



Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
119° (2001), Vol. XXV, pp. 535-543

VITTORIO BOTTAZZI *

Uso di efficienti microrganismi nell'alimentazione animale **

INTRODUZIONE

A tutt'oggi gli studiosi esperti del settore sono generalmente concordi nel riconoscere che la microflora del tratto gastrointestinale abbia un ruolo importante nel concorrere al mantenimento nell'uomo e negli animali dello stato di salute.

Volendo a questo proposito fare un cenno storico si può ricordare che all'inizio del 1900 Metchnikoff ipotizzò che microrganismi del gruppo dei batteri lattici erano importanti per la salute e longevità dell'uomo.

Fin quando le nostre conoscenze sono risultate scarse si è considerato che la microflora intestinale autoctona, nel suo insieme complessa, fosse più dannosa che fonte di benefici e che un effetto desiderato fosse assicurato solamente con la sua sostituzione con i batteri lattici responsabili della fermentazione dello yoghurt.

In realtà, specialmente con gli studi e le ricerche che sono state sviluppate in questi ultimi cinquanta anni, dobbiamo considerare che la microflora gastrointestinale rappresenta un ecosistema di grande complessità che è capace di numerose interazioni di cui però le nostre conoscenze sono ancora limitate [1].

Con Ducluzeau [2] si può aggiungere che la complessa popolazione del tratto gastrointestinale è un ecosistema aperto formato da una popolazione microbica che in una definita regione coesiste in un determinato equilibrio biologico.

A comprensione di questo equilibrio conosciamo, ad esempio, che certi batteri lattici possono indurre regolazioni immunospecifiche come risultato, secondo Brassart e Schiffrin [3], di interazione con fagociti mononucleari e cellule epiteliali del-

* Direttore Istituto di Microbiologia e Centro Ricerche Biotecnologiche, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza e Cremona.

** Relazione presentata al Primo Convegno Nazionale della U.N.A.S.A. su «Biotecnologie agroalimentari, industriali, ambientali: problemi e prospettive», Roma, 1-2 ottobre 2001.

l'ospite e che certi batteri lattici rafforzano la barriera mucosale intestinale regolandone la permeabilità.

La figura 1 riproduce batteri lattici adesi ad ingluvie di pollo e la figura 2 sarcine presenti nel colon di suino.

Sulla base delle conoscenze raggiunte a tutt'oggi, possiamo ora fare alcune valutazioni per portare l'attenzione sull'impiego di efficienti microrganismi nell'alimentazione animale.

L'ECOSISTEMA DEL DIGERENTE

L'ecosistema del digerente gastrointestinale offre vantaggi per la salute se mantiene un corretto stato di equilibrio in modo che emerga una condizione eubiotica per evitare quella disbiotica; con simili espressioni già si indica che il sistema è naturalmente instabile sia da un punto di vista qualitativo che quantitativo.

