

# USO DI ACIDI ORGANICI A CORTA CATENA E RIDUZIONE DELLE LESIONI PLANTARI NEL BROILER: RISULTATI PRELIMINARI

Tosi G.<sup>1</sup>, Caminiti A.<sup>1</sup>, Fiorentini L.<sup>1</sup>, Massi P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Istituto zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sezione diagnostica di Forlì, via Don Eugenio Servadei 3E-F, 47122, Forlì*

## Summary

Short-chain fatty acids (SCFA) have several positive effects on broilers as they improve animal production parameters and show a considerable antimicrobial activity. In this study, the effect of dietary supplementation with SCFA has been evaluated on i) the growth of intestinal *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* populations, and on ii) the severity of lesions observed on the plantar surface of broilers. For the first objective, a negative binomial regression was used to evaluate the differences in the number of *C. perfringens* and *E. coli* cell forming units per gram (CFUs/g) in the ileum between broilers of the control group and broilers fed the same diet supplemented with SCFA (treatment group). For the second objective, a multinomial logistic regression was used to evaluate whether the type of diet (basal diet or diet supplemented with the additive) significantly affected the severity of lesions observed on the plantar surface.

The statistical analysis was performed in a Bayesian framework. Results showed that the number of *C. perfringens* CFUs/g significantly decreased by 77.8% (=median of the posterior distribution) in broilers receiving the feed additive, whereas the number of *E. coli* CFUs/g decreased by 97.3%. Regarding the severity of lesions observed on the plantar surface, controls were 3.55 times as likely to have mild lesions compared with broilers of the treatment group. Dietary supplementation with SCFA significantly reduced specific intestinal microbial populations and decreased the prevalence and severity of lesions on the plantar surface

## INTRODUZIONE

Da diversi anni, gli acidi grassi a corta catena (AGCC) sono utilizzati in zootecnia come additivo per mangimi. Gli AGCC hanno dimostrato di esercitare una serie di effetti positivi in allevamento quali, ad esempio, il miglioramento dei parametri produttivi, il miglioramento della palatabilità del mangime ed una notevole attività antimicrobica. Tali effetti sono stati osservati nel pollo, ma anche in altre specie animali quali il suino e il bovino (Castillo et al., 2004; Diao et al., 2016; Upadhyaya et al., 2014). Nell'ambito delle moderne tecniche di allevamento del broiler, l'attività antibatterica degli AGCC riveste un ruolo particolarmente importante, in quanto tali composti sono stati riconosciuti come una delle più promettenti alternative all'utilizzo degli antibiotici come promotori di crescita. A tal proposito, si ricorda che l'utilizzo degli antibiotici per tale scopo è stato bandito all'interno dell'Unione Europea nel 2006 (Regolamento CE No. 1831/2003).

Questo articolo descrive il disegno di studio, l'analisi statistica ed i risultati di una sperimentazione condotta direttamente in campo per verificare gli effetti di una dieta arricchita con AGCC nell'allevamento del broiler. In particolare, è stato valutato se l'impiego di AGCC è in grado di ridurre significativamente i) la crescita

di *C. perfringens* and *E. coli* nell'ileo e ii) la prevalenza e gravità delle lesioni sulla superficie plantare.

## **MATERIALI E METODI**

### **Additivo**

L'additivo utilizzato è stato Avimatrix, una preparazione granulata prodotta da Novus International (St. Charles, Missouri, USA) contenente acido benzoico (42.5–50%), formiato di calcio (2.5-3.5%) e acido fumarico (0.8-1.2%) incapsulati in una matrice lipidica.

### **Disegno dello studio**

Lo studio di campo è stato eseguito fra ottobre e novembre 2015 in un allevamento composto da quattro capannoni della capacità di 10,000 broiler ognuno. La linea genetica allevata era la Ross 308. In due capannoni selezionati dall'allevatore, i broiler sono stati alimentati con una formulazione di base, mentre negli altri due capannoni i broiler sono stati alimentati con la stessa formulazione e l'aggiunta dell'additivo al dosaggio di 500g per tonnellata di mangime completo. Questa alimentazione è stata somministrata fin dal primo giorno di vita dei broiler e continuativamente per tutto il periodo di ingrasso. L'additivo è stato fornito gratuitamente dall'azienda produttrice. L'unità sperimentale era rappresentata dai singoli broiler, i quali sono stati prelevati dai capannoni in due eventi successivi, ovvero a 20 e 34 giorni di età. Durante il primo prelievo, 10 broiler sono stati prelevati da ogni capannone da un operatore dell'allevamento istruito a selezionare gli animali lungo le pareti laterali, al centro e lungo la parte opposta all'ingresso del capannone. Con il primo prelievo sono stati perciò selezionati 40 broiler, 20 del gruppo di controllo (alimentati con dieta di base) e 20 del gruppo di trattamento (alimentati con la dieta di base arricchita con l'additivo).

