



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Salute intestinale del suinetto

Paolo TREVISI

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL)

Prof. Paolo Trevisi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

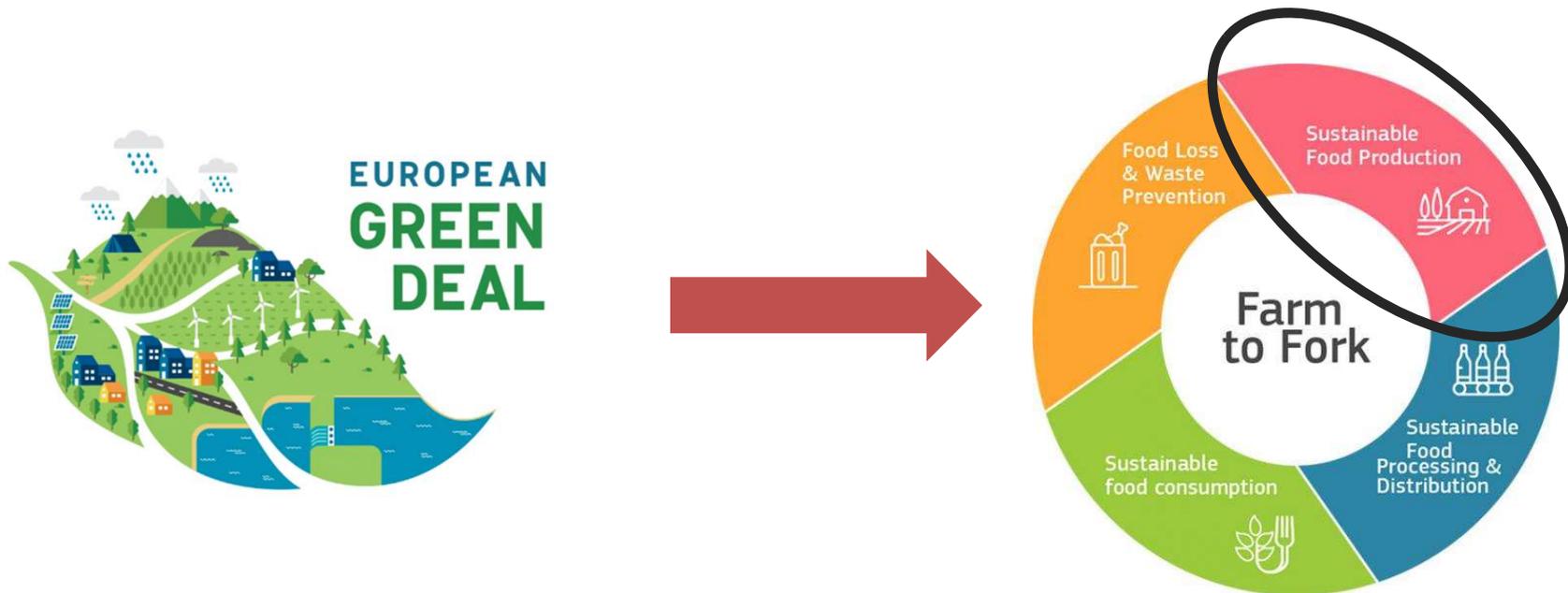


ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



CONTESTO

La strategia Farm to Fork è al centro del Green Deal europeo con l'obiettivo di rendere i sistemi alimentari equi, sani e rispettosi dell'ambiente.



Eliminare lo ZnO dosi farmacologiche senza aumentare l'uso di antibiotici





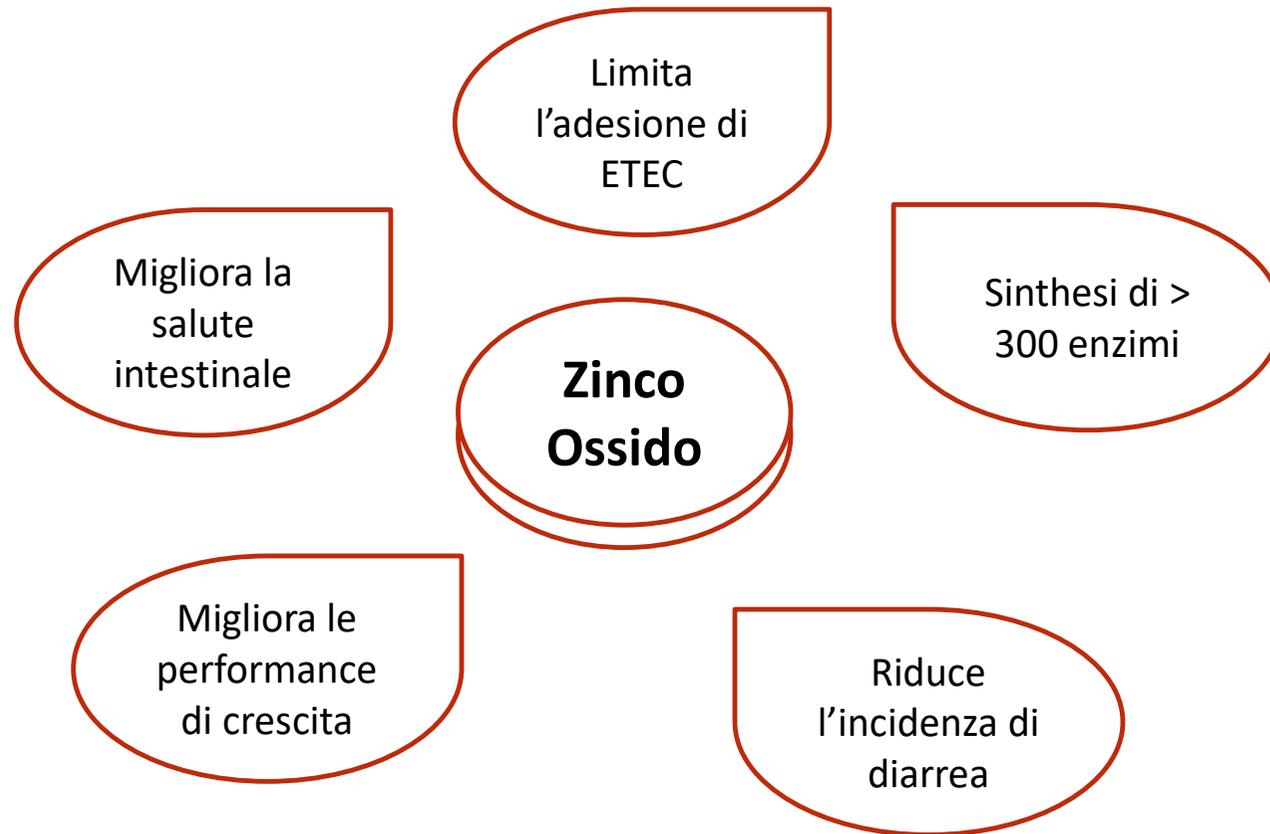
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Perchè lo ZnO a dosi farmacologiche è efficace: Meccanismo d'azione

Prof. Paolo Trevisi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

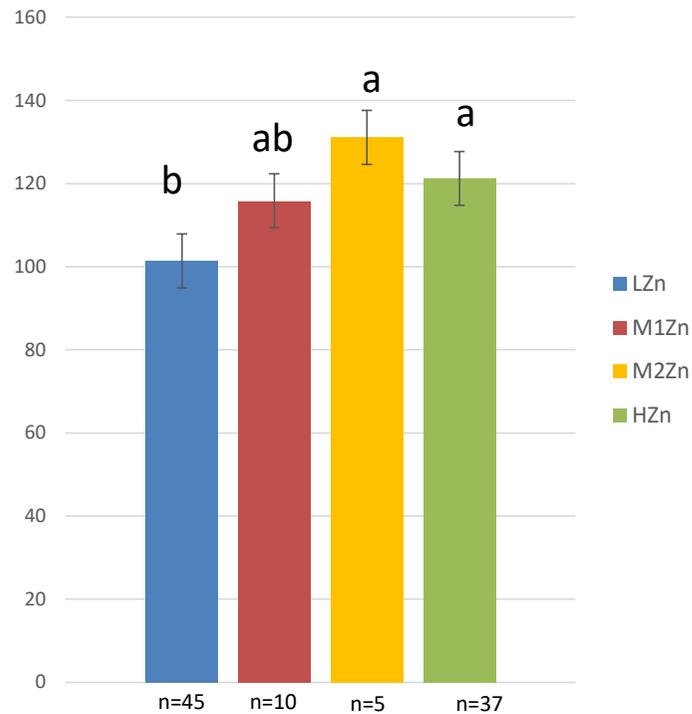
Effetto dello ZnO



Meccanismo d'azione della dose farmacologica di ZnO: performance di crescita

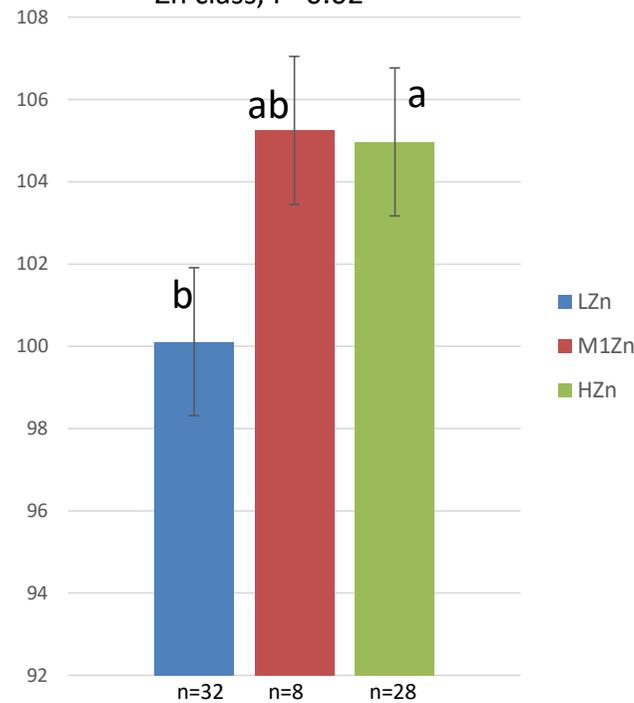
IPG (n. 32 studies)

Zn class, $P < 0.001$



ICA (n. 23 studies)

Zn class, $P = 0.02$



- Dosi di ZnO comprese tra 631 e 1600 ppm possono dare risultati di IPG paragonabili a dosi farmacologiche di ZnO

- LZn 0 ppm to 200 ppm;
- M1Zn 201 ppm to 630 ppm
- M2Zn 631 ppm to 1600 ppm
- HZn from 1601 ppm to 3000 ppm



Meccanismo d'azione della dose farmacologica di ZnO: abbondanza microbica

| | N. studi | LZn | M1Zn | M2Zn | HZn | SEM | P-value | | |
|--------------------------------|----------|---------------------|---------------------|------|---------------------|-------|--------------------------|-----------|------|
| | | | | | | | Classe del livello di Zn | Zn basale | Ref |
| E. coli, feci | 4 | 100.25 | 96.68 | / | 97.01 | 1.39 | 0.18 | 0.20 | - |
| Lattobacilli, feci | 4 | 95.57 | 103.71 | / | 94.81 | 22.76 | 0.91 | 0.74 | 0.23 |
| E. coli, grosso intestine | 5 | 100.05 | 103.20 | | 92.42 | 4.11 | 0.12 | 0.89 | 0.25 |
| Lattobacilli, grosso intestine | 4 | 100.01 | 99.78 | | 99.85 | 2.25 | 0.98 | 0.38 | 0.46 |
| E. coli, Intestino tenue | 6 | 73.72 ^b | / | / | 231.88 ^a | 62.39 | 0.04 | 0.55 | 0.20 |
| Lattobacilli Intestino tenue | 6 | 104.04 ^a | 98.74 ^{ab} | | 81.23 ^b | 10.31 | 0.05 | 0.63 | 0.18 |

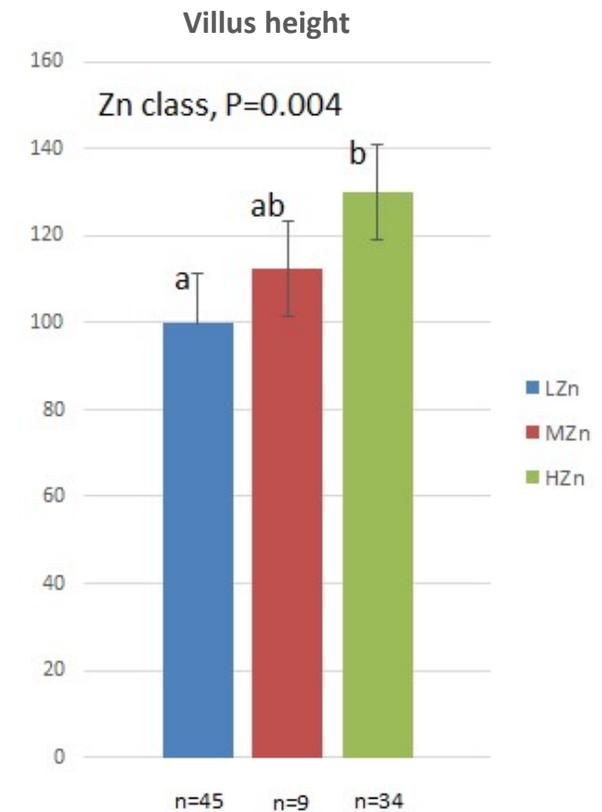
LZn: 0 ppm to 200 ppm; M1Zn:201 ppm to 630 ppm; M2Zn: 631ppm to 1600 ppm; HZn from 1601 ppm to 3000 ppm

Zn può interagire con componenti specifici della struttura della membrana cellulare dei batteri Gram+; pertanto è più efficace nel ridurre l'abbondanza di Gram+ rispetto all'abbondanza di Gram-

Meccanismo d'azione della dose farmacologica di ZnO: marcatori per l'integrità intestinale e l'infiammazione

| ITEM | N. studies | LZn | M1Zn | M2Zn | HZn | SEM | P-value | | |
|---------------|------------|---------------------|--------|--------|---------------------|-------|------------------|----------|-----------|
| | | | | | | | Zn level classes | Basal Zn | Reference |
| ZO-1 | 3 | 104.14 ^b | - | - | 144.75 ^a | 4.93 | 0.01 | 0.62 | 0.4 |
| OCL | 2 | 103.89 | - | - | 133.73 | 12.2 | 0.06 | 0.64 | 0.3 |
| IL-1 β | 5 | 94.68 | 121.95 | | 74.8 | 17.54 | 0.33 | 0.7 | 0.37 |
| TNF- α | 6 | 100.68 | - | 102.72 | 113.5 | 5.76 | 0.09 | 0.24 | 0.49 |
| IFN- γ | 6 | 97.15 ^a | - | - | 77.09 ^b | 4.99 | 0.01 | 0.29 | 0.37 |
| TGF- β | 4 | 99.46 | 100.59 | | 123.43 | 8.47 | 0.15 | 0.08 | - |

LZn: 0 ppm to 200 ppm; M1Zn: 201 ppm to 630 ppm; M2Zn: 631 ppm to 1600 ppm; HZn from 1601 ppm to 3000 ppm



HZn conferma il suo effetto nel migliorare la morfologia intestinale dell'intestino tenue





ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Cosa si intende per salute Intestinale?