Garantire l'equilibrio dell'ecosistema è un bersaglio al quale occorre puntare

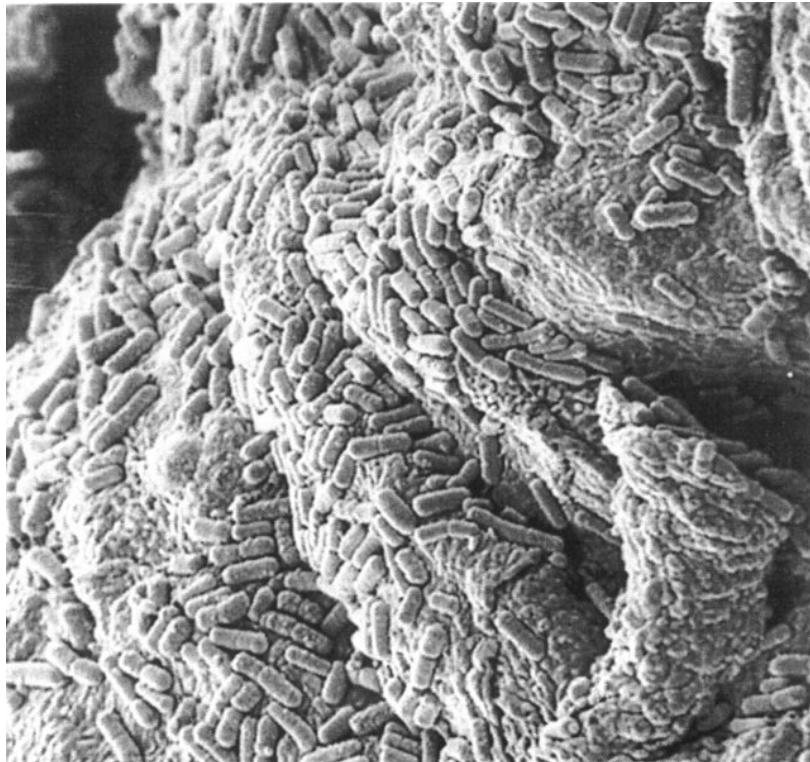


Fig. 1. Adesione di batteri lattici ad ingluvie di pollo.

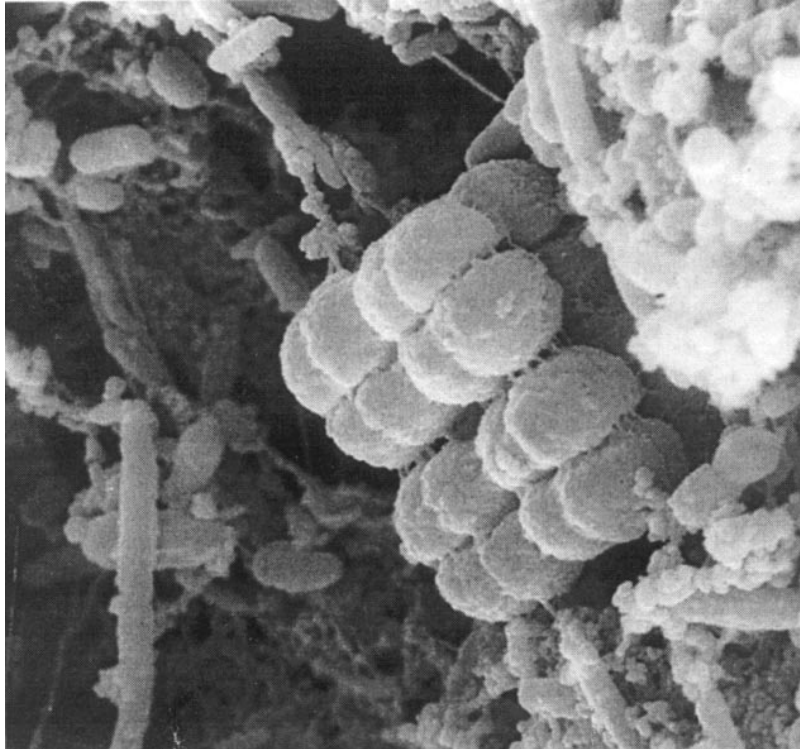


Fig. 2. Sarcine presenti nel colon di suino.

tenendo però conto che le attività metaboliche, il numero di microrganismi, la specie ed i fattori intrinseci relativi alla sezione del tratto intestinale ed estrinseci correlabili con la dieta, gli stress o particolari composti chimici possono grandemente influire sul risultato.

È comunque un mondo molto complesso; può essere stimolante pensare, e il riferimento va all'uomo, che il contenuto microbico del colon di una persona adulta in buon stato di salute è composto da circa 300-400 differenti specie di microrganismi separabili in laboratorio e riconducibili a non meno di 190 generi. Ma questo non rappresenta che una parte della popolazione microbica del colon in quanto non tutti i componenti, con le tecniche di laboratorio di cui oggi disponiamo, possono essere isolati e studiati. Forse poco più del 20% è la quota conosciuta [Ward *e coll.*, 4] e, ad esempio, di batteri segmentati filamentosi segnalati da Snel *e coll.* [5] o di *Epulopiscium fishelsoni*, che è la forma batterica più diffusa nei pesci [Angert *e coll.*, 6], niente o ben poco conosciamo.

Con riferimento all'uomo, e per avere un'idea della colonizzazione con microrganismi del tratto gastrointestinale, può essere presa in considerazione la tabella 1.

