

Diarree Neonatali dei Suinetti :
Il ruolo dell'equilibrio intestinale della scrofa
uso del lievito vivo **S.boulardii**

Yannig Le Treut DVM

Scenario :

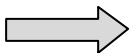
10-15 anni → grandi cambiamenti nella suinicoltura

? Regolamenti:

- divieto farina di carne ed ossa
- benessere, ambiente (P and N), Zn e Cu
- molecole ? DMZ, Furanici, AGPs

? Iperprolificità:

- dimensione nidiata (55% > 15 nati vivi), vitalità
- peso alla nascita, omogeneità (suinetti molto piccoli)
- maturità
- baliaggi (ingestione di colostro!)



Nuove malattie virali emergenti (PMWS...)
Aumento della diarrea neonatale

Conseguenze (1)

- Eterogeneità Suinetti

- **Peso medio** nascita ridotto
 - 12 => 16 suinetti : peso nidiata +16%
 - ? 9 => 12 suinetti : peso nidiata +33%
- Suinetti molto **piccoli**
 - ?% suinetti <1.2Kg : 10 => 30%



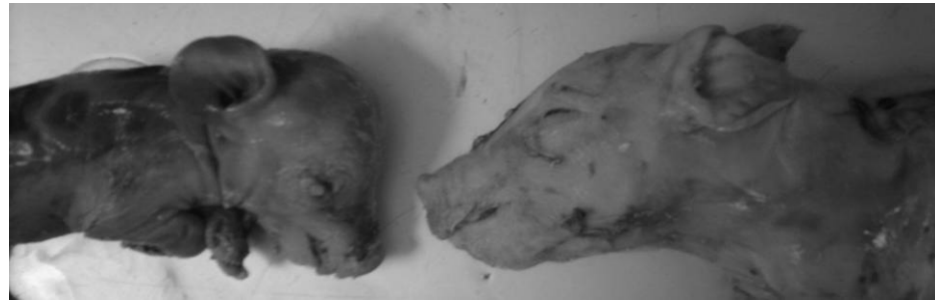
- Durata parto

212 min +/- 72 min per 13.6 suinetti

- il parto molto lungo porta a :

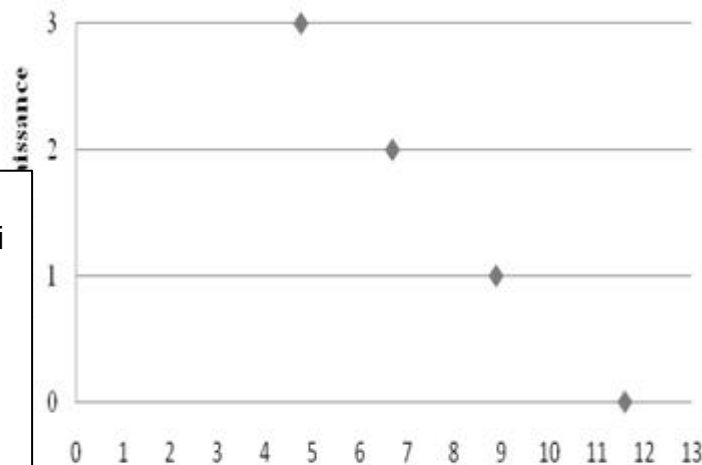
- ? **Aumento dei Nati Morti** (%= 0.86 Total Born- 5)
- ? **Meno vitalità dei suinetti**
- ? **Ingestione di colostro eterogenea**

Conseguenze (2):



- Vitalità :**
- legata a:
 - % sopravvivenza allo svezzamento
 - ingestione di colostro
 - difficile da valutare: nuova scala di annotazione

scala



Vitalità
Punteggi
0

Punteggio Vitalità	Peso alla nascita (kg)
0	0,929
1	1,320
2	1,393
3	1,437

Graduatoria di nascita del suinetto

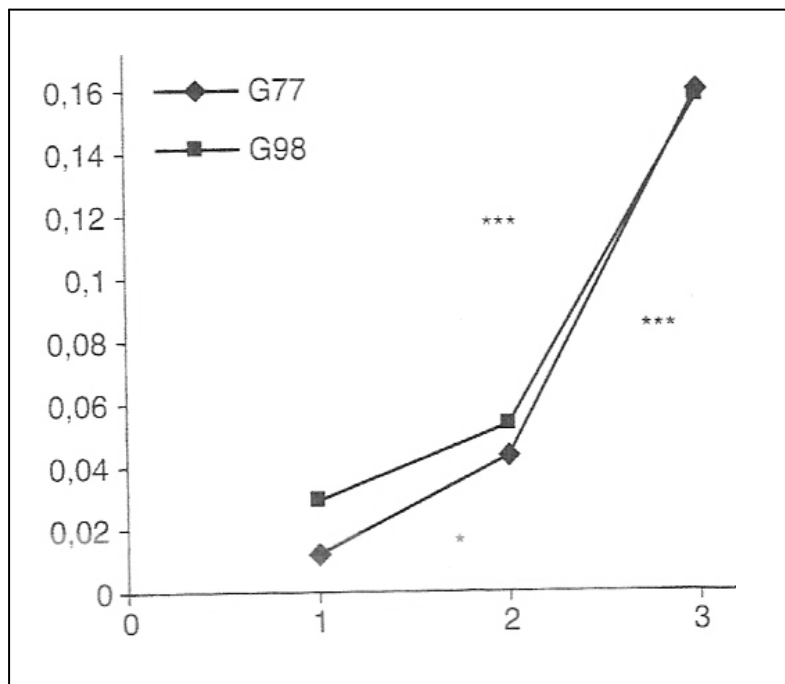


Nuovo: valutazione della vitalità nei primi 15 secondi di vita

Conseguenze (3)

? **NATI MORTI:** Aumento dei suinetti **nati morti**

- nell'**ultimo terzo** del parto
- Specialmente i suinetti molto leggeri



% di nati morti dipende dal momento della nascita:

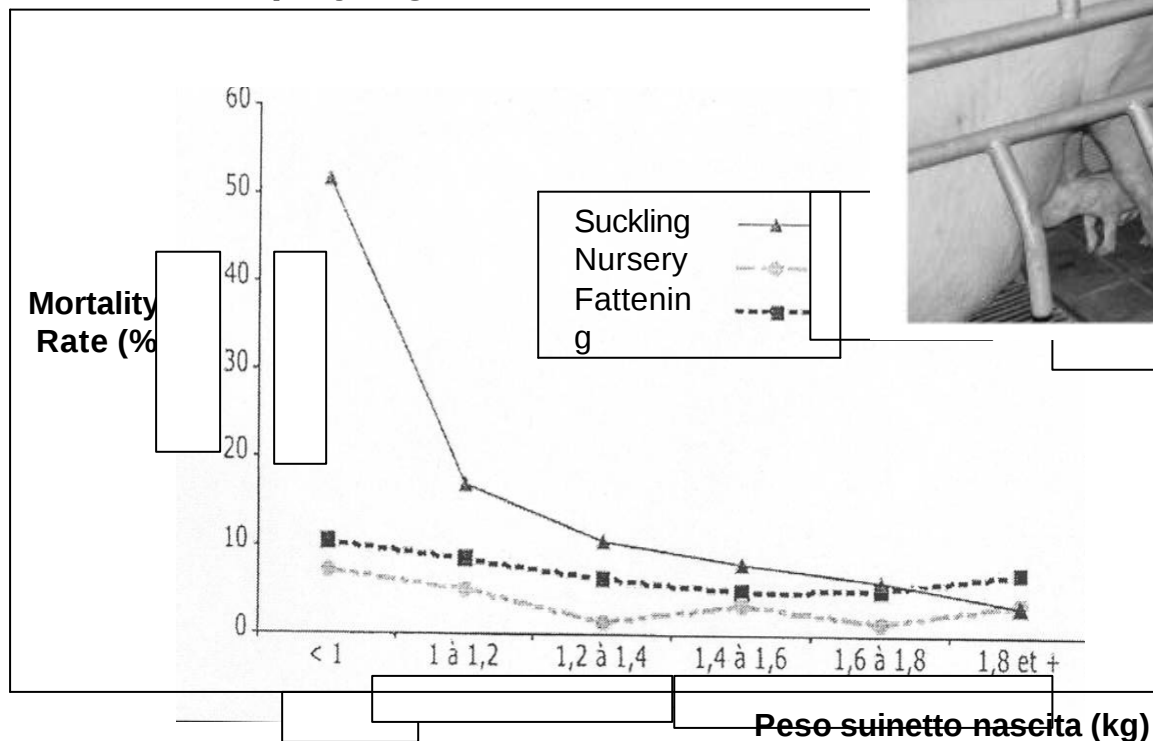
- 1 rappresenta il 20% dei primi suinetti
- 2 rappresenta il 60% dei suinetti che seguono
- 3 rappresenta il 20% dei suinetti finali