Paolo TREVISI

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

Definizioni di salute intestinale

L'assenza/prevenzione della malattia in modo che l'animale sia in grado di svolgere le sue funzioni fisiologiche al fine di resistere a fattori di stress esogeni ed endogeni

Kogut and Arsenault. 2016. Front. Vet. Sci. 3:71. doi: 10.3389/fvets.2016.00071

La salute dell'intestino può essere descritta come una condizione generalizzata di omeostasi nel TGI, rispetto alla sua struttura e funzione complessiva.

La salute dell'intestino nei suini può essere compromessa anche in assenza di malattie conclamate nel TGI.

Pluske et al., 2018. Animal Nutrition. 4(2): 187-196. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.12.004>



Definizioni di salute intestinale

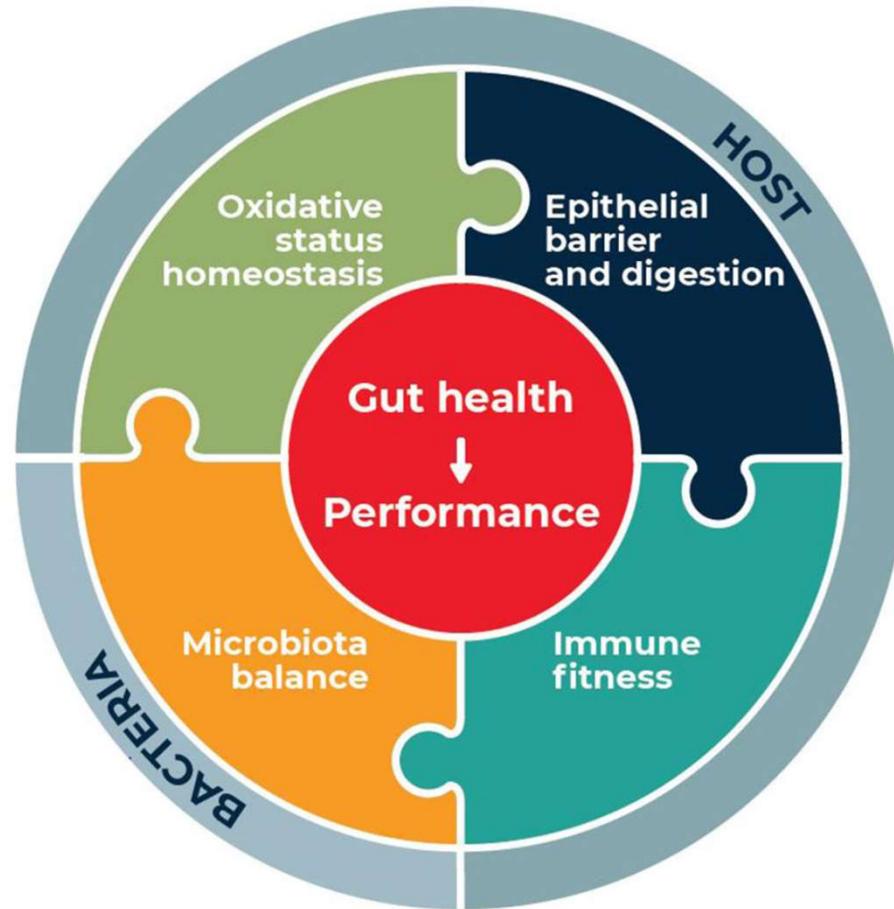
CINQUE criteri principali che potrebbero costituire la base di una definizione generale di salute intestinale:

- 1) efficace digestione e assorbimento del cibo
- 2) assenza di malattie gastrointestinali
- 3) microbioma intestinale normale e stabile
- 4) stato immunitario efficace
- 5) stato di benessere.

Bischoff. 2011. BMC Medicine. 9:24 <http://www.biomedcentral.com/1741-7015/9/24>



Definizioni di salute intestinale



Chalvon-Demersay. 2021. *Front. Vet. Sci.* 8:663727. doi: 10.3389/fvets.2021.663727

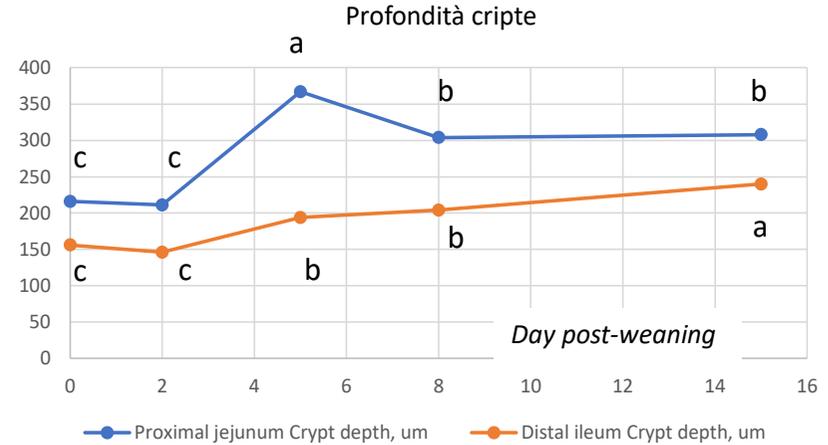
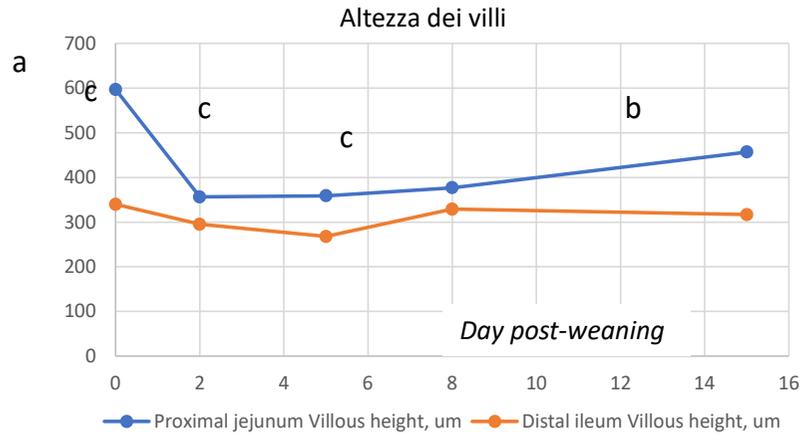


ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

1° Pillar: barriera intestinale e digestione

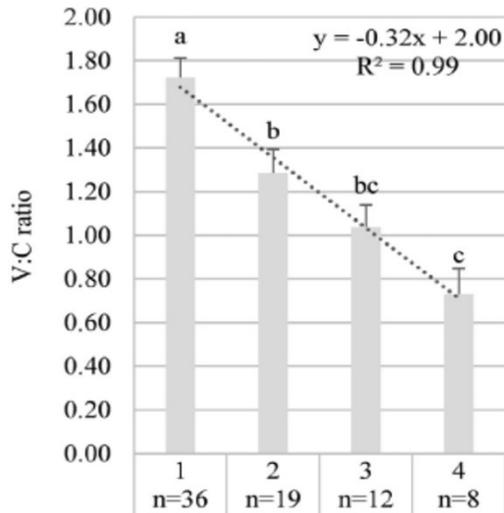


1° Pillar: barriera intestinale e digestione

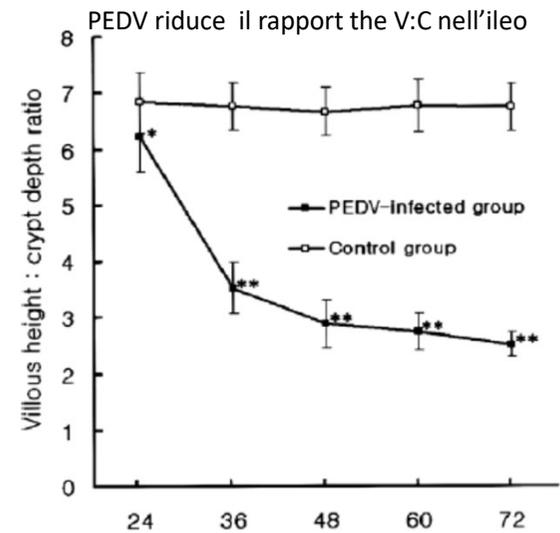


Boudry et al. 2004. *J. Nutr.* 134: 2256–2262

L'infiammazione dovuta a diarrea riduce il rapporto the V:C nell'ileo



López-Colom et al. 2019. *Res Vet Sci.* 124: 426–432

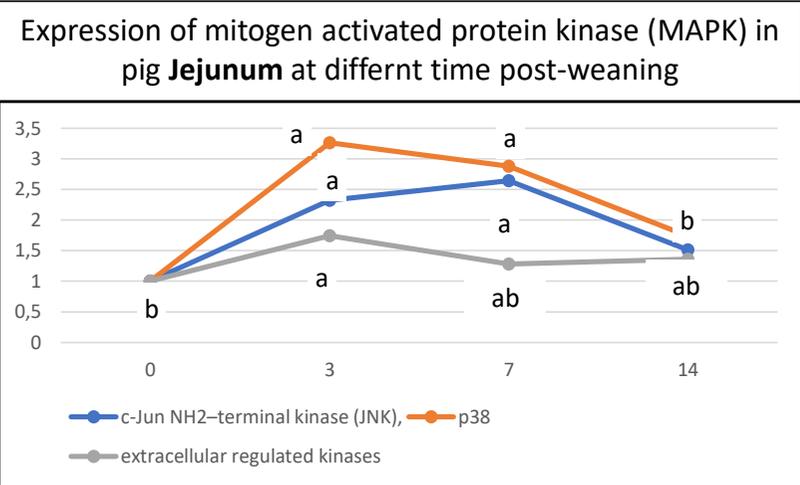
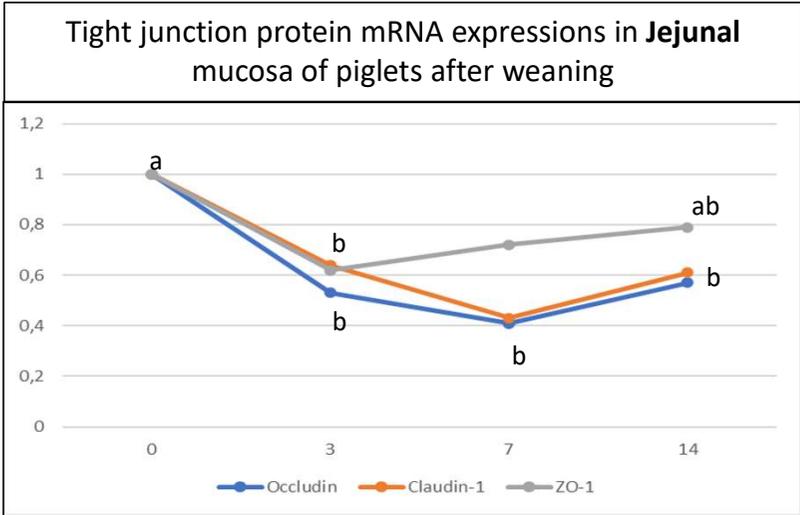
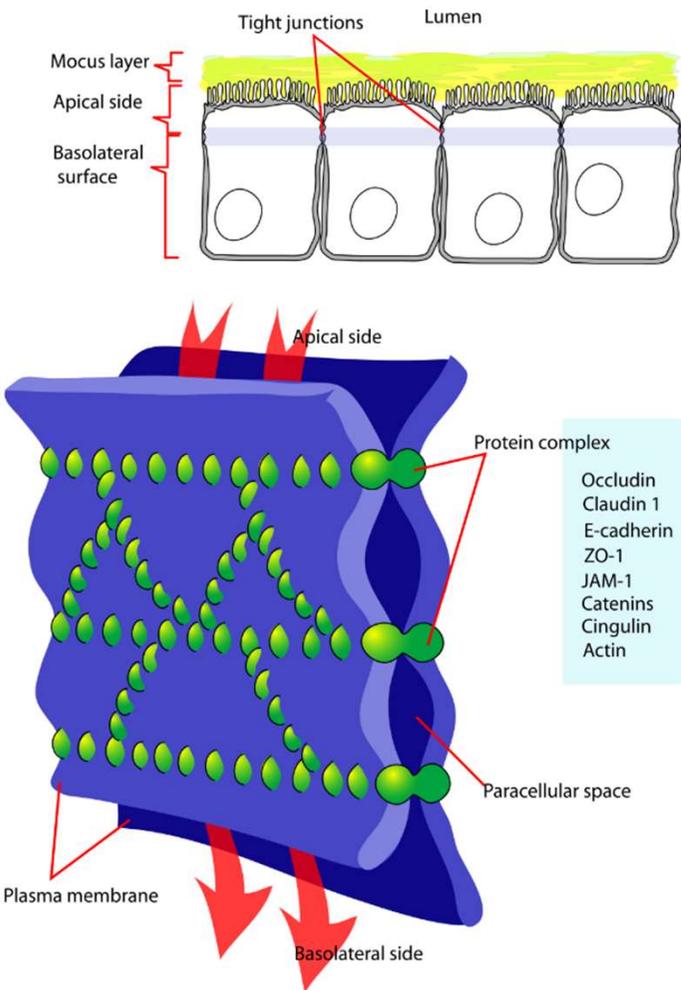