Tabella 1 – *Distribuzione nell'uomo di microrganismi dallo stomaco al colon.*

| sezione del tratto gastrointestinale | numero di microrganismi | tipo di microrganismo |
|--------------------------------------|--|--|
| stomaco e duodeno | 10 ¹ -10 ³ CFU/ml | batteri lattici streptococchi lieviti |
| digiuno e ileo | 10 ⁴ -10 ⁸ CFU/ml | batteri lattici bifidobatteri streptococchi batteroidi enterobatteriacee fusobatteri |
| colon | 10 ¹⁰ -10 ¹² CFU/g | batteroidi <i>Proteus</i> bifidobatteri stafilococchi streptococchi batteri lattici <i>Pseudomonas</i> fusobatteri lieviti enterobatteriacee clostridi <i>Veillonella</i> |

Si può comunque ritenere che del conosciuto si fa riferimento solamente a gruppi principali di microrganismi [Gedek, 7] i quali in verità sono pochi ed in aggiunta a questo è bene tener presente almeno altri due punti: il primo che indica che con l'applicazione delle tecniche molecolari di tassonomia batterica la popolazione di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* è unica per ogni individuo e si parla di una collezione dell'uno e dell'altro genere [Tannock, 8] ed in secondo luogo bisogna tener presente che l'azione di un gruppo batterico è da ritenersi positiva per l'ospite quando supera 5x10⁷ per grammo [2] di contenuto intestinale.

«[GIENE DEL DIGERENTE]»

Nel mentre gli studi e le ricerche di microbiologia dell'ecosistema gastrointestinale negli ultimi trent'anni si sono notevolmente intensificati nel settore dell'alimentazione degli animali da reddito ha trovato impiego, come promotore di crescita o promotore di performance, l'additivo.

L'additivo è dato da composti di natura chemioantibiotica [Mordenti, 9] for-

manti il gruppo degli auxinici che una volta aggiunti ai mangimi sono in grado di esercitare azioni di controllo dei processi fermentativi del digerente con il risultato pratico di una maggior produzione di metaboliti utili.

Con l'impiego degli auxinici Mordenti e Martelli [10] parlano di «igiene del digerente» e gli allevatori testimoniano che con questo accorgimento ottengono buoni risultati; le stime FAO-OMS indicano inoltre che con l'impiego di auxinici si è aumentato del 20% la disponibilità mondiale di proteine animali e nel contempo si è ridotto di non meno del 10% il consumo di mangime per unità di prodotto.

Si è quindi avuto una risposta produttiva nettamente positiva ma con il passar del tempo, per il fatto che la più parte dei promotori di sviluppo utilizzati è di natura antibiotica, grosse preoccupazioni hanno cominciato a configurarsi sino ad interessare il legislatore che è pervenuto a fissare il principio che l'antibiotico sia solamente impiegato per raggiungere scopi terapeutici evitando la sua utilizzazione per scopi produttivi.

Questo ha determinato un profondo cambiamento che ha dettato la messa a punto di una nuova strategia operativa che è fondata sul concetto della *probioti* invece dell'*antibioti*.

PROBIOSI ED ALIMENTAZIONE ANIMALE

A proposito di probiosi si può richiamare all'attenzione quanto ebbero ad affermare Gibson e Robertfroid che definirono i probiotici «supplementi microbici alimentari che cambiando la composizione del microbiota del digerente, ne influenzano favorevolmente gli equilibri».

L'efficienza alimentare, la velocità di accrescimento, i sistemi di difesa dell'organismo ed una maggior salvaguardia ambientale si può ritenere di poterli ugualmente raggiungere in assenza di auxinici con un progetto di probiosi dove i microrganismi probiotici somministrati con gli alimenti giocano un ruolo molto importante.

Oramai diverse sono le specie di microrganismi che sono conosciute probiotiche e che, specialmente per prodotti alimentari per l'uomo, hanno già trovato diverse applicazioni probiotiche.

Con la tabella 2 viene fornita l'indicazione dei principali microrganismi probiotici utilizzati in alimenti per l'uomo e per gli animali.

Ma la famiglia dei microrganismi probiotici aumenterà certamente in tempi che si prevedono brevi perché numerose sono le ricerche in corso rivolte all'accurato accertamento ed identificazione tassonomica di ceppi di microrganismi funzionali cioè importanti nel contribuire a mantenere in equilibrio l'ecosistema intestinale.