Conseguenze (3)

Prolificità e Mortalità Pre-svezzamento

Suinetti <1 Kg :

- Elevato rischio di mortalità nelle prime 48 ore:
 - Suinetti **schiacciati** 86%
 - **Basso peso** nascita :78%
 - **Splay leg** :28%



(LAN survey 2005)



(LE COZLER 2004)

Conseguenze (4)

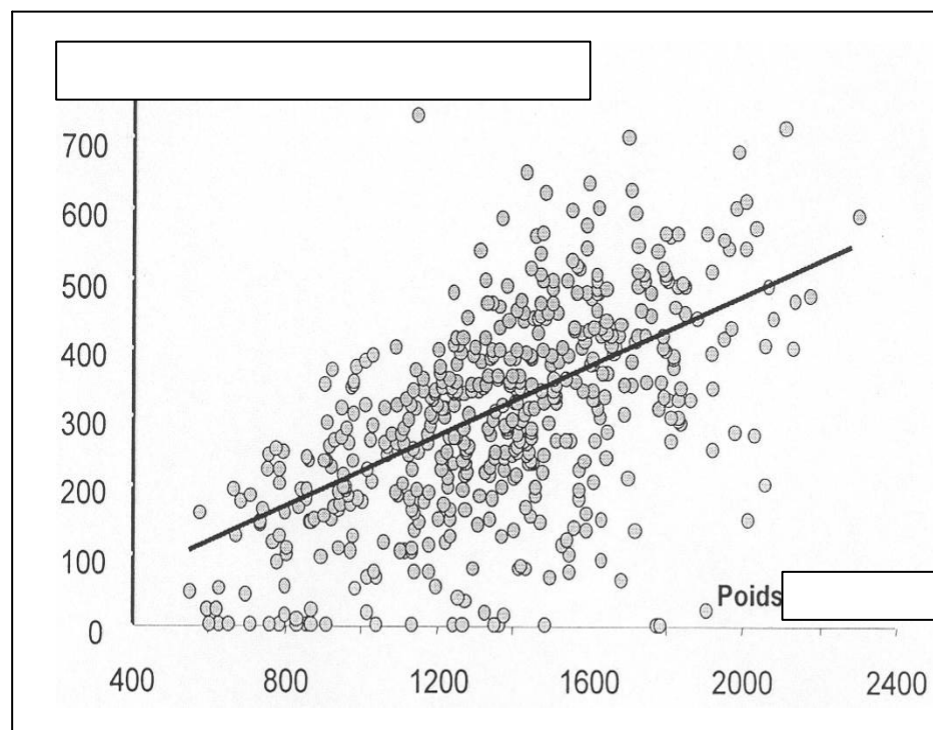
? Ingestione di Colostro:

? con suinetti meno vitali:

=> Ridotta assunzione di colostro

=> Colostro di qualità inferiore

Ingestione di
Colostro (g)



Peso suinetto alla nascita
(g)

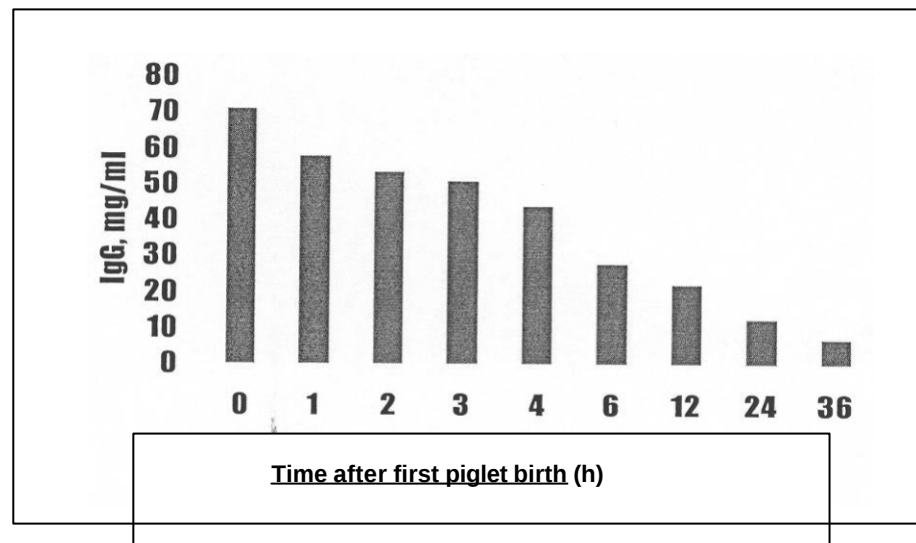
(Le Cozler 2004)

Conseguenze (5)

- I suinetti hanno meno vigore:

? Assunzione di colostro ridotta

? Inferiore qualità del colostro



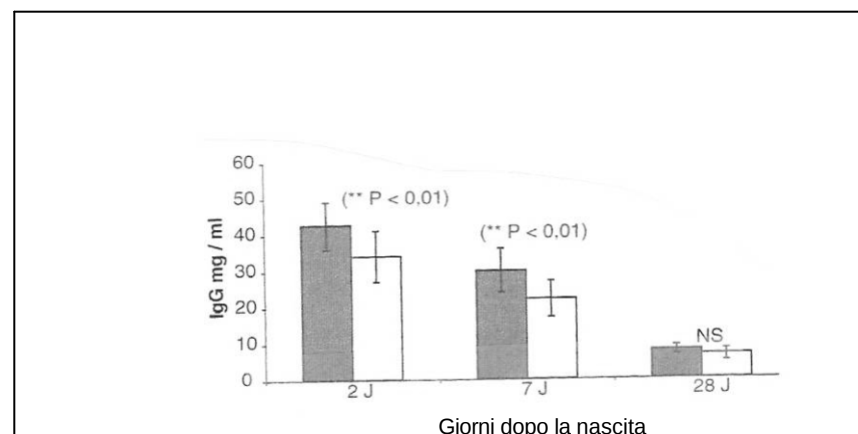
Qualità del colostro in relazione con il tempo trascorso dalla nascita del primo suinetto

- Ultimi suinetti:

? meno ingestione colostro

? bassa qualità colostro

ed ? **effetti a lungo termine**



Concentrazione IgG nel siero dei suinetti in base alla graduatoria di nascita

- 3.4 in media (36 mn)

- 13.3 in media (136 mn)

(CARIOLET 2007)

Diarrea neonatale del suinetto:

Situazione Attuale in Francia :

- a metà degli anni 80', forte calo di problemi da **E.coli** con vaccinazione
- **C.difficile** non veniva insegnato agli studenti di veterinaria, si iniziava a parlare di **Clostridium perfringens** (vaccini a base delle tossine del C.perfringens).
- **TGE** scomparsa nei primi anni 90' (mutazione virale)
- La diarrea Neonatale ha ricominciato nuovamente ad aumentare nelle le scrofe più prolifiche.
- negli USA Jaegger descriveva il ruolo del C.diff in almeno il 50% dei casi (da solo o in combinazione con altri patogeni)
- **Rotavirus** probabilmente sottovalutato ma non così frequente

.... MA

Nel 2005, in Bretagna:

- 46% della campioni di diarrea erano positivi per le tossine A e B del **C.diff**
- 85% positive per **C.perfringens**

Enterococcus durans fu trovato in molti campioni a livelli molto alti

Diarrea Neonatale del Suinetto:

Emerge una nuova teoria :

Nella maggioranza dei casi, la diarrea neonatale non è tanto una malattia dei suinetti ma origina da un forte squilibrio della flora digerente della scrofa all'epoca del parto.