K. Jung. 2006. *Res Vet Sci.* 81:310–315



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

1° Pillar: barriera intestinale e digestione

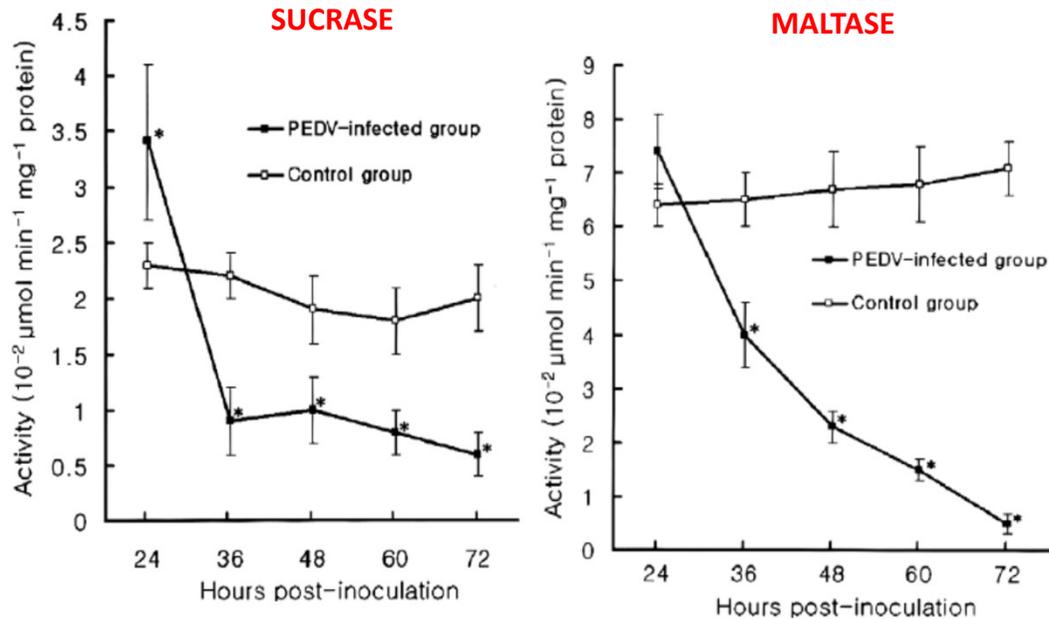


Hu et al., 2013. *J. Anim. Sci.* 91:1094–1101 - doi:10.2527/jas2012-5796

1° Pillar: barriera intestinale e digestione

Porcine Epidemic Diarrhea Virus infection reduce the enzymatic activity in Jejunum

K. Jung, 2006. Res Vet Sci. 81:310-315



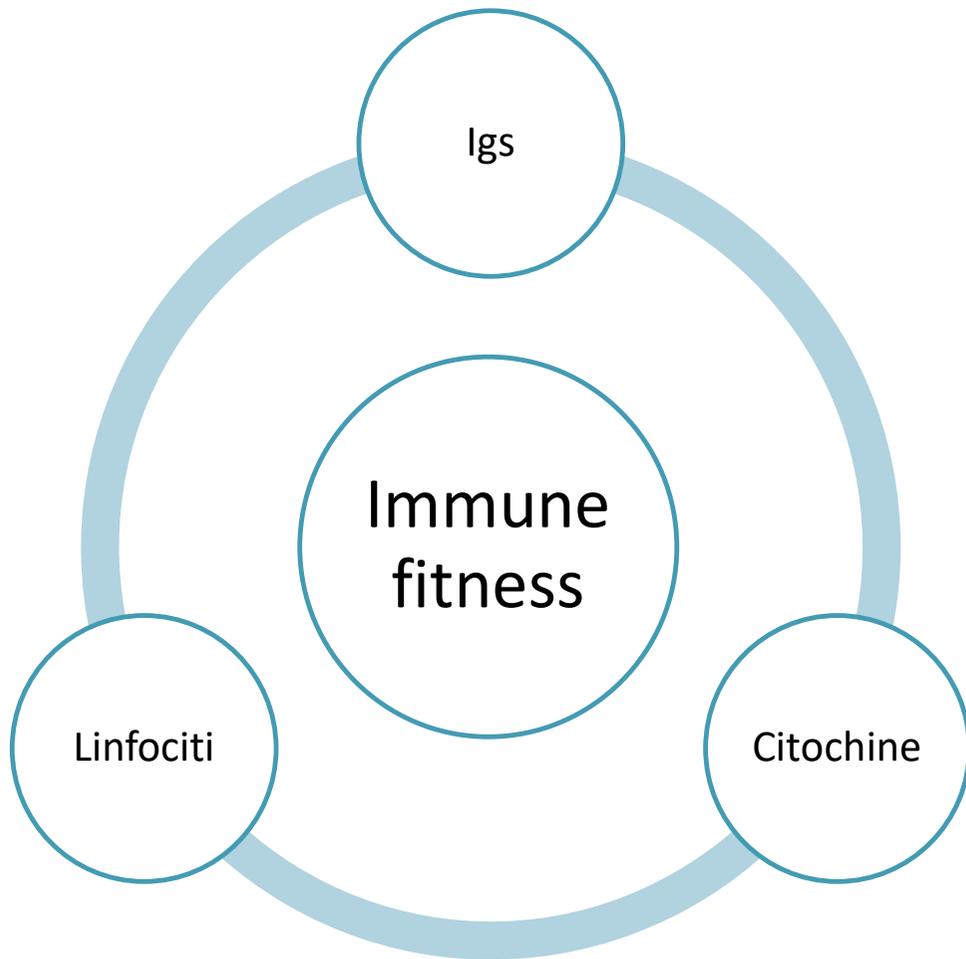
Lo svezzamento riduce l'attività enzimatica nel digiuno e nello stomaco

Zhu et al., 2012. J. Ani Sci, 90(8), 2581-2589.

| Item ¹ | Treatment | |
|-------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Control (n = 4) | Weaning (n = 4) |
| Jejunum | | |
| Sucrase | 15.08 ± 0.88 ^a | 12.56 ± 0.58 ^c |
| Maltase | 32.61 ± 0.49 ^b | 24.46 ± 0.62 ^c |
| Amylase | 0.16 ± 0.01 ^a | 0.14 ± 0.01 ^c |
| Lipase | 75.91 ± 1.56 ^a | 55.18 ± 3.45 ^c |
| Stomach | | |
| Pepsin | 37.04 ± 2.43 ^a | 16.34 ± 3.74 ^c |



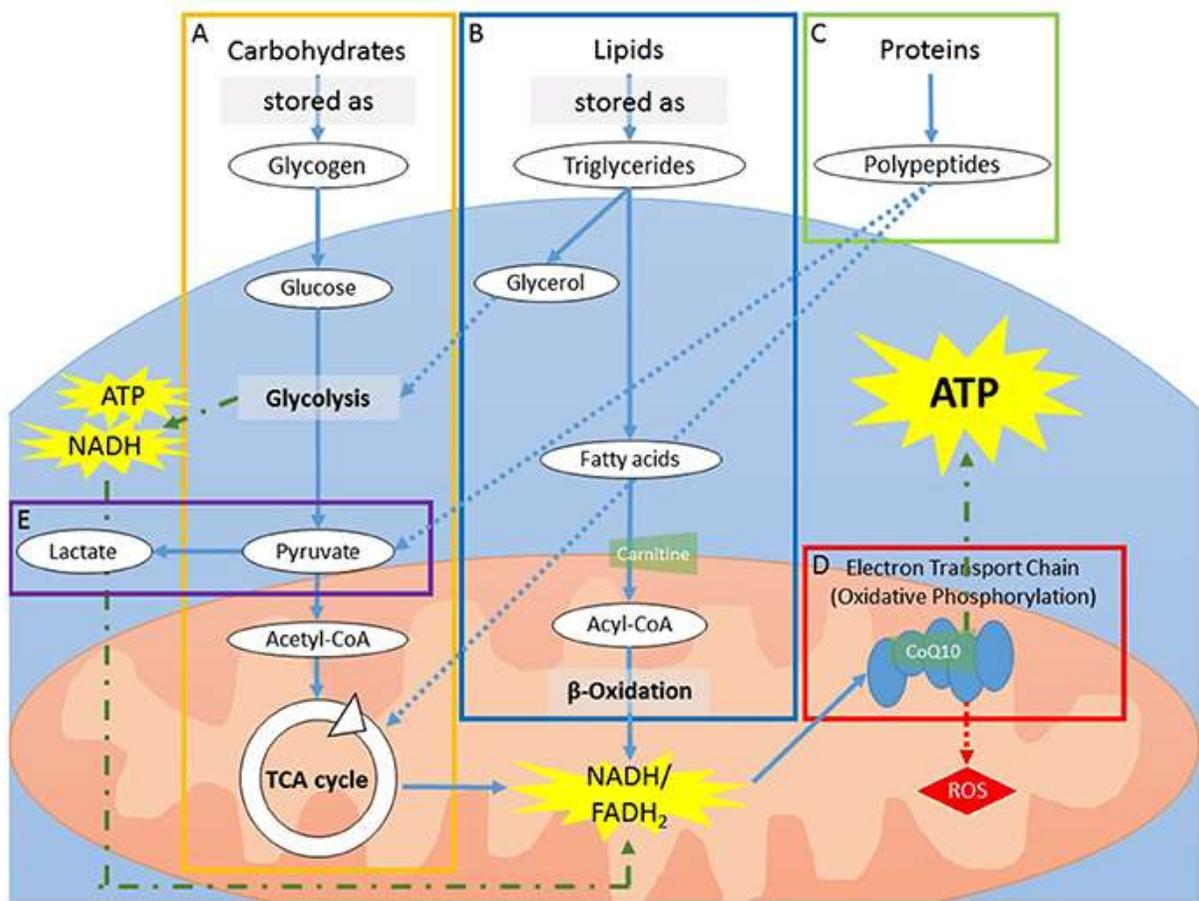
2° Pillar: Immune fitness



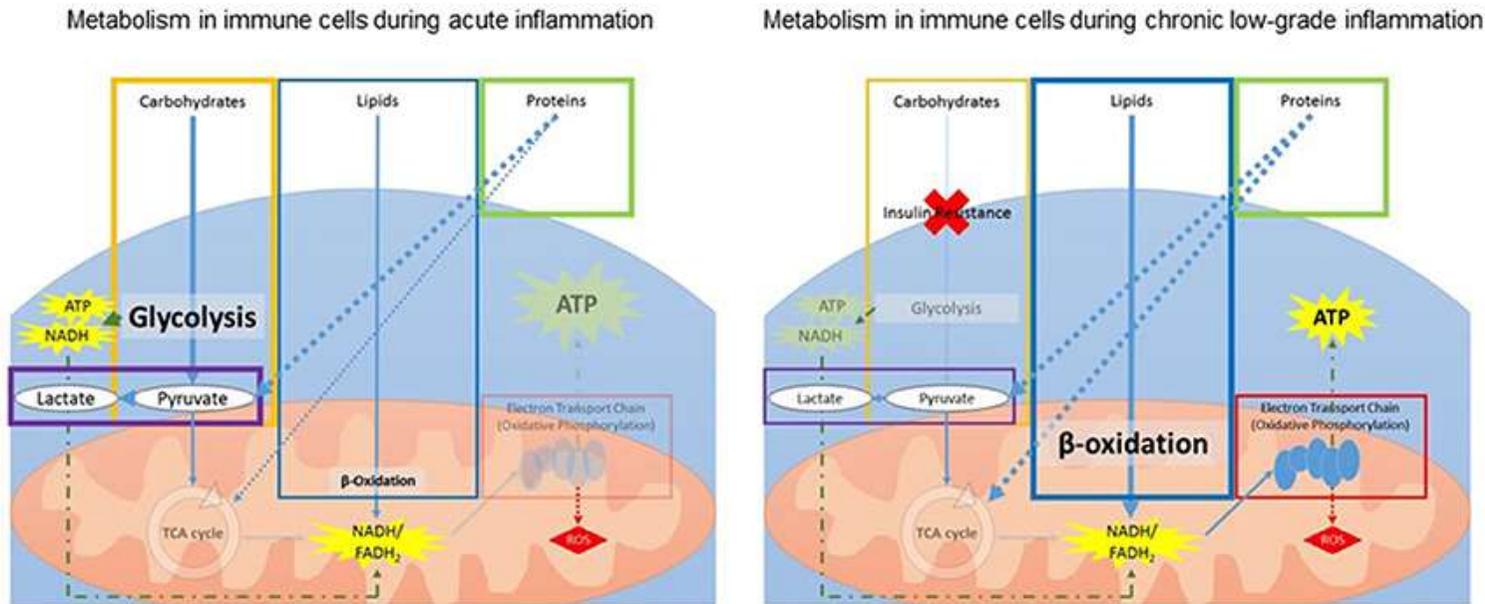
“Immune fitness” potrebbe essere definita come “la capacità del sistema immunitario dell'ospite di rispondere in modo appropriato a una sfida e di tornare o rimanere nello stato omeostatico immunitario in caso di assenza di una sfida”.