Così, ad esempio, da un recente pregevole lavoro di Du Toit *e coll.* [11] emerge per la prima volta che le feci di suini in produzione zootecnica hanno un'abbondante popolazione rappresentata da *Lactobacillus amylovorus* che trova associazione con *Lactobacillus intestinalis* e *Lactobacillus crispatus* che sono rispetti-

Tabella 2 – *Principali microrganismi probiotici per l'uomo e per gli animali.*

| <i>Lactobacillus</i> | <i>Bifidobacterium</i> | altri batteri lattici | microrganismi non lattici |
|---|--|---|---|
| <i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gallinarum</i> * <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> | <i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i> <i>B. lactis</i> | <i>Strep. thermophilus</i> <i>Lactoc. lactis</i> ♦ <i>Leuc. mesenteroides</i> ♦ <i>Ped. acidilactici</i> ♦ | <i>Ent. faecium</i> * <i>Propion. freudenreichii</i> * <i>Bacillus cereus</i> * <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Bacillus subtilis</i> * <i>Bacillus coagulans</i> * |

* = per lo più utilizzati per gli animali

♦ = sono ancora poco conosciute le proprietà probiotiche

vamente omofermentanti obbligati o eterofermentanti facoltativi, hanno la capacità di fermentare l'amido e risultano di potenziale interesse probiotico.

Un altro aspetto nuovo trova configurazione di interesse probiotico con il fatto che alcuni batteri lattici possono produrre nell'intestino fitasi. Sempre recentemente Zamudio *e coll.* [12] hanno richiamato l'attenzione su *Lactobacillus plantarum* e poco prima Sreeramuldu *e coll.* [13] avevano illustrato le capacità di *Lactobacillus amylovorus* di liberare fosforo dai fitati. L'acido fitico è considerato un fattore antinutrizionale e proprio i monogastrici hanno un bassissimo livello di enzimi capaci di degradare i fitati per cui occorre supplementare la razione con fosforo inorganico e vi è pertanto un considerevole interesse per la produzione nell'intestino con microrganismi probiotici di enzimi in grado di degradare i fitati.

ESEMPI DI IMPIEGO DI PROBIOTICI IN ALIMENTAZIONE ANIMALE

I batteri probiotici sporigeni, vale a dire *Bacillus cereus* (toyoi), *Bacillus coagulans* e *Bacillus subtilis* suscitano interesse in alimentazione animale perché sono in grado di produrre enzimi utili per lo sviluppo e fra questi amilasi, proteasi, β -glucanasi, cellulasi e vitamine del complesso B. Inoltre quando vengono somministrati ad animali poligastrici favoriscono un aumento della produzione di acidi grassi a corta catena ed in particolare di acido propionico.

Anche la liberazione di acido picolinico, che avviene con la germinazione delle spore, può avere un significato probiotico: Tournut [14] nel 1989 riferisce che spore di specie del genere *Bacillus*, somministrati a vitelli da latte, hanno stimolato la velocità di crescita e favorito gli indici di conversione.

Secondo le esperienze condotte tra il 1991 e 1995 da un gruppo di ricercatori italiani [15, 16 e 17] i risultati che si ottengono con i probiotici sporigeni nell'allevamento dei suini ed in particolare quelli riferiti alla diminuzione delle diarree e al miglioramento delle performance zootecniche con suinetti in svezzamento sono anche superiori a quelli che in genere si ottengono con l'impiego di auxinici.

Con microrganismi probiotici non sporigeni le prime utilizzazioni in Italia sono state da noi [18] impostate e seguite nel 1981 con *Enterococcus faecium* (*Streptococcus faecium*) ed i buoni risultati ottenuti hanno consentito di aprire in casa nostra con riflessi applicativi il capitolo della probiotica nella alimentazione animale.

Sempre con *Enterococcus faecium* nell'alimentazione dei suini accurate valutazioni sono state in seguito fatte da Mordenti [9, 10] ed a spiegazione dei risultati ottenuti riportiamo la tabella 3.

Dall'esame della tabella appare chiaro il positivo effetto della somministrazione di *Enterococcus faecium* sui casi di diarrea, sulla mortalità totale e sull'incremento ponderale e con riferimento ai parametri indicati un'ulteriore esaltazione, per un effetto sinergico, si può avere quando il probiotico viene abbinato con un *pool* di aminoacidi. Così i casi di diarrea della prima settimana dal 20% vengono ridotti al 6% e la mortalità totale (dopo 3 settimane) dall'11,7 all'8,4%.