I broiler prelevati sono stati sottoposti individualmente ad un esame necroscopico durante il quale è stata prelevata una porzione di ileo di circa 5 cm a valle del diverticolo di Merkel. Il contenuto fecale di questa porzione è stato analizzato per il conteggio delle unità formanti colonia per grammo (UFC/g) di *C. perfringens* and *E. coli*. Il metodo proposto da Tsiouris et al. (2013) è stato utilizzato per la conta di *C. perfringens*, mentre un metodo di analisi interno è stato utilizzato per la conta di *E. coli*. Allo stesso tempo, un veterinario patologo ha valutato in cieco la gravità delle lesioni osservate sulla superficie plantare. Questa valutazione è stata effettuata utilizzando una scala a tre livelli (0 = nessuna lesione; 1 = lesioni lievi; 2= lesioni gravi) descritta in un protocollo appositamente realizzato per la sperimentazione. Il secondo prelievo di broiler è stato effettuato a due settimane di distanza dal primo e con le stesse modalità. Anche i broiler del secondo prelievo sono stati sottoposti alle stesse analisi descritte in precedenza.

Il numero totale di broiler prelevati è stato perciò 80, di cui 40 broiler del gruppo di controllo (20 broiler di 20 giorni di età e 20 di 34 giorni di età) e 40 broiler del gruppo di trattamento (20 broiler di 20 giorni di età e 20 di 34 giorni di età).

### **Analisi statistica**

L'analisi statistica è stata condotta seguendo un approccio Bayesiano. Il software utilizzato è stato Winbugs 1.4.3 (Spiegelhalter et al., 1999).

Per valutare se il numero di UFC/g di *C. perfringens* and *E. coli* nell'ileo fosse significativamente inferiore nei broiler del gruppo trattato rispetto ai broiler del gruppo

di controllo, è stata utilizzato un modello di regressione binomiale negativa ad intercette casuali.

Per valutare se il tipo di dieta potesse influenzare il grado di severità delle lesioni osservate sulla superficie plantare, è stato invece utilizzato un modello di regressione logistica multinomiale.

La bontà di adattamento di tutti i modelli è stata valutata calcolando il p-value Bayesiano direttamente nel codice di Winbugs.

## RISULTATI

I risultati della regressione binomiale negativa sono riportati in **Tabella 1**. I risultati mostrano che il numero di UFC/g di *C. perfringens* nell'ileo era inferiore del 77,8% (valore mediano della distribuzione a posteriori) nei broiler che avevano ricevuto l'additivo rispetto ai broiler del gruppo di controllo. Per quanto riguarda *E. coli*, il numero di UFC/g era invece inferiore del 97,3% (oltre 1 riduzione logaritmica).

In **Tabella 2** è riportata la tabella di contingenza relativa alla gravità delle lesioni osservate sulla superficie plantare. I risultati della regressione logistica multinomiale sono riportati in **Tabella 3**. I risultati di questa regressione, espressi sotto forma di rapporto fra rischi relativi (RRR), mostrano che il rischio dei broiler del gruppo di controllo di sviluppare lesioni di media gravità era 3,55 volte quello dei broiler alimentati con l'additivo (**Tabella 3**). Tuttavia, non è stata osservata un differenza significativa fra il gruppo di controllo e quello di trattamento relativamente al rischio di sviluppare lesioni gravi (**Tabella 3**).

## DISCUSSIONE

Questa sperimentazione è stata condotta per investigare direttamente in allevamento gli effetti degli AGCC i) sulla crescita di specifiche popolazioni microbiche dell'ileo e ii) sulla gravità delle lesioni osservate sulla superficie plantare.

Riguardo al primo obiettivo dello studio, i risultati suggeriscono che l'uso di AGCC nel mangime riduce significativamente il numero di UFC/g di *C. perfringens* e *E. coli* nell'ileo, come osservato anche da altri autori (Stringfellow et al., 2009; Hassan et al., 2010). Riguardo al secondo obiettivo dello studio, l'uso di AGCC ha dimostrato di ridurre significativamente il numero di broiler con lesioni di lieve entità sulla superficie plantare, anche se le stesse evidenze non sono state osservate per le lesioni più gravi.

Questi risultati suggeriscono che l'aggiunta di AGCC alla dieta del broiler potrebbe produrre una combinazione di effetti biologici positivi che include la riduzione della carica batterica nella lettiera, una possibile mitigazione della virulenza di batteri patogeni ed infine una riduzione dell'infiammazione della mucosa intestinale (Khan et al., 2016; Rieke, 2002). L'infiammazione intestinale può infatti produrre delle lesioni sulla superficie della mucosa le quali possono creare una condizione di diarrea cronica e un aumento del contenuto umido della lettiera (Collett et al., 2012). L'umidità della lettiera è considerato uno dei fattori più importanti nella genesi delle lesioni necrotiche sulla superficie plantare (Taira et al., 2014).