2° Pillar: Immune fitness



2° Pillar: Immune fitness



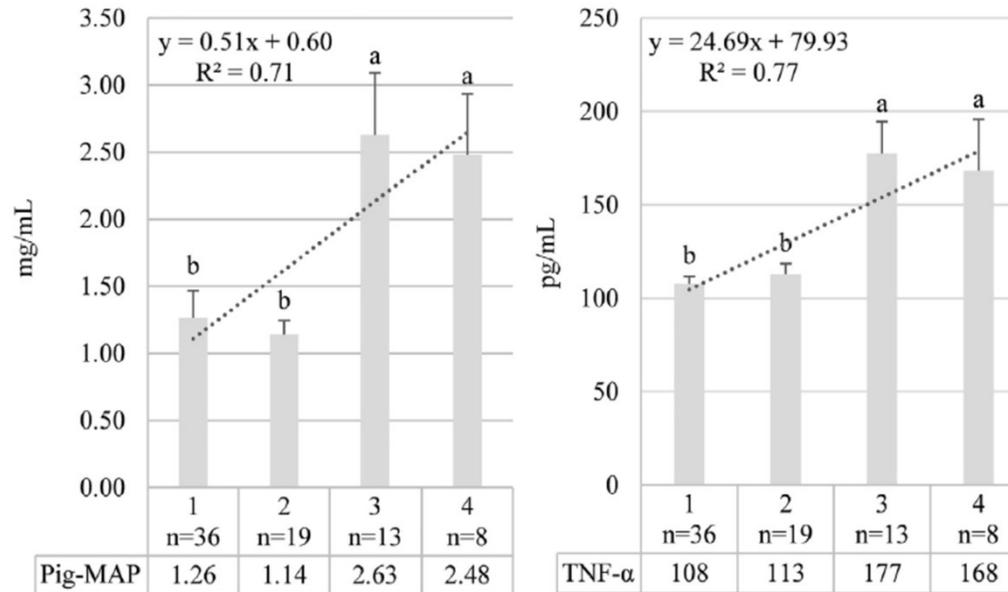
L'infiammazione, sia che si tratti di infiammazione acuta che cronica, è correlata ad una maggiore richiesta di energia e nutrienti per sintetizzare citochine e proteine della fase acuta e attivare la proliferazione delle cellule immunitarie,

Lacourt et al., (2018). *Frontiers in behavioral neuroscience*, 78.



2° Pillar: Immune fitness

La gravità della diarrea aumenta i **marcatori ematici**



López-Colom et al. 2019. *Research in Veterinary Science* 124: 426–432

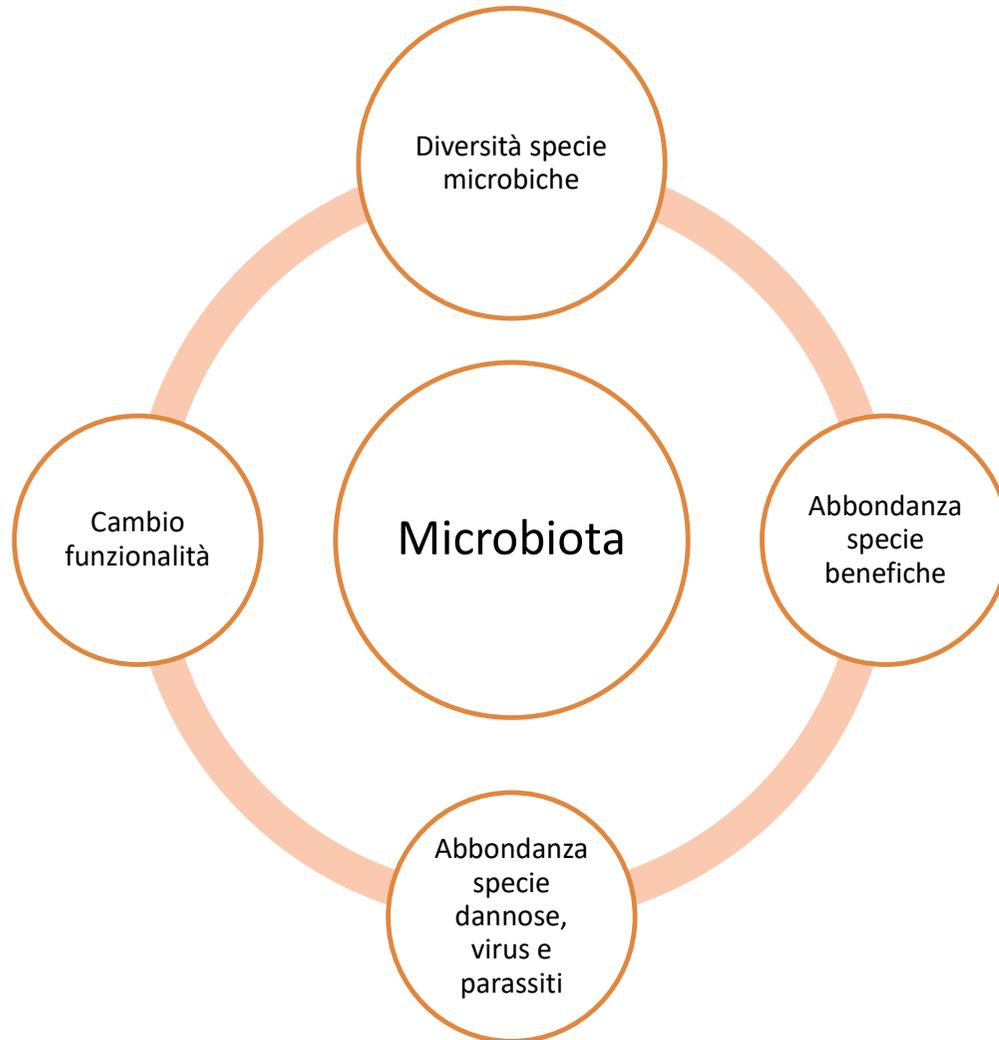
Basal level of Pig-MAP and Haptoglobin in blood serum of pigs at different ages

| mg/mL | Sows | Adult boar | 4 weeks of life | 12 weeks of life | Fishing per of life |
|-------------|------|------------|-----------------|------------------|---------------------|
| Pig-MAP | 0.81 | 1.23 | 1 | 1 | 0.7–0.8 |
| Haptoglobin | 1.47 | 0.94 | 0.6 | 1.4 | 0.9 |

C. Pineiro et al. 2009. *The Veterinary Journal* 179: 78–84



3° Pillar: microbiota

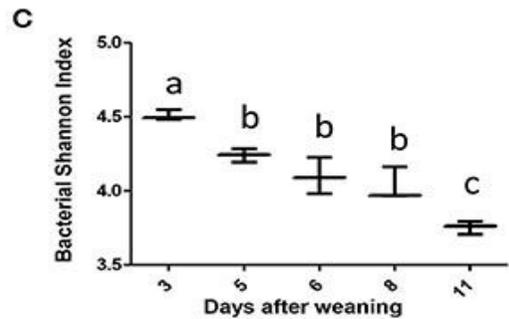
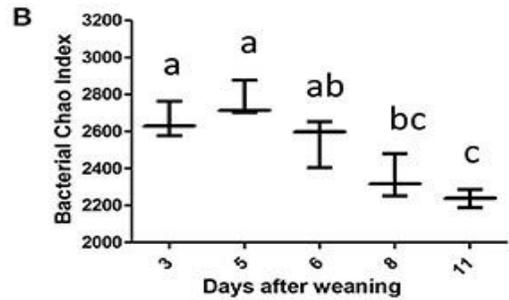


L'equilibrio del microbiota potrebbe quindi essere definito come l'opposto della disbiosi intendendo “una situazione nella quale la popolazione microbica è abbondante e diversificata con un elevato apporto di microrganismi benefici (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, produttori di SCFA) a discapito di quelli patogeni” (*Escherichia coli* enterotossico (ETEC), *Campylobacter* e *Salmonella enteritidis*)

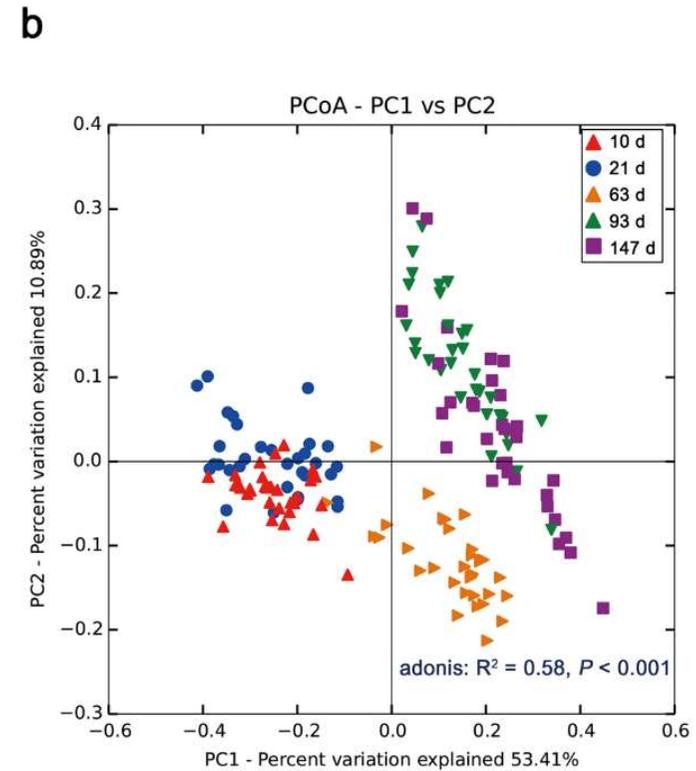
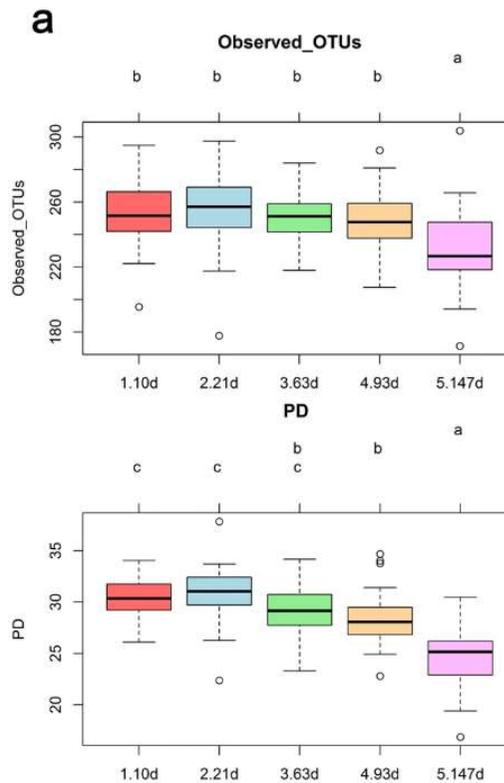


3° Pillar: microbiota

Effetto dell'età e della maturazione del microbiota intestinale



(Hu et al. 2016)

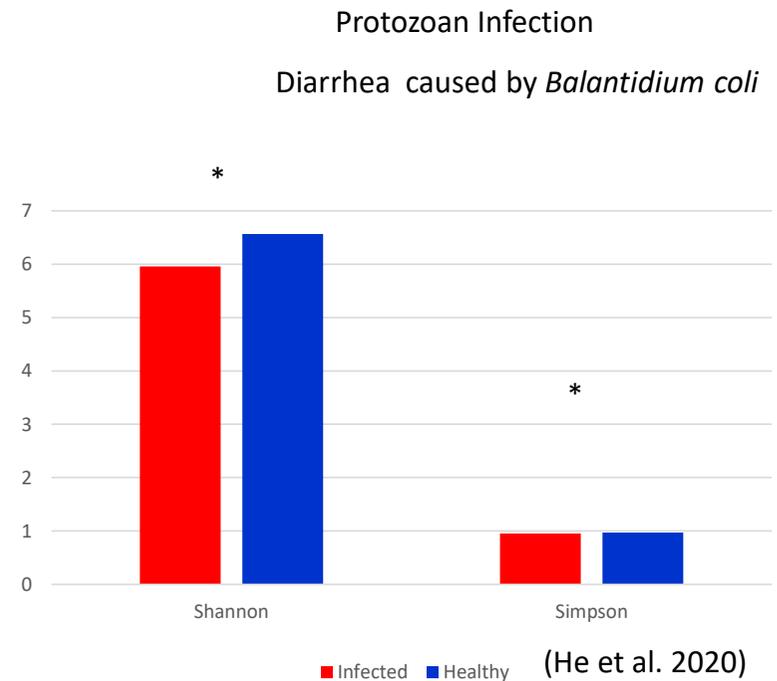
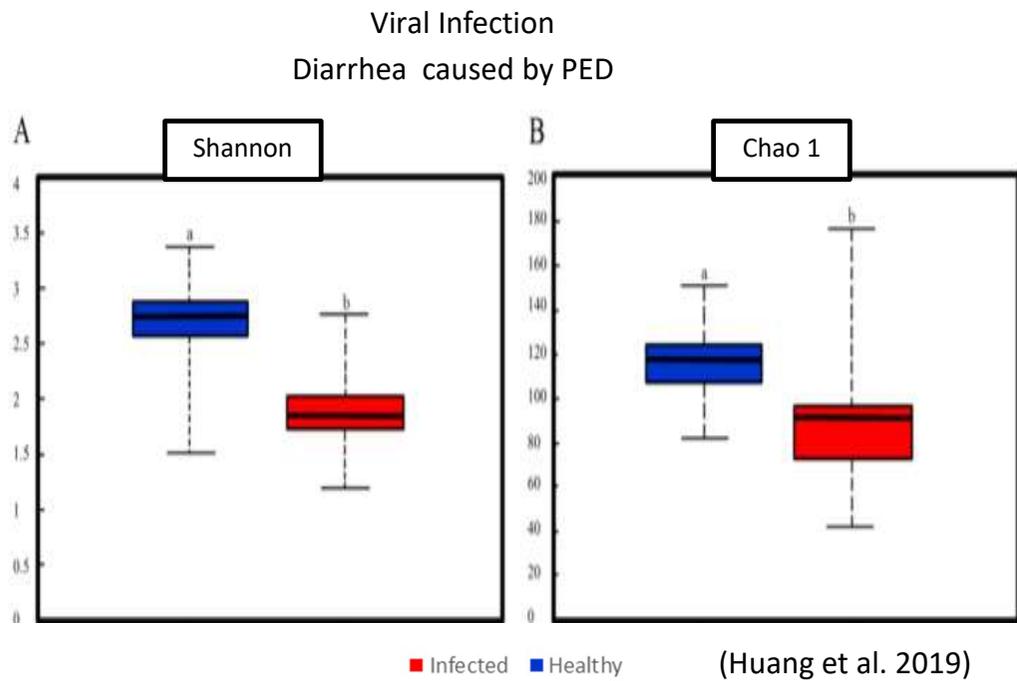


Han et al. (2018).Scientific reports, 8(1), 1-9.