Un altro esempio di buon impiego di probiotici con batteri lattici lo si con-

Tabella 3 – Sinergismo probiotici-*pool* di aminoacidi: effetti sull'accrescimento, sull'incidenza della diarrea e sulla mortalità dei suinetti dalla nascita allo svezzamento esercitati dalla loro associazione (*) [Mordenti, 9 e 10].

| Trattamenti (**) | | A controllo | B aminoacidi | C batteri lattici | D aminoacidi + batteri lattici |
|--------------------------|-----|----------------|-----------------|----------------------|--------------------------------------|
| Animali | n. | 471 | 480 | 484 | 499 |
| Peso medio alla nascita | kg | 1,22 | 1,21 | 1,21 | 1,22 |
| Incremento ponderale | g/d | 186D | 195C | 207B | 211A |
| <i>Casi di diarrea</i> | | | | | |
| 1 ^a settimana | % | 20,4Aa | 16,4ABa | 9,1Bb | 6,0Bb |
| 2 ^a settimana | % | 28,8 | 28,8 | 21,4 | 14,7 |
| 3 ^a settimana | % | 11,7ABb | 23,5Aa | 7,8Bb | 5,8Bbc |
| <i>Mortalità</i> | | | | | |
| Totale | % | 11,7a | 12,7a | 11,5a | 8,4b |
| Per diarrea | % | 6,7ab | 7,3a | 5,9b | 4,2c |
| Per altre cause | % | 5,0 | 5,4 | 5,6 | 5,2 |

(*) Dati medi di due prove, una condotta in autunno ed una in inverno per un periodo di 34 giorni.

(**) Effettuati alla nascita con: gruppo A 0,2 g di siero di latte in polvere; gruppo B 0,2 g di siero + 0,2 g di *pool* di aminoacidi; gruppo C 200 milioni di cellule di *S. faecium* su supporto di 0,2 g di siero; gruppo D 0,2 g di *pool* di aminoacidi + 200 milioni di cellule di *S. faecium*. In tutti a, b, c, d = P<0,05; A, B, C, D = P < 0,01

stata nel controllo preventivo e nell'arresto, quando è in atto, della colibacillosi nei vitelli neonati. Nostre esperienze hanno dimostrato che risposte pienamente positive si ottengono quando si somministra al vitello neonato latte fermentato con *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* vale a dire quando si somministra yoghurt. L'effetto positivo in questo caso può essere in parte anche dovuto ai metaboliti di fermentazione che nello yoghurt si accumulano e che sappiamo sono importanti per il mantenimento dello stato di benessere nell'uomo.

Infine è bene richiamare all'attenzione il fatto che con la somministrazione a pulcini appena nati di una coltura di batteri lattici in associazione con altri microrganismi (lieviti ed acetobatteri), normalmente presenti nel Kefir, si raggiunge una marcata azione preventiva verso la colonizzazione da parte di batteri enterici patogeni.

Zacconi e coll. [19] hanno potuto dimostrare che l'azione competitiva è particolarmente evidente nei confronti di *Salmonella*.

I trattamenti termici di inattivazione biologica del kefir hanno dimostrato di rendere il prodotto non più efficiente, e nei riguardi sempre di *Salmonella* non è neanche attiva la sola microflora componente lo yoghurt.

CONCLUSIONI

Nell'alimentazione animale hanno trovato un efficace impiego come probiotici alcune specie di microrganismi del gruppo degli sporigeni, nonché dei batteri lattici e di altre specie di microrganismi a questi due gruppi non appartenenti.

La tematica che è stata trattata è però tuttora completamente aperta e ricca di potenziali nuovi elementi applicativi che con l'approfondimento degli studi e delle ricerche, pur nella complessità costitutiva dell'ecosistema del digerente, verranno sempre meglio a configurarsi.

La microflora intestinale costantemente interagisce con l'ambiente, il sistema nervoso centrale, con il sistema endocrino e quello immunologico realizzando un delicato equilibrio. Ogni disturbo di questo delicato equilibrio crea disordini che si ripercuotono negativamente sullo stato di benessere dell'animale.

I microrganismi probiotici utilizzati come integratori della dieta alimentare degli animali rappresentano un valido supporto per contribuire a mantenere in equilibrio tra di loro i vari componenti del sistema ruminale intestinale.