C.difficile è altamente resistente agli antibiotici: qualunque trattamento su larga scala con antibiotici su scrofa e suinetti, facilita la selezione del C.difficile

(specialmente quando i suinetti vengono iniettati alla nascita in un momento in cui la loro flora si deve formare/ alla nascita i suinetti sono sterili!)

l'approccio Nosocomiale (Professor gp Martineau)

Nuovi traguardi per la suinicoltura

Il Parto: la fase cruciale

Stress subiti dalle nostre scrofe:

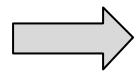
- dimensione nidata nell'addome
- cambiamenti ormonali
- dalla gestazione a sala parto
- cambio dieta (presentazione e formulazione)
- Ingestione mangime si riduce prima del parto

Sfide: ridurre questi stress ed in particolare

- Limitare la stitichezza ed il rallentamento del transito digerente
 - **Dolore**, scarso comfort
 - Irrequietezza
 - Cattive **fermentazioni**
 - Produzione di Tossine
- ⇒ **MMA** (Mastitis-Metritis-Agalaxia)
- ⇒ **PHS** (Peri Parturient Hypogalaxia Syndrome)

⇒ **Diarrea Neonatale: E.coli; C.diff ...**





Qualità del transito (1)

QUANTO E' STITICA LA SCROFA PRIMA DELLO SVEZZAMENTO?

- Il tempo di ritenzione medio è di circa 24- 36 ore a metà gestazione a seconda del contenuto e tipo di fibra della dieta
150g of SILIKIL
- Poco conosciuto intorno al parto
- ma appoggia la teoria che vi siano notevoli cambiamenti nella microflora della scrofa prima del parto che portano ad una errata colonizzazione dei suinetti alla nascita.

➡ Qualità del transito (2)

Effetto del *Saccharomyces boulardii* sul transito del flusso digerente nelle scrofe prime del parto

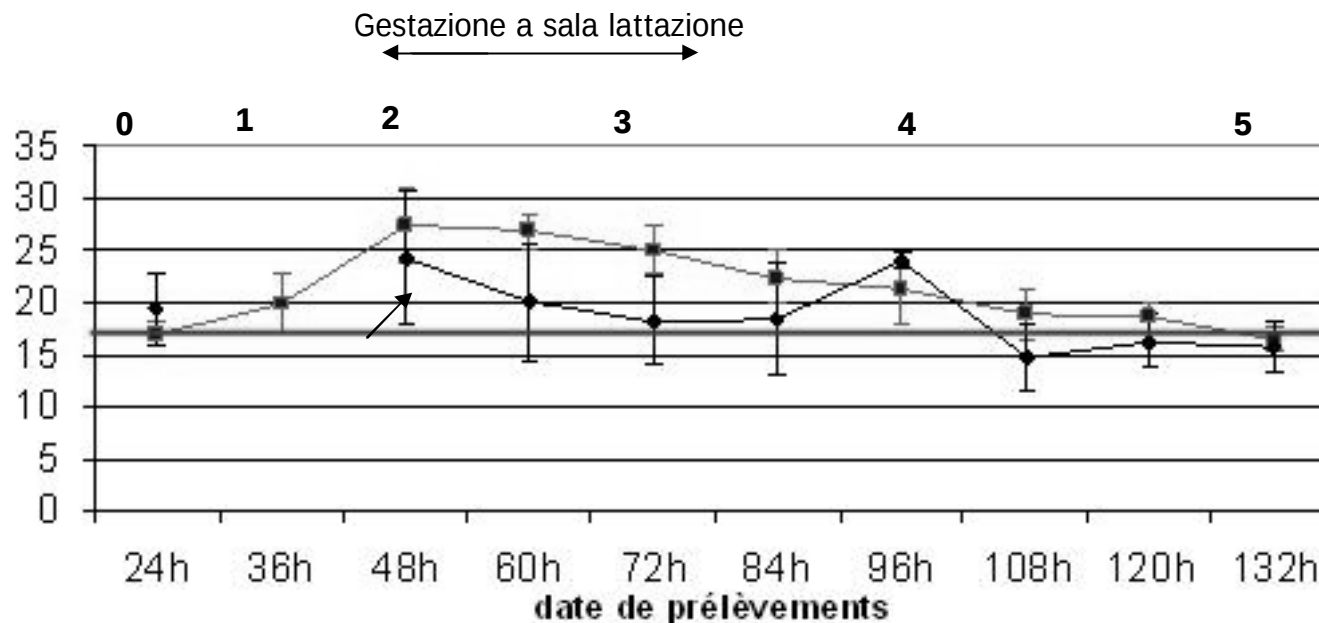
Prova: scomparsa di ceneri usata per individuare il tempo di transito

- *S. boulardii* somministrato in gestazione 3 settimane prima del parto 50 g/t mangime poi 1 g/scrofa/gg (5gg) .
- SILIKIL terra di diatomea, 99.5% di ceneri, **100% indigeribile** (tracor)
- 150g per scrofa in una volta la Domenica. 20 scrofe testate .
- raccolta feci – mattina e sera – per 5 giorni (scrofe spostate in lattazione il Mercoledì: H48 a H72)
- sostanza secca e contenuto in ceneri analizzato (calcolati valori medi/gruppo)

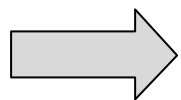


Qualità del transito (3)

Contenuto in Ceneri (% SS)
Media di tutti i valori analizzati



	Gruppo Controllo	Gruppo Levucel SB
0	Contenuto in cenere: base	Contenuto in cenere: base
1	No raccolta feci	SILIKIL : inizio escrezione
2	SILIKIL : inizio escrezione	Picco Elevato di escrezione
3	Trend ? contenuto normale in cenere	Decremento lento e regolare
4	Secondo picco di escrezione	Decremento lento e regolare
5	Livello basale recuperato (4.5 gg)	Livello basale recuperato



Qualità del transito (4)

In questo allevamento (senza precedenti problemi di stitichezza), anche se non è stata fatta una raccolta totale delle feci, abbiamo notato:

- transito digestivo più **regolare** (nel tempo e tra scrofe + di 5 gg)
- meno stitichezza
- meno stress o meno effetto dello stesso stress:
 - ... sulle scrofe che ricevevano **S. boulardii** prima del parto
 - ... probabilmente cambio delle fermentazioni nel intestino
 - ...meno produzione di tossine e miglior comfort e comportamento della scrofa e del suinetto

Nuovi valori :

- Canada 2007. 240 scrofe in 2 lotti
- Disegno fattoriale: S.boulardii x Contenuto di Fibra

Caratterizzazione della flora fecale:

? 20 campioni/ trattamenti a– 3 settimane, - 3 giorni prima del parto
e a +7 giorni dopo il parto

? 240 samples (stoccati a -80°C)

? Test del DNA:

- estrazione ed amplificazione.