3° Pillar: microbiota

Effetto situazione di patogeni sull'ecosistema microbico intestinale



4° Pillar: stress ossidativo

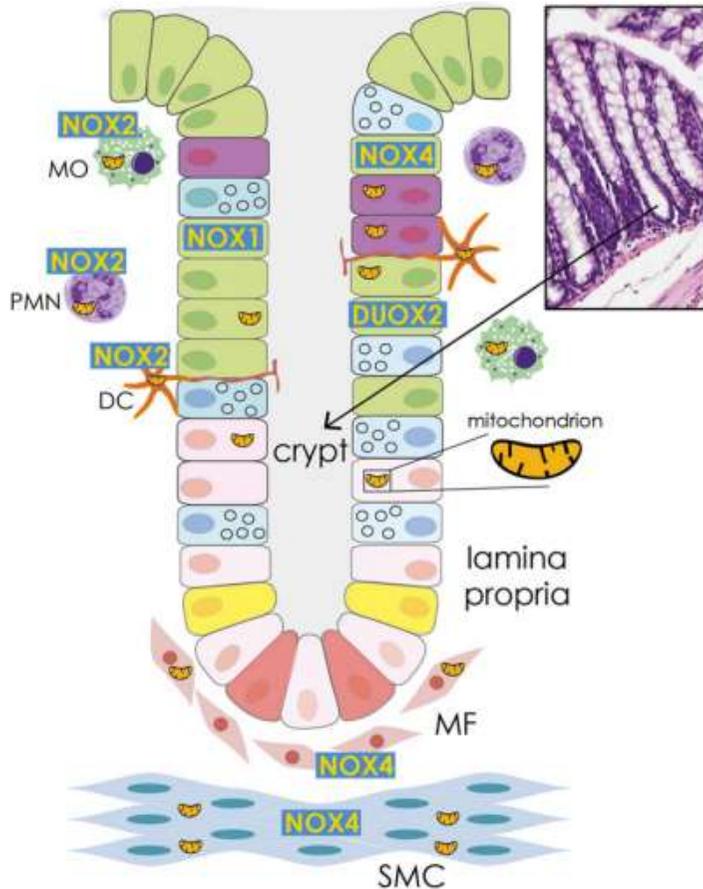


Lo stress ossidativo si verifica quando la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) come il superossido non è bilanciata dalla difesa antiossidante.

In tal caso, i ROS possono causare l'alterazione dei lipidi di membrana (contrassegnati dall'aumento della malondialdeide), le proteine e il DNA, che portano a danni cellulari e tissutali.



4° Pillar: stress ossidativo

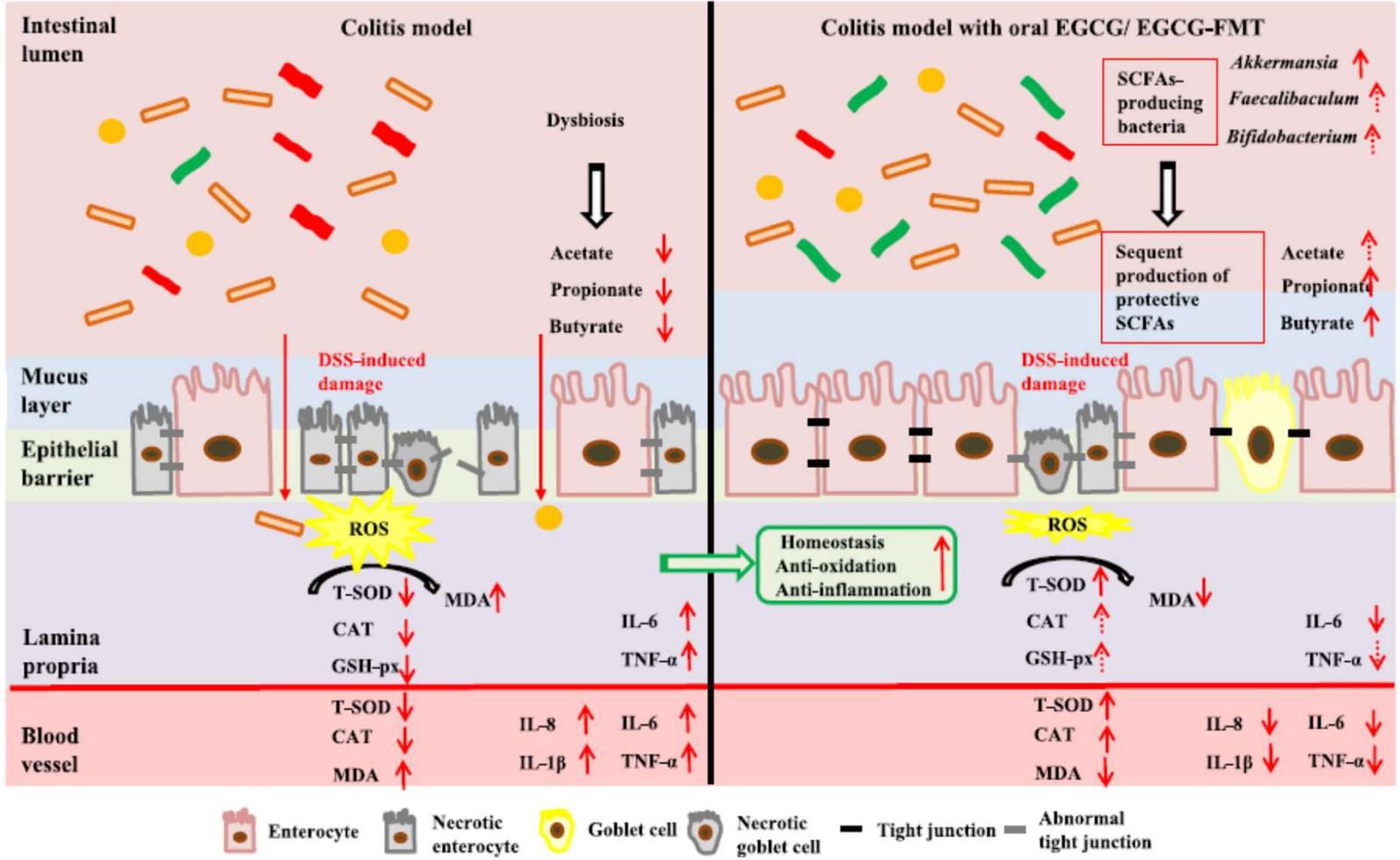


La produzione di ROS è un meccanismo fisiologico, queste molecole vengono generate nei mitocondri durante il metabolismo cellulare aerobico.

Inoltre, queste molecole sono sintetizzate dalle cellule del sistema immunitario innato, come granulociti e macrofagi, e dalle cellule epiteliali per difendersi dai patogeni.

Nell'intestino i principali enzimi generatori di ROS sono NOX1 e DUOX2 prodotti rispettivamente dalle cellule epiteliali e dai neutrofili.

4° Pillar: stress ossidativo



ROS: Reactive oxygen species;
 MDA: Malondialdehyde;
 T-SOD: Total Superoxide Dismutase;
 CAT: Catalase;
 GSH-px: Glutathione Peroxidase;
 DSS: Dextran sulfate sodium

ROBUSTEZZA

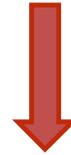
Robustezza

La capacità di un animale di mantenere un determinato fenotipo indipendentemente dalle caratteristiche dell'ambiente esterno (Colditz e Hine 2016).



Resilienza

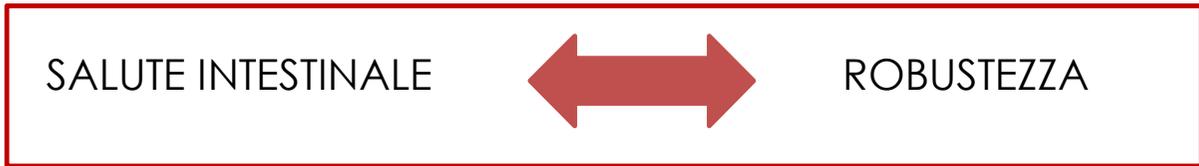
La capacità di far fronte alle perturbazioni ambientali e di tornare rapidamente allo stato "pre-sfida" (Revilla et al., 2019; Colditz and Hine, 2016)

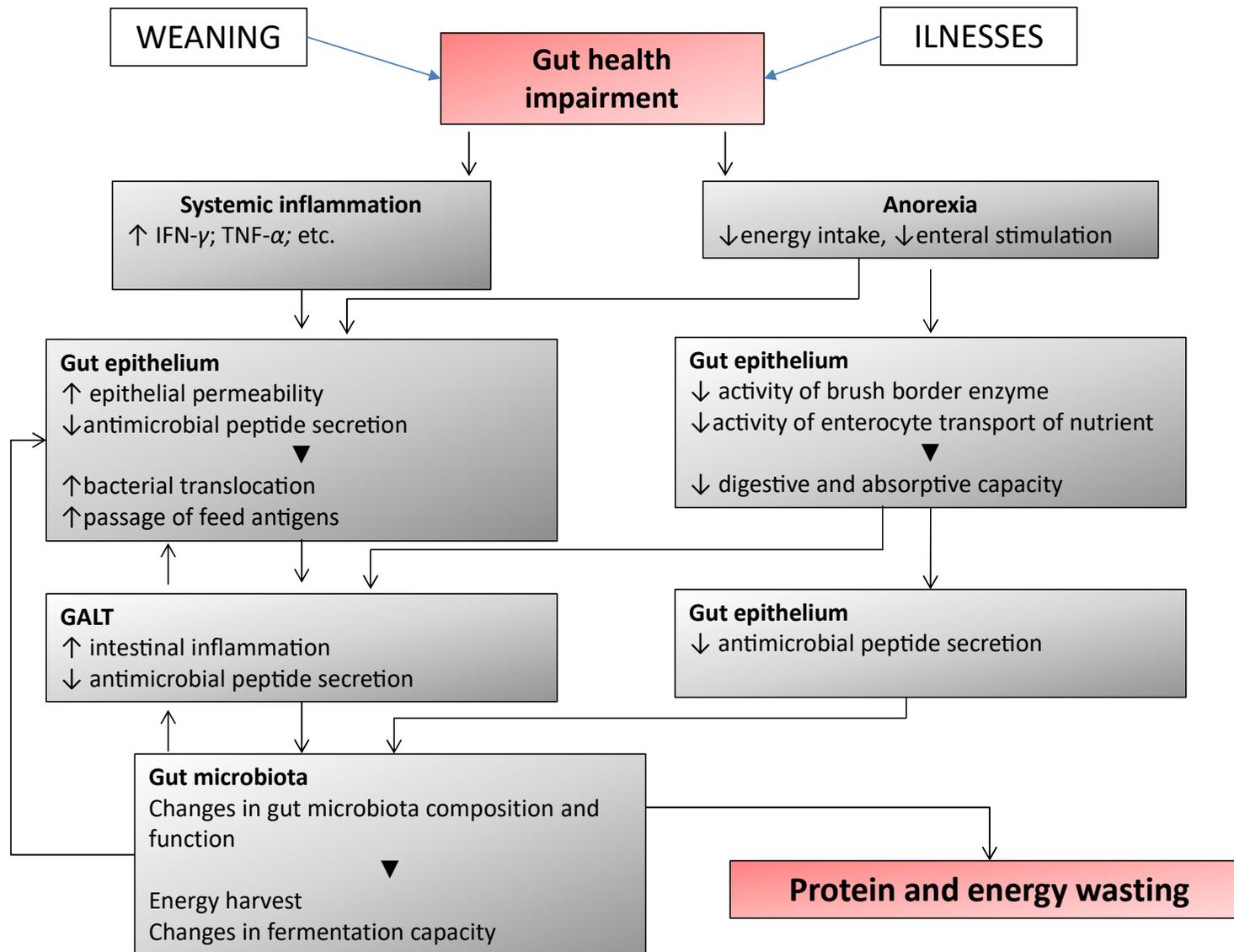


Il miglioramento della robustezza e della resilienza dell'animale concorrono pertanto al miglioramento delle performance produttive, alla sopravviva dei suinetti ed a ridurre gli effetti negativi tipici della sindrome diarroica da post-svezzamento