Essi, dopo un'accurata scelta funzionale, possono essere utilizzati come integratori alimentari per influenzare il metabolismo ruminale intestinale, per stabilizzare le funzioni di barriera della mucosa intestinale, per correggere locali disfunzioni immunologiche, per prevenire infezioni con germi patogeni e, in altre parole, per avere nel complesso un miglioramento della produttività zootecnica senza correre rischi e quindi operando in biosicurezza per l'uomo e per l'ambiente in cui vive.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Berg R.D. (1996). The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol.*, 4, 430-435.
- [2] Ducluzeau R. (1989). Role of experimental ecology in gastroenterology. In: Bergogne-Berezin E. (Ed.), *Microbial Ecology and Intestinal Infections*. Springer, Paris, pp. 1-5.
- [3] Brassart D. & Schiffrin E.J. (1997). The use of probiotics to reinforce mucosal defence mechanisms. *Trends Food Sci. Technol.*, 8, 321-326.
- [4] Ward D.M., Weller R. & Bateson M.M. (1990). 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature*, 345, 63-65.
- [5] Snel J., Blok H.J., Kengen H.M.P., Ludwig W., Poelma F.G.J., Koopman J.P. & Akkermans A.D.L. (1994). Phylogenetic characterization of *Clostridium* related segmented filamentous bacteria in mice based on 16S ribosomal RNA analysis. *Syst. Appl. Microbiol.*, 17, 172-179.
- [6] Angert E.R., Clements K.D. & Pace N.R. (1993). The largest bacterium. *Nature*, 362, 239-241.
- [7] Gedek B. (1993). Darmflora-Physiologie und Ökologie. *Chemother. J.*, Suppl. 1, 2-6.
- [8] Tannock G.W. (1997). Probiotic properties of lactic acid bacteria: Plenty of scope for fundamental R&D. *Trends Biotechnol.*, 15, 270-274.
- [9] Mordenti A. (1989). Probiotic and new aspects of growth promoters in pig production. Options Mediterranee CEE/CIHEAM, March, pp. 165-168.
- [10] Mordenti A. & Martelli G. (1997). Probiotici: ausinici senza residui. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 9, 39-50.
- [11] Du Toit M., Dicks L.M.T. & Holzapfel W.H. (2001). Taxonomy of obligately homofermentative and facultatively heterofermentative lactobacilli in pig faeces. *Lett. Appl. Microbiol.*, 32, 199-204.
- [12] Zamudio M., Gonzales A. & Medina J.A. (2001). *Lactobacillus plantarum* phytase activity is due to non-specific acid phosphatase. *Lett. Appl. Microbiol.*, 32, 181-184.
- [13] Sreeramulu G., Srinivasa D.S., Nand K. & Joseph R. (1996). *Lactobacillus amylovorus* as a phytase producer in submerged culture. *Lett. Appl. Microbiol.*, 23, 385-388.
- [14] Tournut J. (1989). Les probiotiques en élevage: applications. *Rev. Sci. Off. Int. Epiz.*, 8 (2), 535-549.
- [15] Martelli P. (1991). Ricerche sugli effetti nutrizionali e sanitari dell'impiego di *Bacillus subtilis* come additivo probiotico nell'alimentazione del suino. *Atti tavola rotonda BIOMATE 2B Plus il probiotico termoresistente per l'industria mangimistica*. Bologna, 7 ottobre.
- [16] Succi G., Sandrucci A., Tamburini A., Adami A. & Cavazzoni V. (1995). Studio dell'effetto di un nuovo ceppo di *B. coagulans* come probiotico sulle performance del suinetto. *Riv. Suinicoltura*, 36 (12), 59-63.
- [17] Bonomi A., Quarantelli A. & Cerati C. (1994). L'impiego del *B. subtilis* in associazione con un pool enzimatico nell'alimentazione delle scrofe e dei suinetti in fase di svezzamento. *Riv. Sci. Alim.* 24 (4), 583-594.
- [18] Sarra P.G., Bottazzi V., Bosi E., Tarocco C. & Beccaro P.V. (1981). Integrazione della dieta con *Streptococcus faecium* nell'allevamento del suino. *Riv. Zoot. Vet.*, 9, 101-110.
- [19] Zacconi C., Parisi M.G., Sarra P.G., Dallavalle P. & Bottazzi V. (1995). Competitive exclusion of *Salmonella kedougou* in kefir fed chicks. *Microb. Alim. Nutr.*, 12, 387-390.