(primers: nella regione V6-V8 del gene 16s rDNA)

- Preparato un pool di miscele del DNA

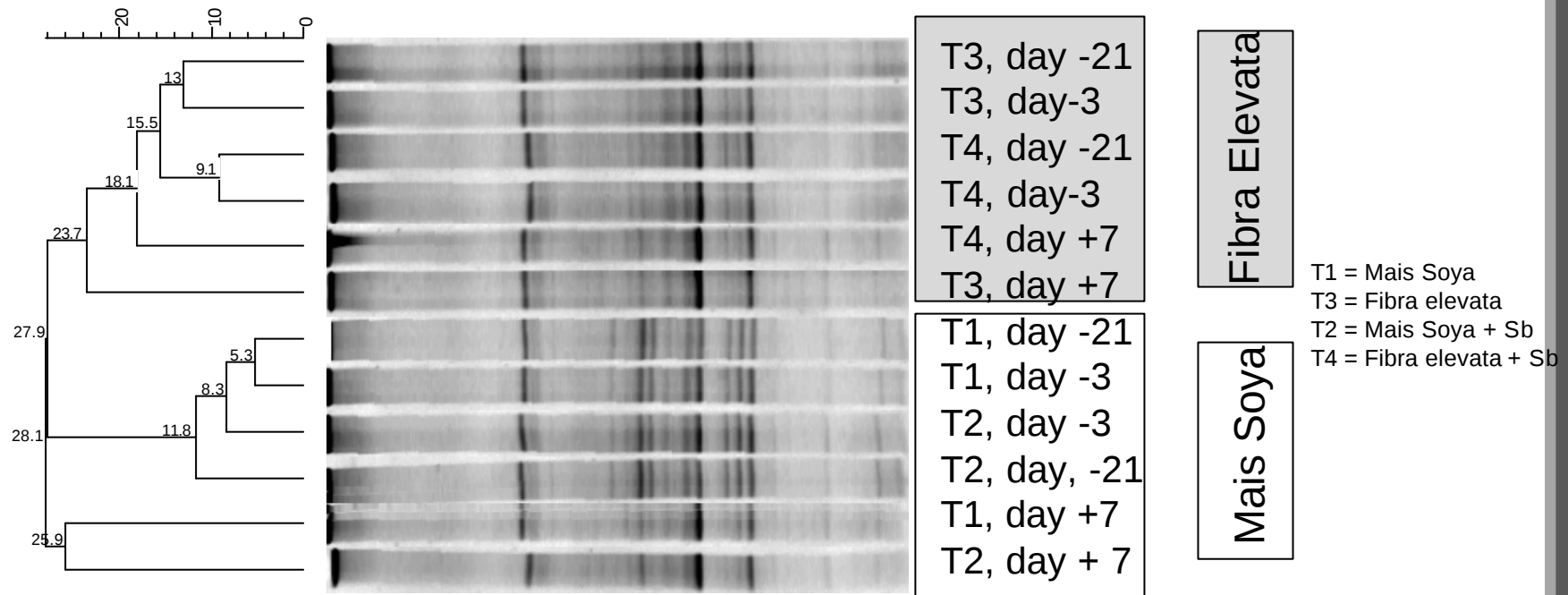
(per ogni giorno per ogni gruppo trattato)

- Amplicons controllati su gel, separati da TTGE

? generata l'impronta del DNA

- Ripetuto per i singoli animali.

Dendrogram cluster analysis



Within diet, clustering of control and *S.boulardii* addition:

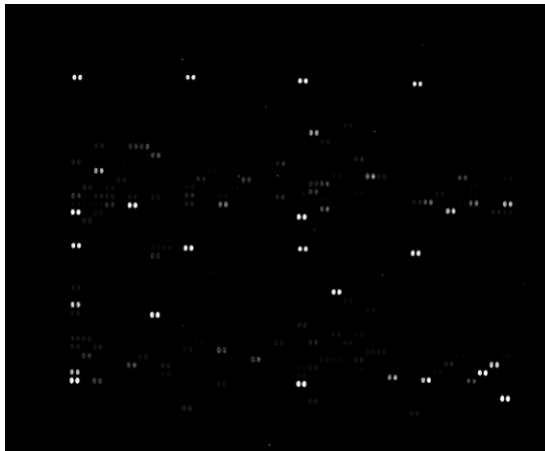
- ➡ **Effetto *S.boulardii*.**
- ➡ **Il parto cambia il profilo microbico.**

Dati Preliminari: microarray analysis

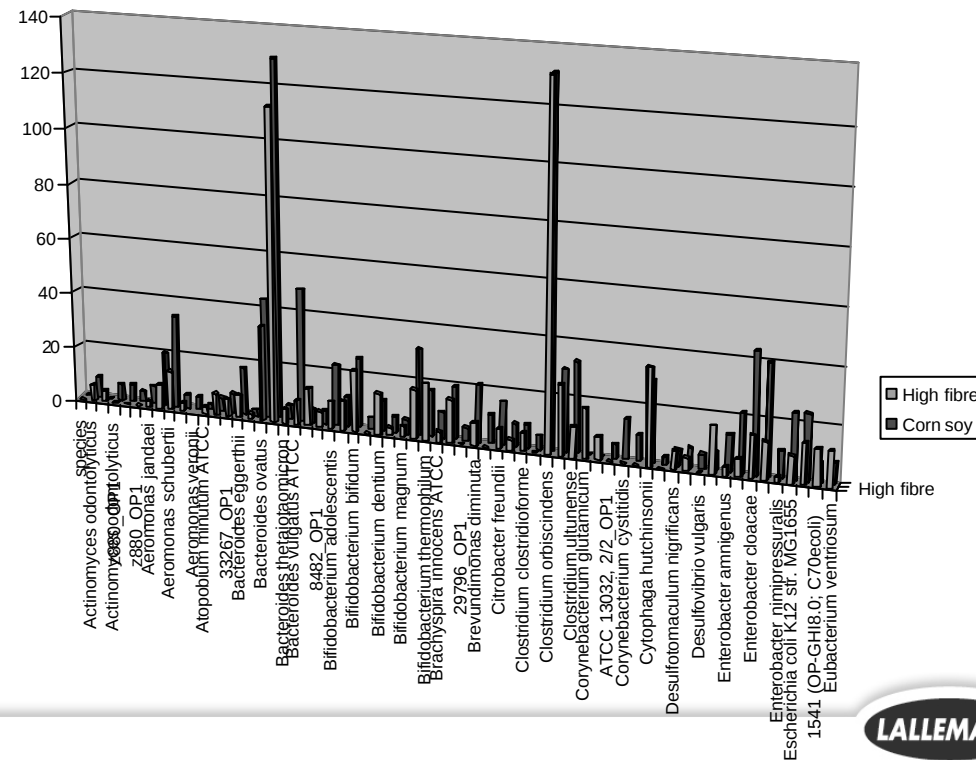
Metodo Nuovo!! – mai usato prima per analizzare la popolazione batterica fecale del suino.

- DNA totale estratto dal campione di feci suine.
- Il gene 16S rDNA amplificato ed etichettato con un flurophore.
- Ibridizzato con un chip con 700 diversi sequenze genetiche batteriche 16S rDNA

? Si ottiene rapidamente la composizione generale della popolazione batterica



Dieta di controllo
Fibra



Effetti pratici del S. boulardii

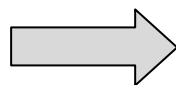
➡ Diarrea Neonatale del suinetto(1)

Prove: molte (Centinaia !!!) testimonianze in tutto il mondo, in genere il primo motivo che porta ad impiegare il S. boulardii specialmente nelle grandi aziende...