**Riduzione
impiego di
antibiotici**



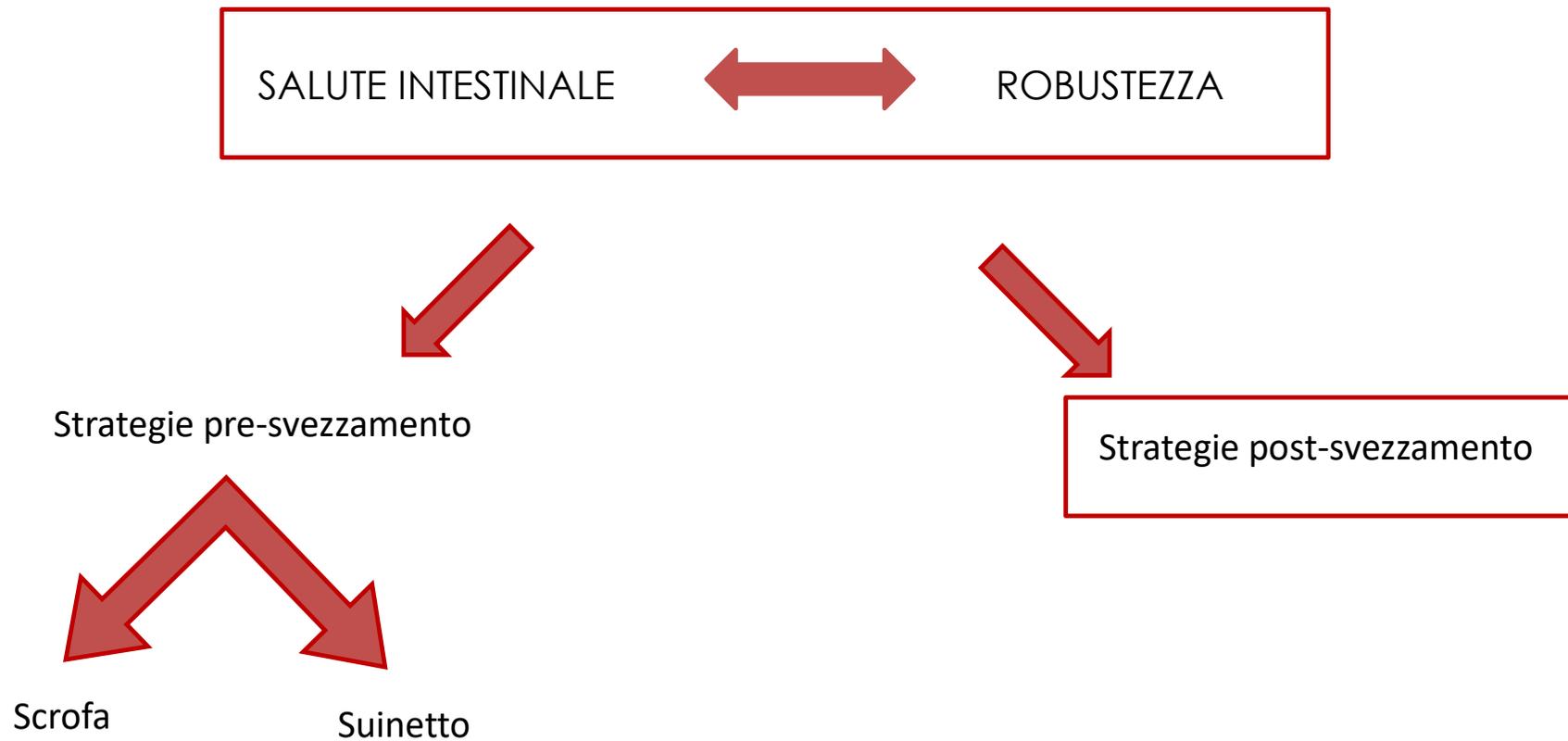




Adapted from Genton *et al.*, 2015. Clin. Nutr. 34:341-349

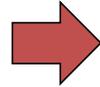


Strategie volte a migliorare la salute intestinale e la robustezza dei suinetti



Effetto dello svezzamento precoce sulla salute e sulle performance dei suinetti

- Ridotta capacità assorbimento
- Espressione di recettori per adesione batteri patogeni
- Assenza immunocompetenza



Svezzamento



- Social stress
- Cambio di dieta
- Cambio ambiente
- Stop immunità passiva

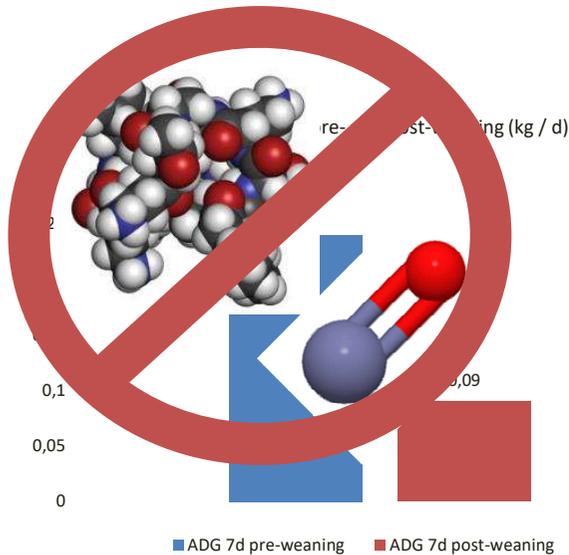


↓ ingestione

↓ eubiosis
intestinale

↑ Diarrea, mortlità
↓ Performance

DYSBIOSIS





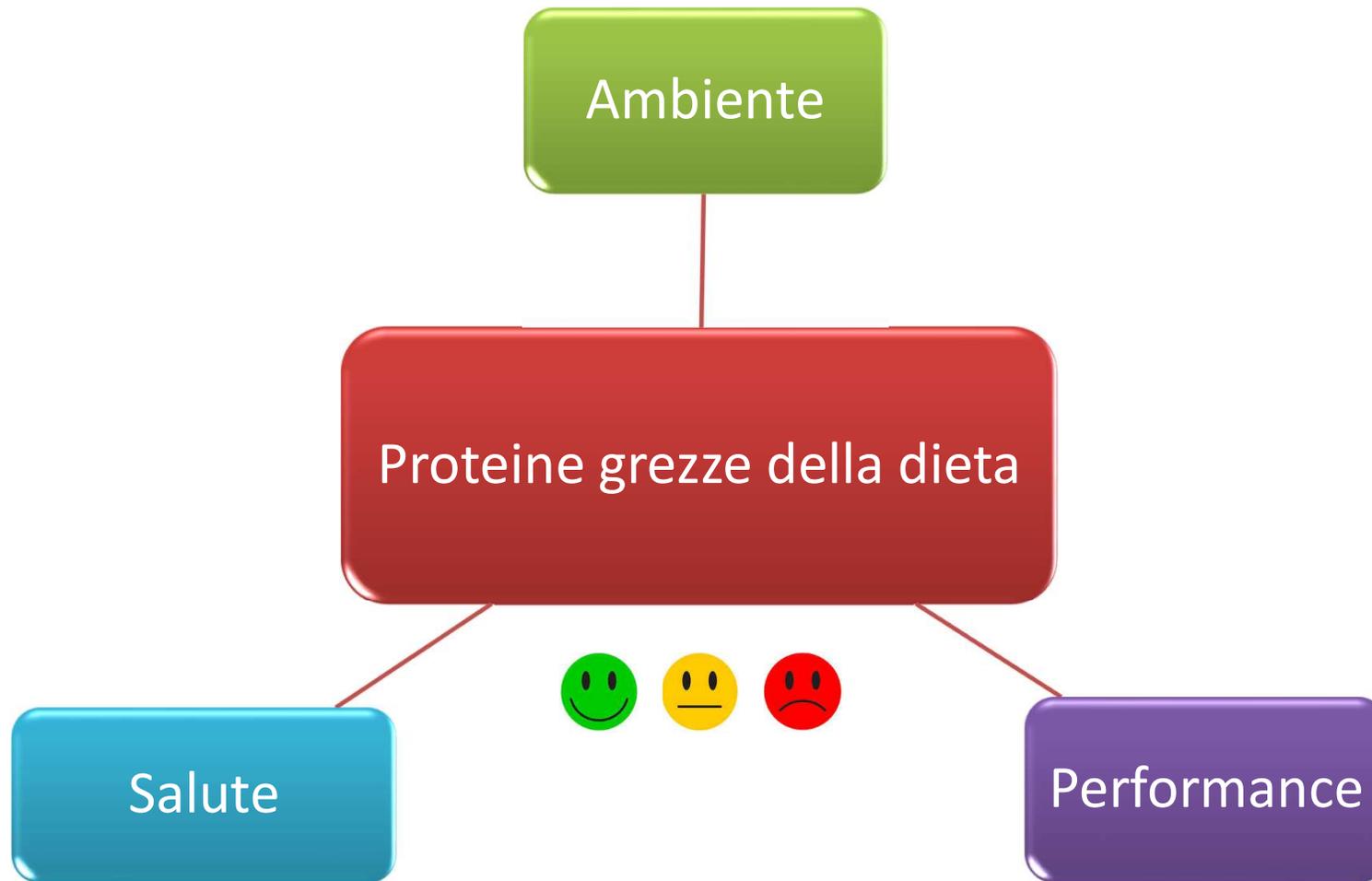
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Riduzione della quota proteica nella dieta del suinetto: pro e contro

Paolo Trevisi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

Implicazioni della modulazione del livello di proteine grezze nella dieta dei suinetti

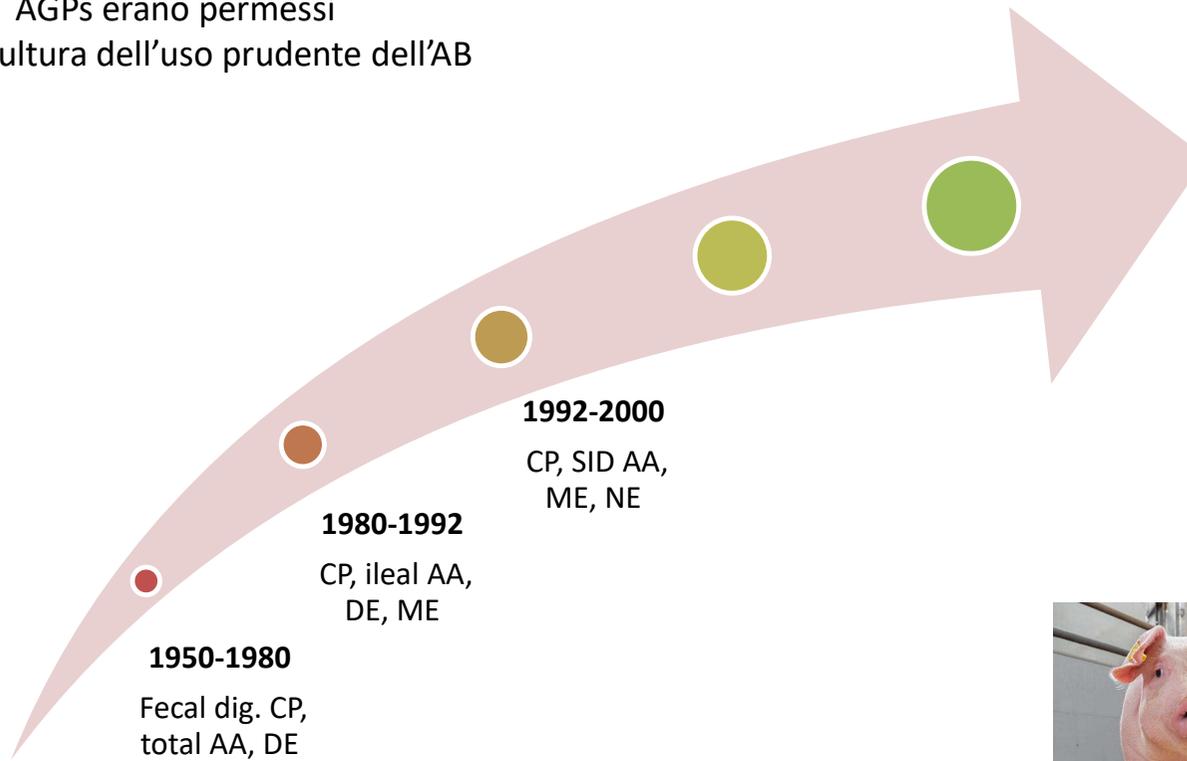


Sviluppo del concetto di mangime a basse proteine nel suino



Formulazione ad alto livello di PG nelle diete pre-starter e starter (20-24%)