I risultati di questo studio hanno diverse implicazioni per la salute ed il benessere del broiler. La dermatite plantare è una condizione per la quale il broiler percepisce dolore e può rappresentare una via d'ingresso per eventuali agenti patogeni.

La presenza di lesioni plantari, tra l'altro, è un parametro attualmente utilizzato in Unione europea per valutare il benessere del pollame.

In conclusione, questo studio riporta risultati preliminari promettenti per l'uso degli AGCC nell'allevamento del broiler.

## **BIBLIOGRAFIA**

Castillo, C., Benedito J. L., Méndezb J., Pereira V., López-Alonso M., Miranda M. and J. Hernández. 2004. Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115:101–116.

Collett, S.R., 2012. Nutrition and wet litter problems in poultry. *Anim. Feed Sci. Technol.* 173, 65–75.

Diao, H., Z. Gao, B. Yu, P. Zheng, J. He, J.Yu, Z. Huang, D.Chen, and X. Mao. 2016. Effects of benzoic acid (VevoVital®) on the performance and jejunal digestive physiology in young pigs. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 7:32.

Khan, S. H., and J. Iqbal. 2016. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. *J. Appl. Anim. Res.* 44:359-369.

Hassan, H. M. A., M. A. Mohamed, Y. AW, and E. R. Hassan. 2010. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance. *Asian-Aus J Animal Sci.* 23:1348–1353

Spiegelhalter, D. J., A. Thomas, and N. G. Best. 1999. WinBUGS Version 1.2 User Manual.

Stringfellow, K., J. McReynolds, J. Lee, J. Byrd, D. Nisbet, and M. Farnell. 2009. Effect of bismuth citrate, lactose, and organic acid on necrotic enteritis in broilers. *Poult. Sci.* 88:2280-2284

Taira, K., T. Nagai, T. Obi, and k. Takase. 2014. Effect of litter moisture on the development of footpad dermatitis in broiler chickens. *J. Vet. Med. Sci.* 76:583–586.

Upadhaya, S. D., Lee K. Y., and I. H. Kim. 2014. Protected organic acid blends as an alternative to antibiotics in finishing pigs. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 11:1600-1607.

**Tabella 1.** Risultati della regressione binomiale negativa per confrontare il numero di UFC/g di *C. perfringens* and *E. coli* fra il gruppo di controllo e il gruppo di trattamento.

*C. perfringens*

	Mediana	ICP 95% <sup>a</sup>		
Coefficiente beta	-1.5	-2.4	-	-0.6
Variazione % in UFC/g nei broiler trattati <sup>b</sup>	-77.8	-91	-	-45
P-value bayesiano <sup>c</sup>	0.17			

*E. coli*

	Median	95% PCI <sup>a</sup>		
Coefficiente beta	-3.6	-6.4	-	-0.7
Variazione % in UFC/g nei broiler trattati <sup>b</sup>	-97.3	-99.8	-	-52.4
P-value bayesiano <sup>c</sup>	0.32			

<sup>a</sup> ICP 95% = Intervallo di credibilità a posteriori del 95%

<sup>b</sup> La variazione percentuale è stata calcolata secondo la formula fornita da Kennedy, P. E. (1981)

<sup>c</sup> Un valore al di sotto di 0.05 or sopra 0.95 indica una bontà di adattamento del modello non sufficiente

**Tabella 2.** Numero di broiler con lesioni gravi, lievi o nessuna lesione sulla superficie plantare nel gruppo di controllo e trattamento.

	Gravità delle lesioni		
	Gravi	Lievi	Nessuna lesione
Gruppo di controllo	1	12	27
Gruppo di trattamento	1	5	34

**Tabella 3.** Risultati e valori della bontà di adattamento del modello di regressione logistica multinomiale per valutare se il tipo di dieta potesse influenzare la gravità delle lesioni osservate sulla superficie plantare. I rapporti di rischio relativo (RRR) statisticamente significativi sono evidenziati con un asterisco\*.

<b>Gravità delle lesioni</b>	<b>Predittore</b>	<b>RRR</b>	<b>ICP 95%<sup>a</sup></b>
Lesioni lievi	Dieta di base	3.55*	1.06 - 12.21
Lesioni gravi	Dieta di base	0.65	0.03 - 6.29
P-value bayesiano <sup>b</sup>	0.54		

<sup>a</sup> ICP 95% = Intervallo di credibilità a posteriori del 95%

<sup>b</sup> Un valore al di sotto di 0.05 or sopra 0.95 indica una bontà di adattamento del modello non sufficiente