sacrificati verranno prelevati anche dei campioni d'intestino, per la valutazione istologica di eventuali modificazioni della mucosa. Si procederà inoltre alla messa a punto di metodiche immunoistochimiche atte a valutare la frequenza e la distribuzione dei linfociti T (CD4+, CD8+ e loro rapporto) e dei linfociti B.

Durante il periodo di prova saranno misurate le performance zootecniche (numero di uova deposte, caratteristiche e composizione dell'uovo, ingestione di alimento e indice di conversione) in un numero significativo di soggetti.

#### **Principali risultati attesi (max 100 parole)**

- Individuazione delle eventuali differenze tra le due tipologie di lieviti nella modulazione degli indicatori di benessere e della produttività;
- Maggiore efficacia nella risposta immunitaria ai piani vaccinali classici nei soggetti trattati con lieviti;
- Minore frequenza di isolamento di *Salmonella* spp. nei soggetti trattati;
- Variazioni della microflora intestinale a favore delle popolazioni batteriche in grado di ottimizzare i processi digestivi in dipendenza dalla tipologia di lievito impiegato;
- Ottenimento di linee guida sulla gestione dei piani di razionamento e delle condizioni di benessere nell'allevamento della gallina ovaiole destinate agli allevatori, alla comunità scientifica e alle associazioni di settore.