AGPs erano permessi
Scarsa cultura dell'uso prudente dell'AB



Sviluppo del concetto di mangime a basse proteine nel suino



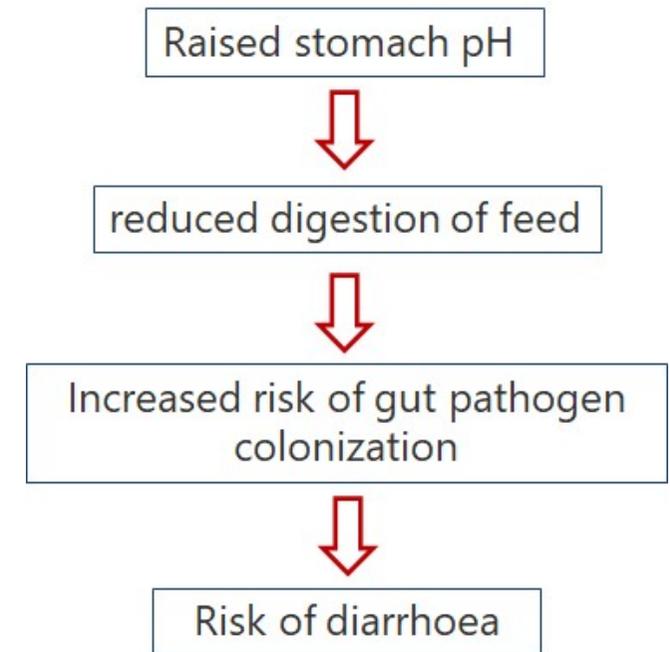
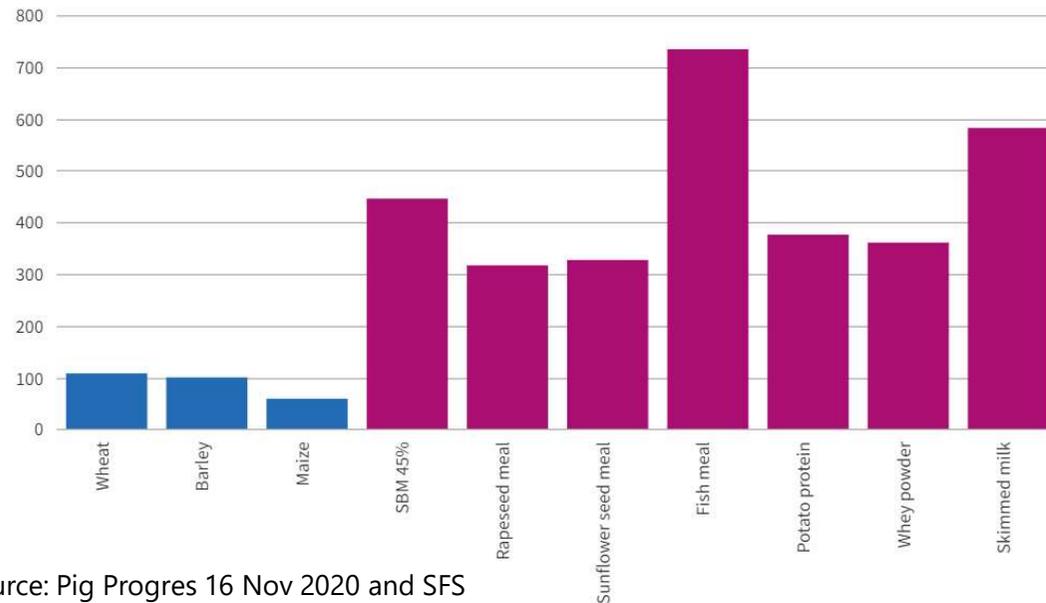
Allo svezzamento, immaturità fisiologica della mucosa gastrica → bassa secrezione di HCl da parte delle cellule parietali

Interazione tra capacità di secrezione acida gastrica e dieta:

- acid-binding capacity
- buffering capacity



Buffer capacity of different ingredients (mEq/kg)



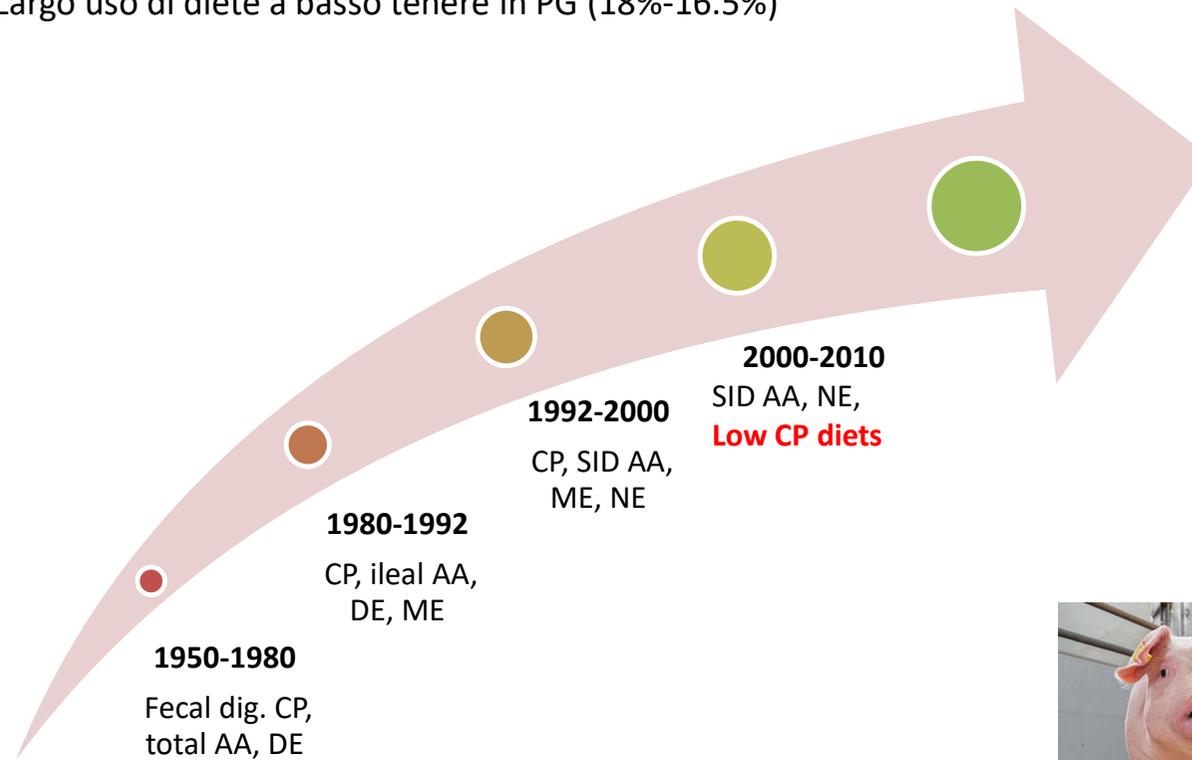
Source: Pig Progres 16 Nov 2020 and SFS



Sviluppo del concetto di mangime a basse proteine nel suino



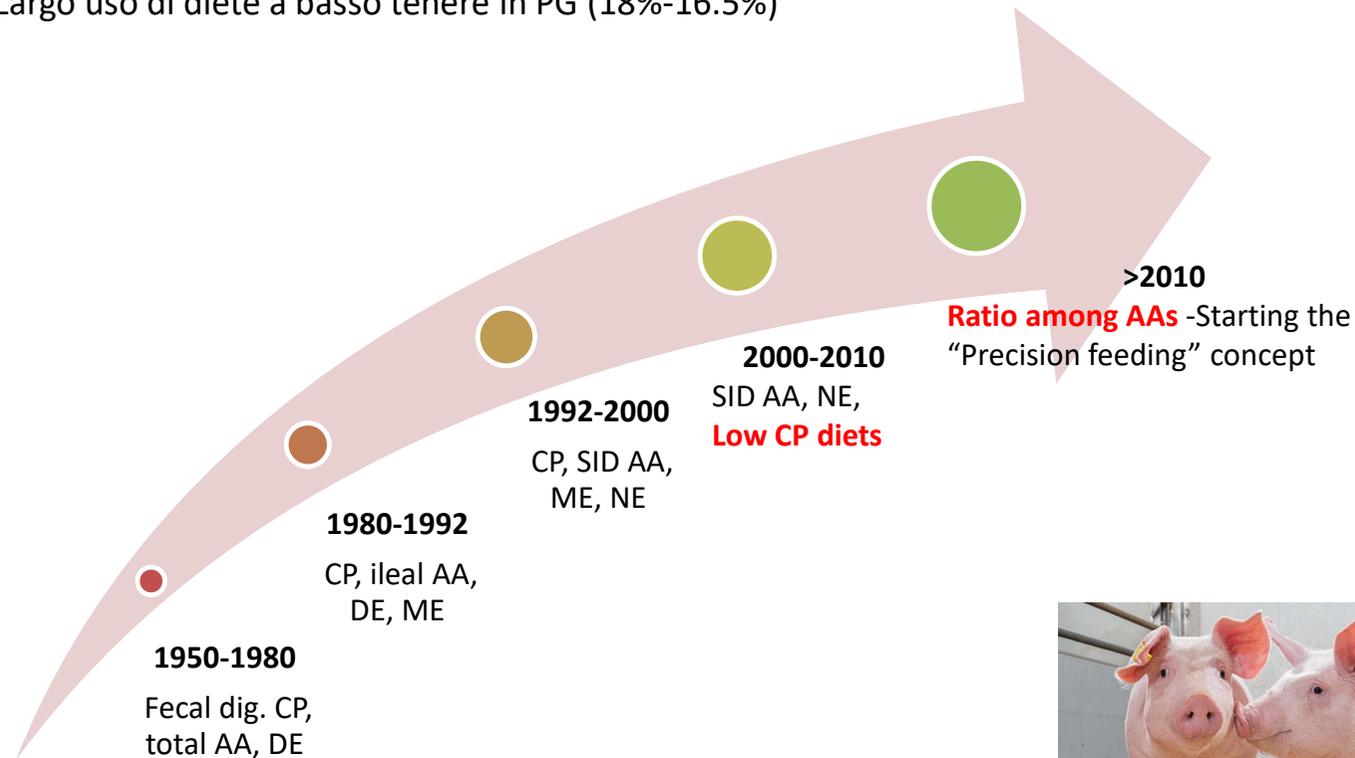
Dal 2006 → AGPs sono stati vietati nella UE → maggiore attenzione alla riduzione dell'uso di AB
Necessità per una maggiore sostenibilità della produzione del suino.
Largo uso di diete a basso tenore in PG (18%-16.5%)



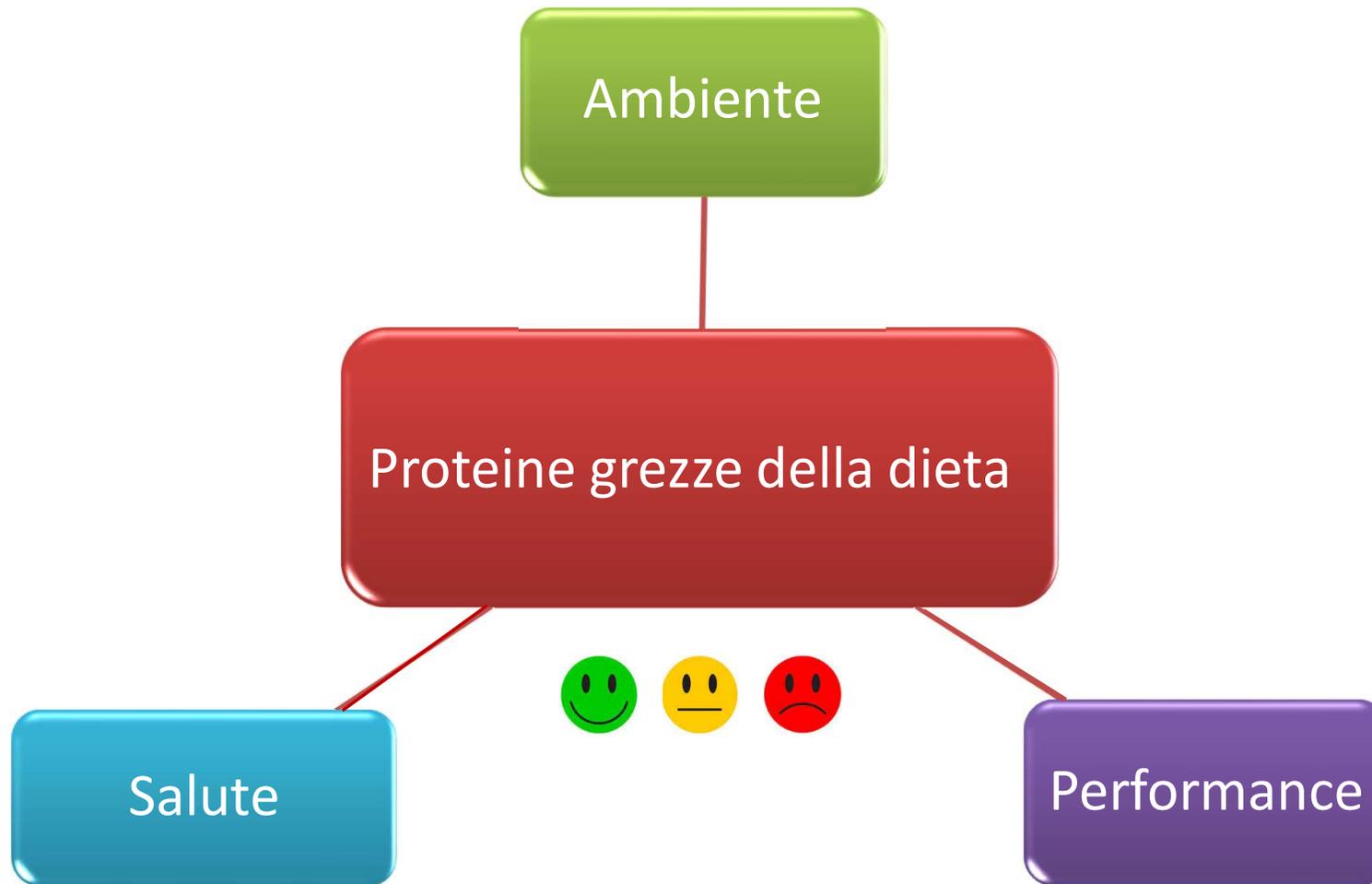
Sviluppo del concetto di mangime a basse proteine nel suino



Dal 2006 → AGPs sono stati vietati nella UE → maggiore attenzione alla riduzione dell'uso di AB
Necessità per una maggiore sostenibilità della produzione del suino.
Largo uso di diete a basso tenore in PG (18%-16.5%)