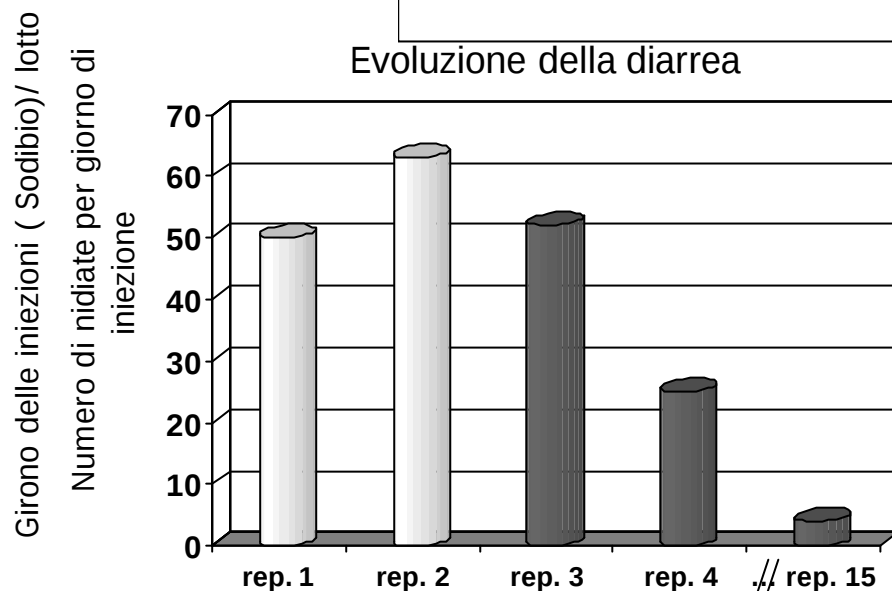
Esempio di un allevamento in Bretagna:

1000 scrofe a ciclo chiuso

- 144 scrofe in 2 gruppi: - **controllo** (77 in lotti 1 and 2)
- **S.boulardii** (67 in lotti 3 e 4)
- **90%** delle nidiate con suinetti affetti da diarrea precoce
(fino al 65% dei suinetti iniettati)
- Frequenza diarrea e gravità valutata tramite la **% di suinetti iniettati con Sodibio®** (Amoxicillina+Colistina).
- Le scrofe trattate ricevettero 50 g/t di lievito vivo nella dieta in gestazione (almeno 3 settimane prima del parto) + 1g/gg in sala parto (7 giorni prima e 4 giorni dopo)



Diarrea neonatale nei suinetti(2)

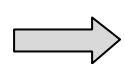


Control
S. boulardii

Effetto
nel tempo

- Nessun di **S. boulardii** sul lotto 3 (primo trattato)
- **S. boulardii** inizia ad essere efficace sul 4° lotto
- La gravità della diarrea è ridotta (più facile da curare...)
- Le scrofe pluripare sono più sensibili al **S. boulardii**...
- Effetti ritardati sulle nidiate delle scrofe primipare
- 5 mesi dopo: il peso individuale dei suinetti allo svezzamento è aumentato di 500 gr
- Risparmiati 2000 Euro in antibiotici
- Per iniettare ogni nidiate 3 -5 minuti (3-4h/settimana per 2 persone)
- Personale più motivato

Effetti pratici del *S.boulardii*

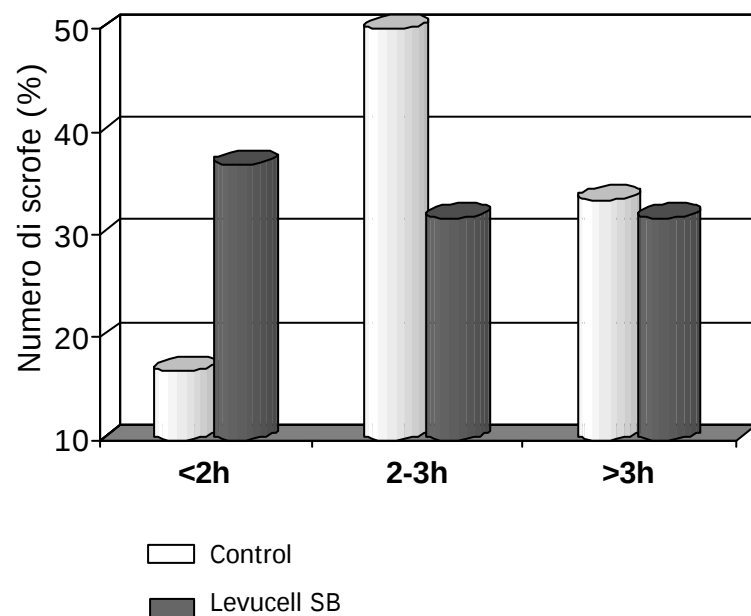


Parto (1):

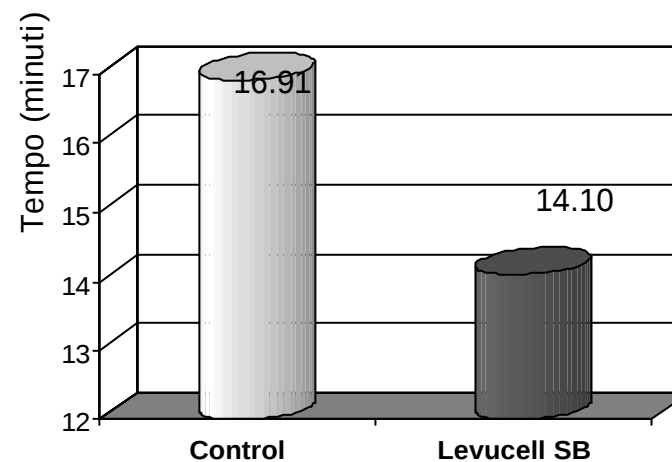
Effetto del *S. boulardii* sulla qualità del parto

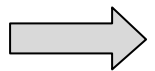
- 37 scrofe: Controllo (18) e *S. boulardii* (19)
- Suinetti nati totali : Controllo (10.67) ; *S. boulardii* (11.79)
- Parto (durata): Controllo (171.4') ; *S. boulardii* (159.3')

Durata del parto



Meno tempo tra due suinetti nati

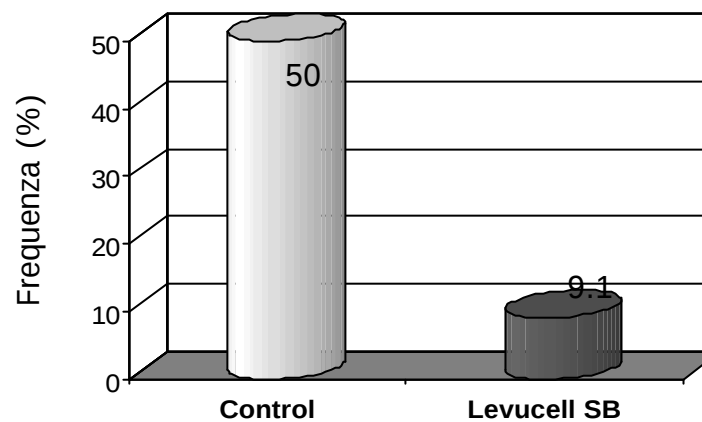




Parto (2)



Frequenza delle scrofe con più di 1 ora tra due suinetti (almeno 1 volta)

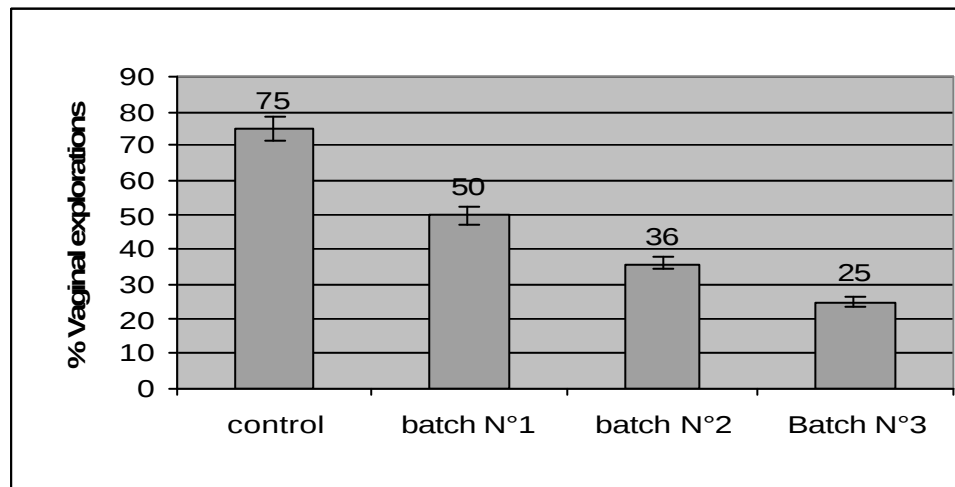


- **Durata del parto ridotta di 12' in media**
- **Minor tempo tra 2 suinetti: 2'30**
- **Qualità del parto migliore:**
 - **Comportamento della scrofa**
 - **Vitalità dei suinetti alla nascita**

Comportamento della scrofa (1):

-Durante il **Parto**:

- meno esplorazioni vaginali
- meno iniezioni di ossitocina
- minor durata del parto
- scrofe più calme



French sow farm
(ARCA Earl Congrier)



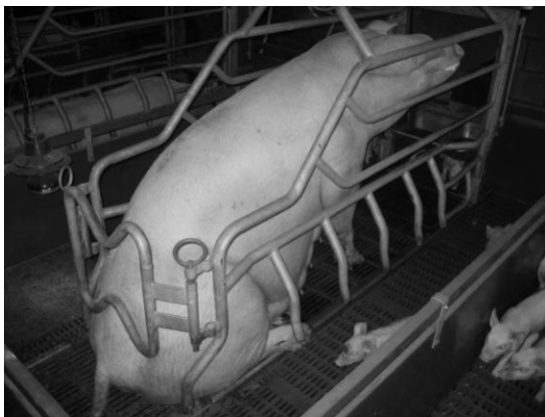
Facile da vedere (sensazione), più difficile da misurare!

Comportamento scrofa (2)

-Dopo il **Parto**: come di sdraia

- tendenza ad alleviare il dolore addominale
- da verificare prima del parto

...o dopo (con agalassia)



➡ Facile da osservare; difficile da misurare (sensazione)

Qual'è il modo di azione?

S.c. boulardii : lievito vivo, perfettamente identificato (profilo DNA)

- **migliaia** di ceppi differenti di **Saccharomyces cerevisiae** (> 1000 presso Lallemand!)
- **MA** il ceppo **I-1079** è stato specificamente selezionato per **Uomo** e **Monogastrici**:
 - isolato dal frutto Litchee fruit nel 1923 (Dr Boulard ; Indocina)
 - molto usato in Medicina Umana: diarrea del viaggiatore;
bambini trattati con Amoxicillina...
 - colite pseudomembranosa: principale malattia nosocomiale disease (C.diff post trattamento antibiotico))

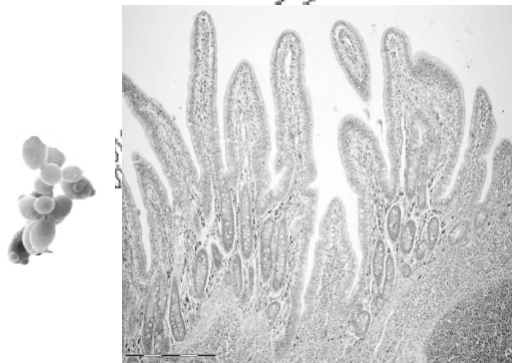
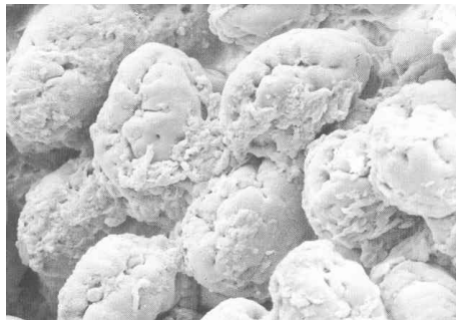
Modo di azione

Effetto Barriera del S. boulardii :

S.boulardii: 3 azioni principali a livello intestinale

Neutralizzazione

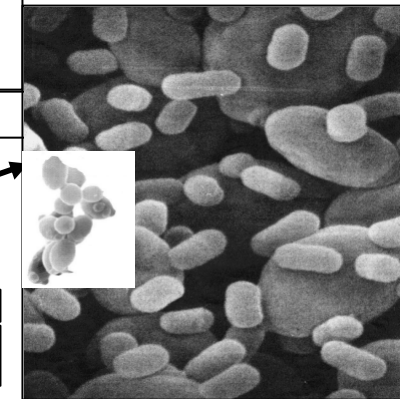
Tossine Clostridium difficile



+ Effetto sull'immunità e salute intestino

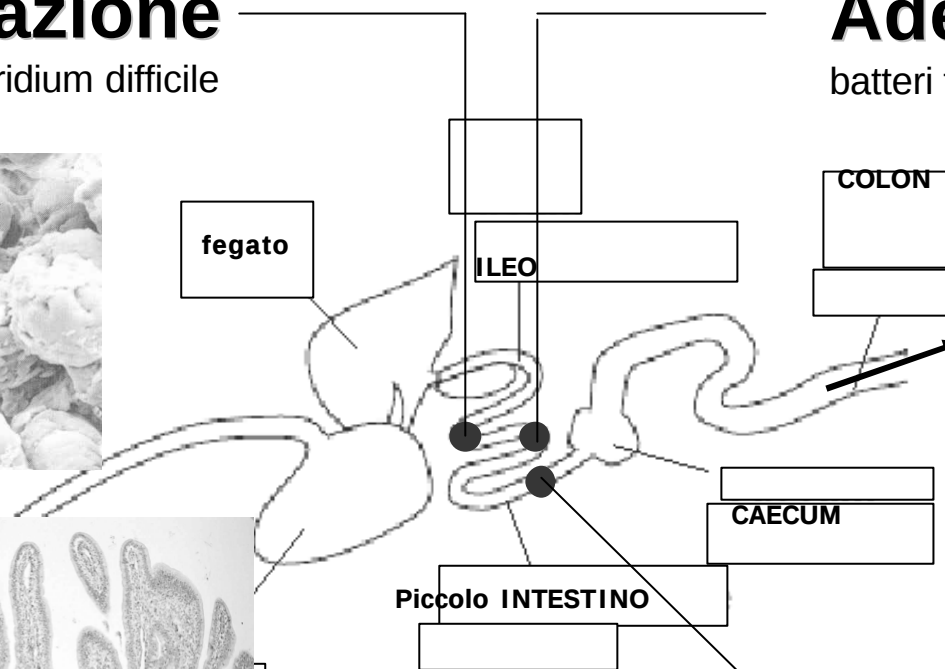
Adesione

batteri flagellati (E.coli)



Rafforzamento

muco, cellule intestinali
ed equilibrio Flora : - lactic acid
bacteria: +1.2 log
- Coliforms: - 0.7 log



➡ **Clostridium difficile**, sempre più spesso identificato come responsabile della diareea neonatale dei suini (46% nel 2005)



- **resistente a quasi tutti gli antibiotici « classici »**
- C.diff tossina A (citotossica) in grado di **azzerare la mucosa**
? **diarrea**
- C.diff tossina B : perdita di liquidi
? **diarrhea**

Oggi il modo di azione è stato studiato (180 riferimenti ed articoli scientifici in rete!)

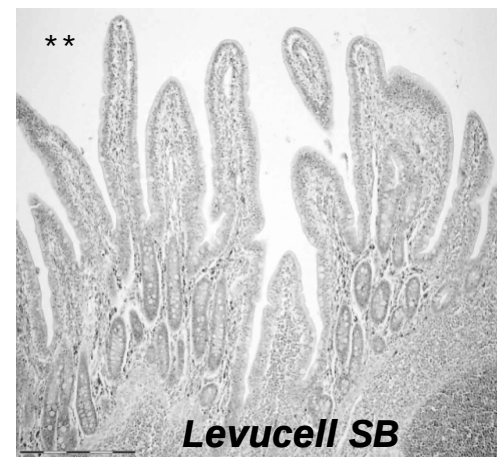
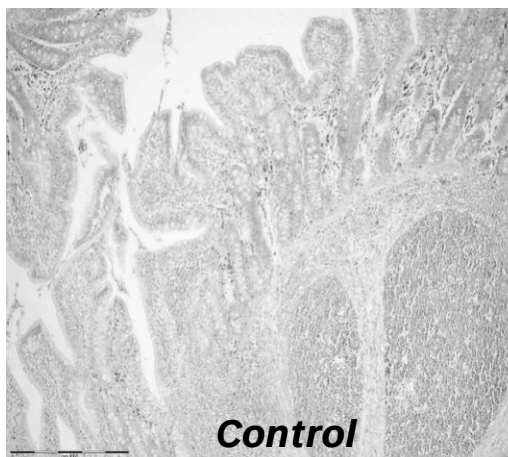
- le 2 tossine : descritte (peso molecolare molto alto) – la proteasi prodotta da S. Boulardii ben conosciuta + una che inibisce la tossina dell'E. coli!
- effetto anti adesione: sia C.diff e Tossina A
- **effetto specifico sulla produzione di Ig A**

Da scoprire: S.boulardi riduce la capacità del ceppo di produrre la tossina.
(descritto ma non ancora spiegato)

Modo di azione: Effetto sulla salute intestinale

➤ *S. c. boulardii* **iaumenta** l'altezza dei villi e la profondità delle cripte.

		CONTROLLO	LEVUCCELL SB
Uty Gand (24)	Villi (μm)	365	399.1 *
	Crypt (μm)	245.3	271.5 *
Uty Milan (23)	Villi (μm)	194.3	243 **
	Crypt (μm)	133.2	177.2 **



Effetto del Levucell SB sull'istomorfometria delle cellule epiteliali
(23)

(23) Di Giancamillo A. 2002. ; DPP 2003

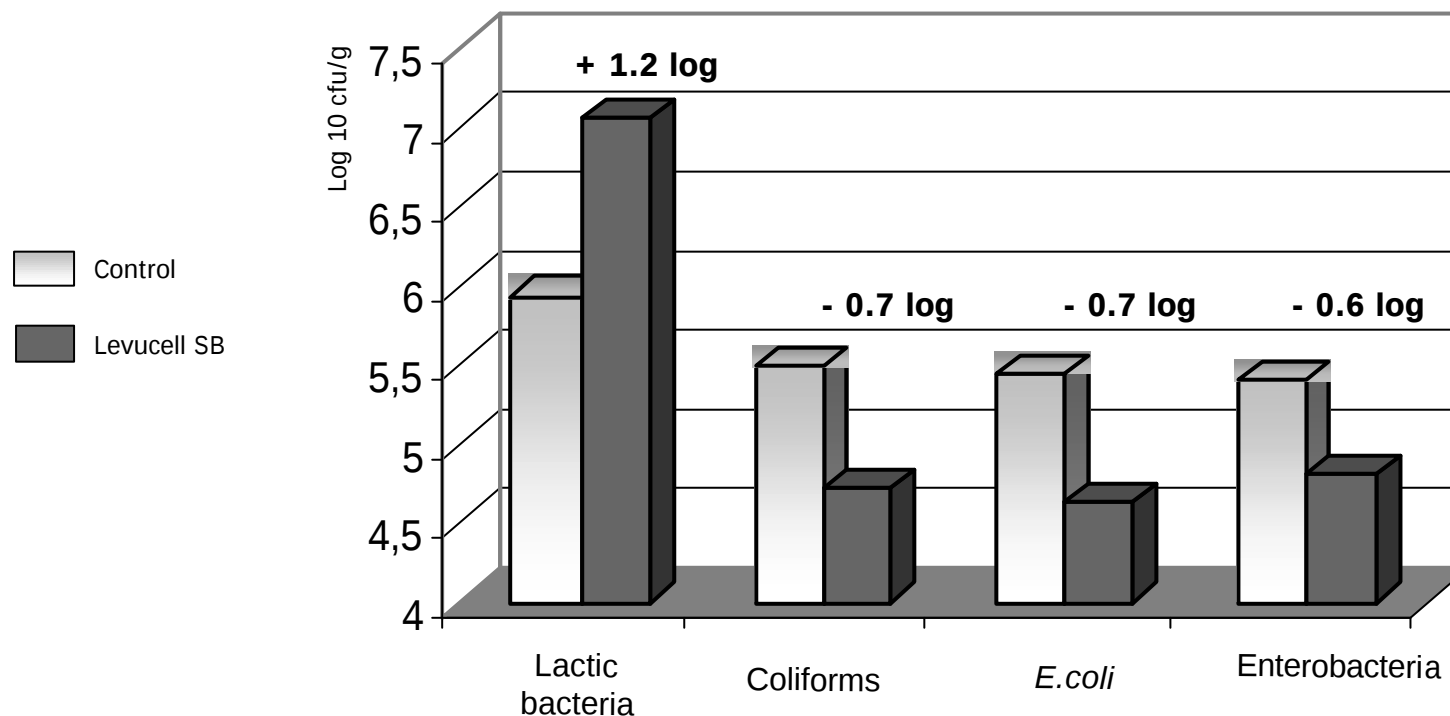
(24) Ghent University, 2001. Effect of Levucell Sb on histomorphology of epithelial cells.

* p < 0.05

** p < 0.01

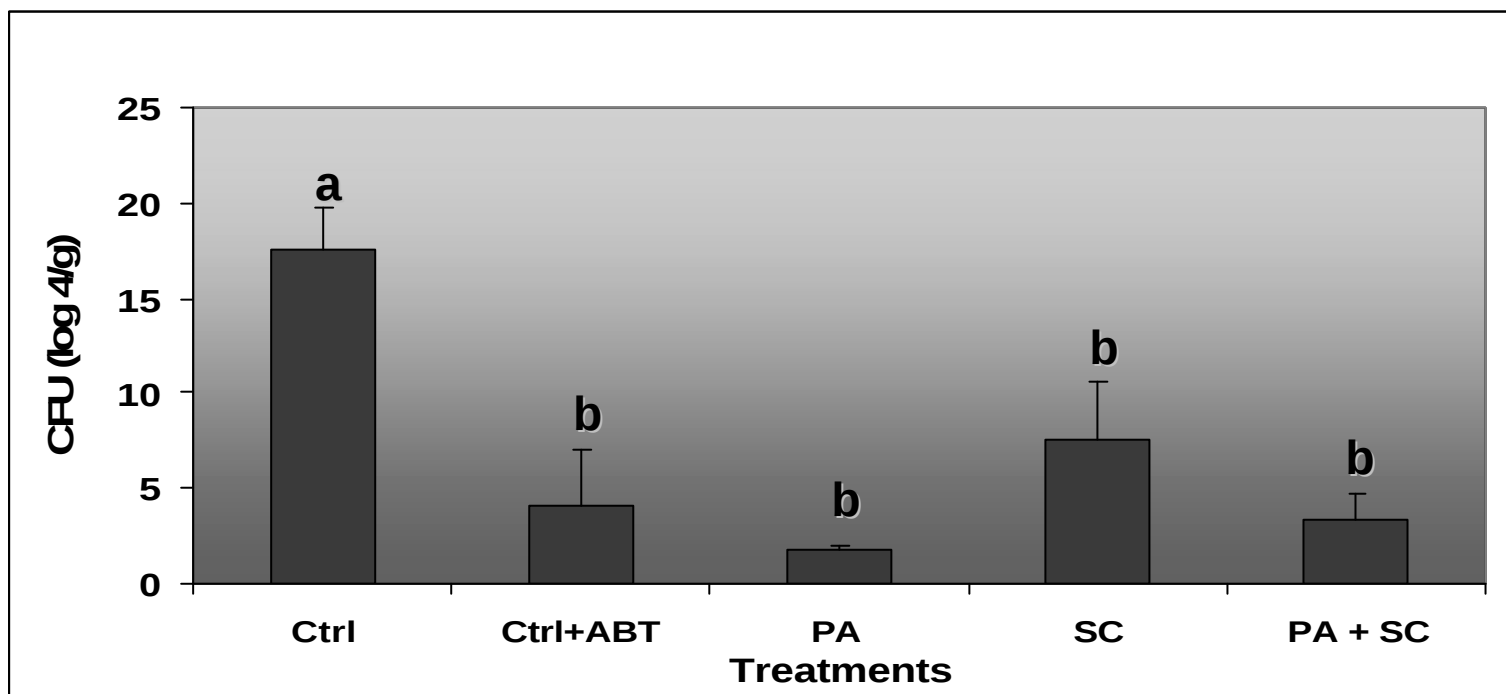
Mode di azione: Effetto sull'equilibrio della flora intestinale

- *Saccharomyces boulardii* modifica l'equilibrio della flora: **stimola i batteri lattici** e **riduce** lo sviluppo della **flora indesiderata** (24).

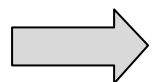


S: Boulardii : effetto sul sistema immunitario

Traslocazione battericaBacterial nel MLN dopo infezione con E. coli



M. Lessard, M. Dupuis, N. Gagnon, J. J. Matte, J. M. Fairbrother, E. Nadeau, E. Farnworth and J. Goulet, 2005. Probiotics affect the establishment of T lymphocytes in the gut and prevent bacterial translocation in pigs.



Cosa impariamo da queste prove

- Gli effetti di S. Boulardii sono molto **consistenti SE:**

? si rispetta il protocollo!

? **top dressing** o **Bolo** in periparto:

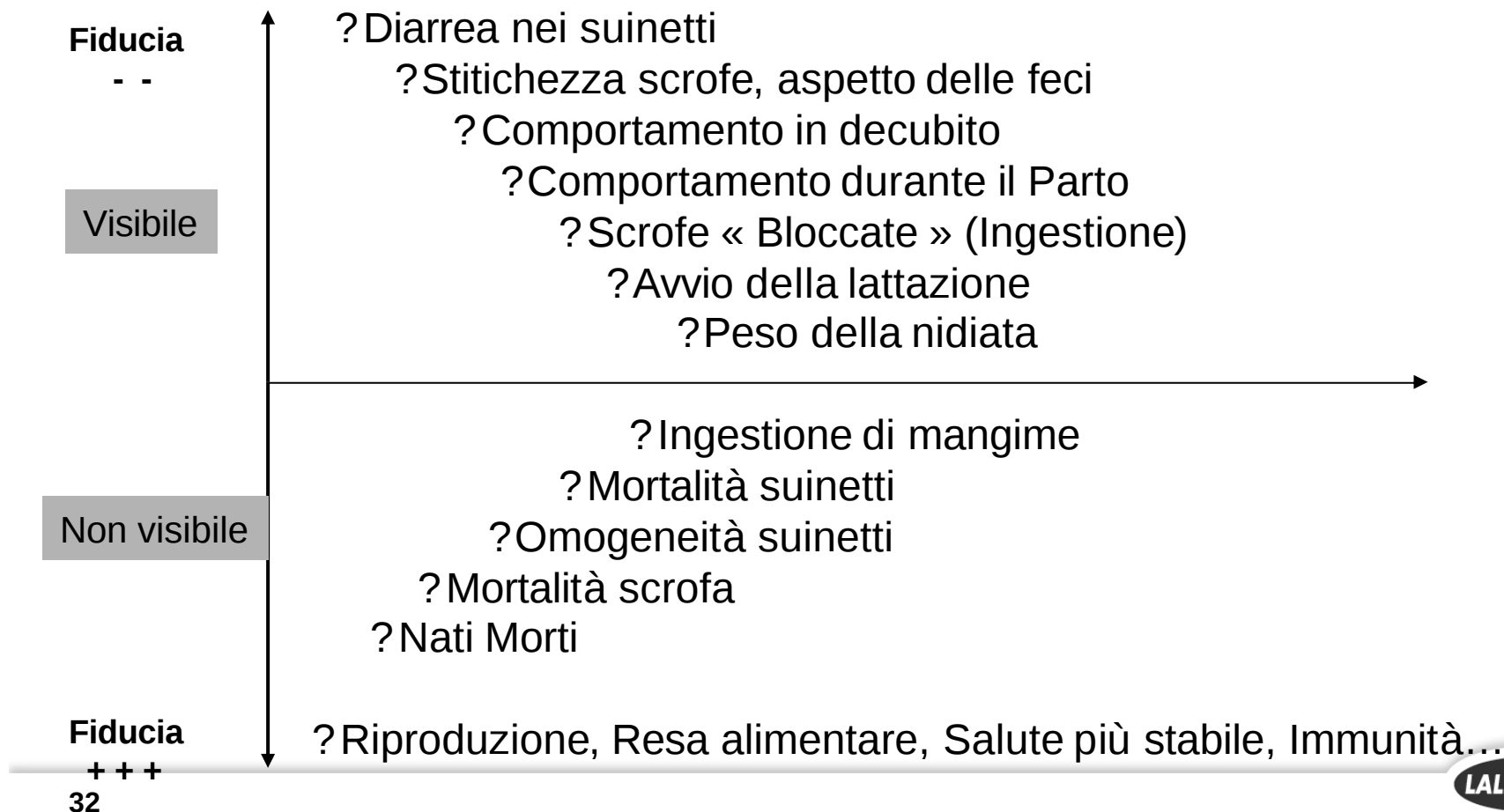
al meno per i primi 4-6 lotti (1 to 5 g / scrofa / giorno)

? **approccio globale** :Gestazione **E** Lattazione sempre più efficace che la sola lattazione...

Ci si può aspettare effetti a breve termine, ma con l'impiego a lungo termine ? effetti migliori; i risultati sul quinto lotto sono sempre migliori di quelli sul secondo

Effetti del S. Boulardii

Solidità degli effetti: la punta dell' Iceberg



GRAZIE PER LA VOSTRA ATTENZIONE !

MERCI !