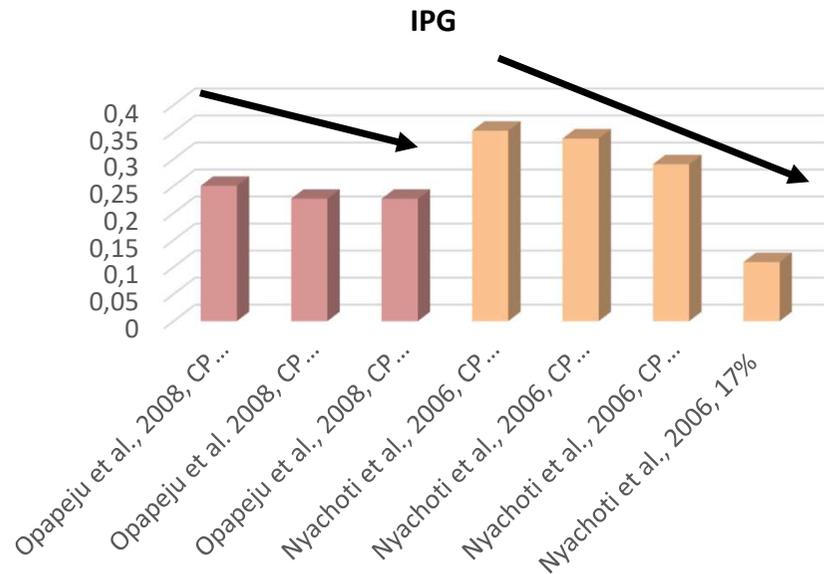


Implicazioni della modulazione del livello di proteine grezze nella dieta dei suinetti



Riduzione livello PG sulle performance

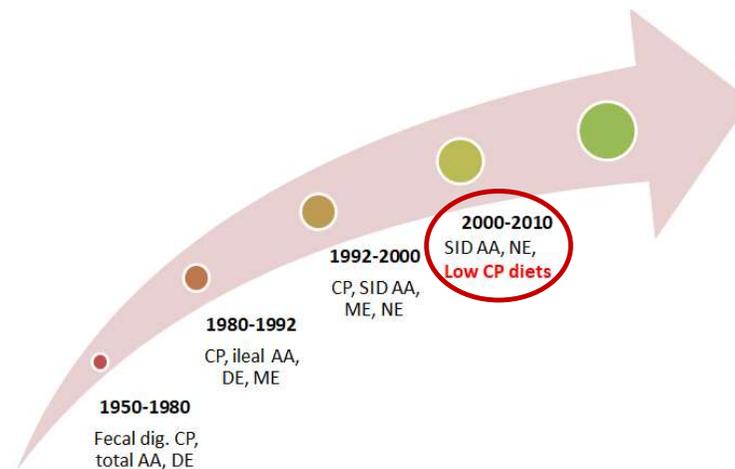
Performance



Ci sono prove che una diminuzione del contenuto di PG nella dieta può creare gravi carenze di AA non essenziali, con conseguente riduzione delle prestazioni di crescita dei suinetti dopo lo svezzamento (Opapeju et al., 2008; Nyachoti et al. 2006)

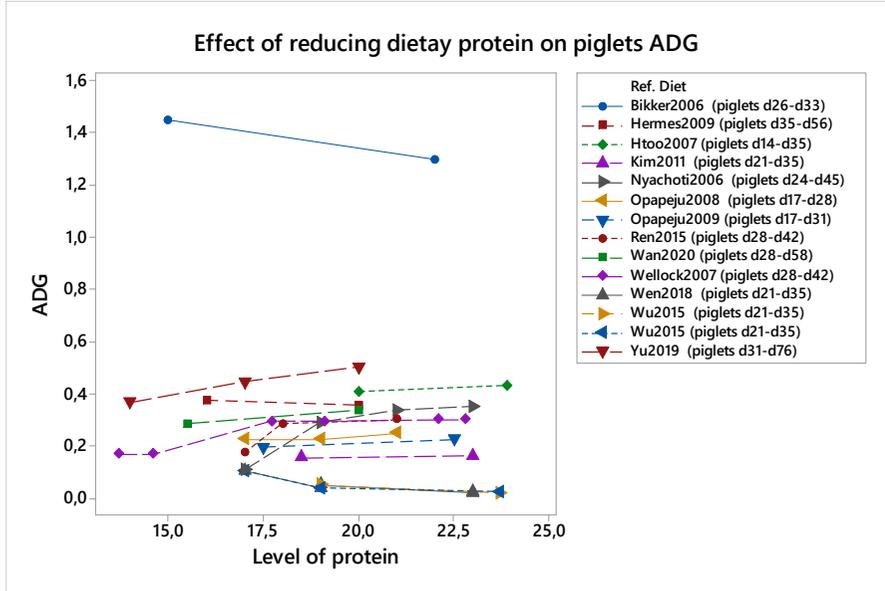
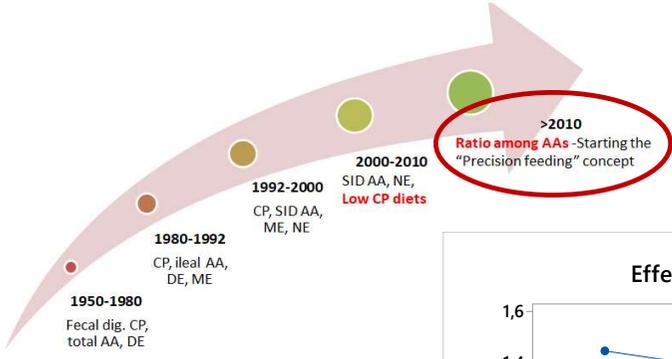
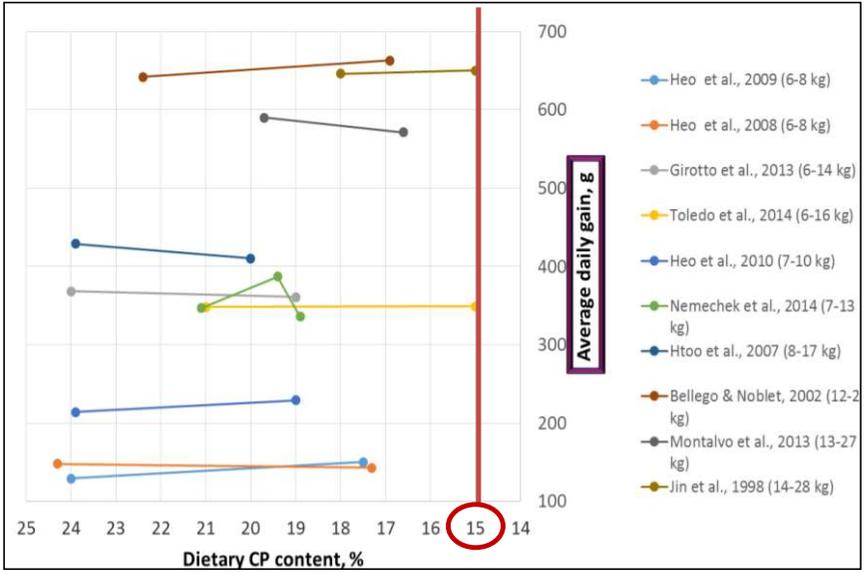
Dalla letteratura, negli ultimi quattordici anni, lo squilibrio per Valina, Isoleucina, Leucina, Istidina è abbastanza comune nelle diete a basse PG, così come il sovradosaggio di Lisina esacerba lo squilibrio degli altri AA

| REF | CP, % | NE, Mj/kg | Sid Lys | Met + Cys | Thr | Trp | Ile | Val |
|-------------------------------|-------|-----------|---------|-----------|------|------|------|------|
| Opapeju et al., 2008, CP 21% | 21 | 10.7 | 1.35 | 0.81 | 0.84 | 0.27 | 0.7 | 0.86 |
| Opapeju et al. 2008, CP 19% | 19 | 10.7 | 1.35 | 0.81 | 0.84 | 0.27 | 0.6 | 0.77 |
| Opapeju et al., 2008, CP 17% | 17 | 10.7 | 1.35 | 0.81 | 0.84 | 0.27 | 0.8 | 0.95 |
| Nyachoti et al., 2006, CP 23% | 23 | 14.8 | 1.4 | 0.84 | 0.91 | 0.25 | 0.82 | 0.95 |
| Nyachoti et al., 2006, CP 21% | 21 | 14.7 | 1.4 | 0.84 | 0.91 | 0.25 | 0.73 | 0.83 |
| Nyachoti et al., 2006, CP 19% | 19 | 14.6 | 1.4 | 0.84 | 0.91 | 0.25 | 0.73 | 0.75 |
| Nyachoti et al., 2006, 17% | 17 | 14.4 | 1.4 | 0.84 | 0.91 | 0.25 | 0.73 | 0.64 |



Riduzione livello PG sulle performance

Performance



Htoo et al., 2018

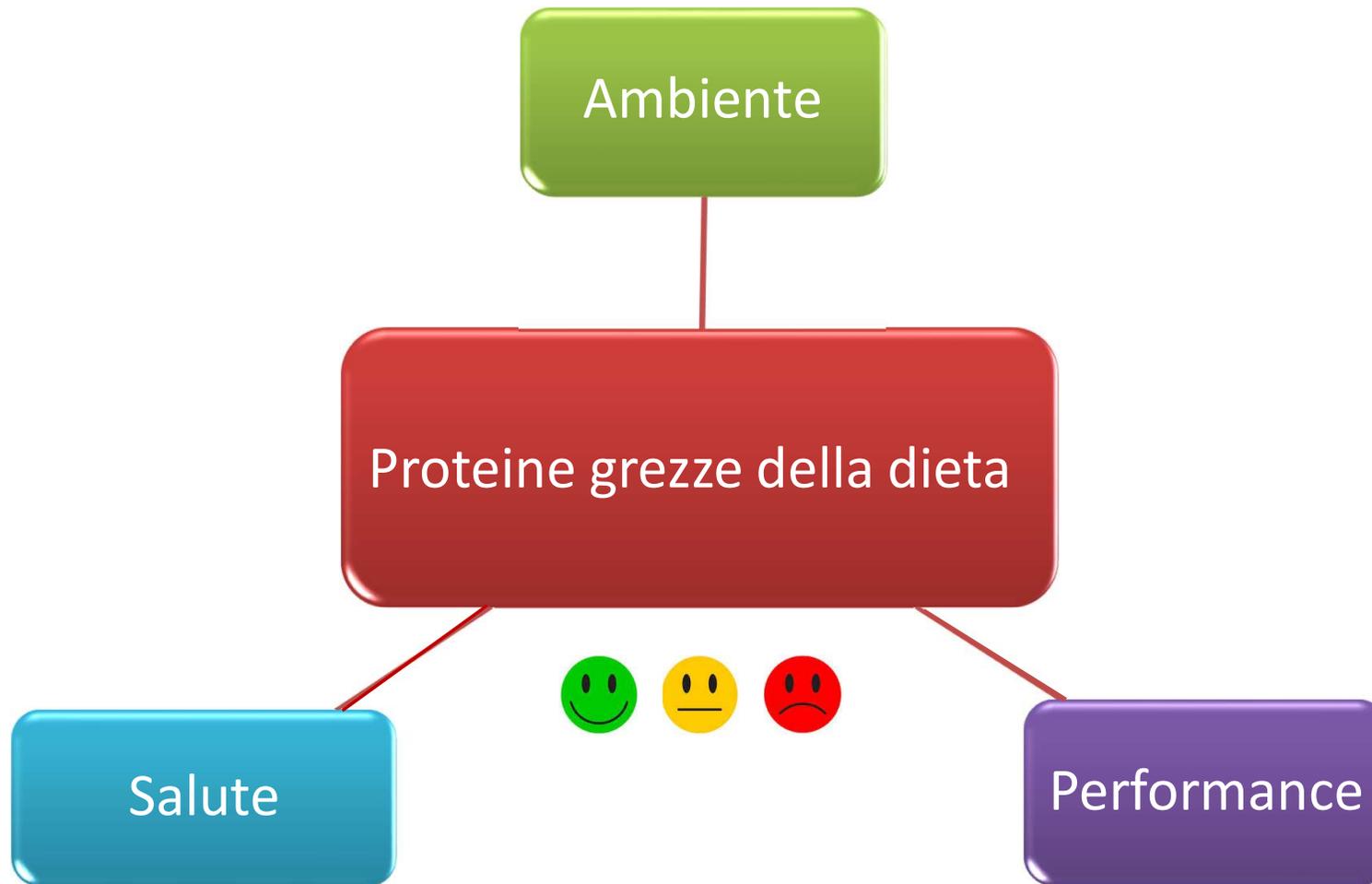
Luise et al. 2021

Nei suinetti, la sintesi di AA (AANE) non essenziali è correlata alla disponibilità di AA essenziali e glucosio. L'integrazione diretta di AANE in forma libera può alleviare la necessità della loro sintesi de novo quando l'azoto AA è limitante.

Gloaguen et al. 2014

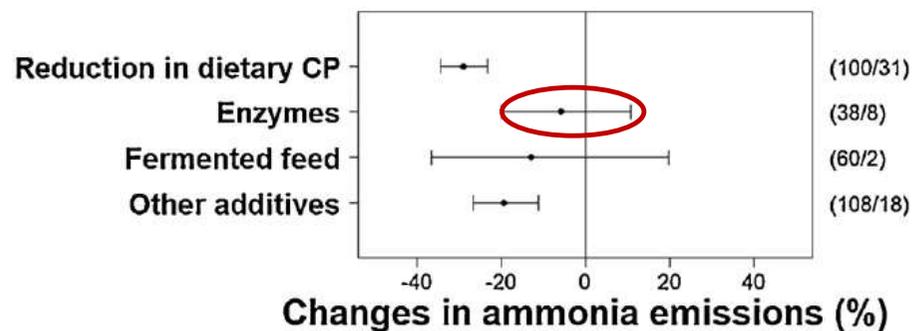
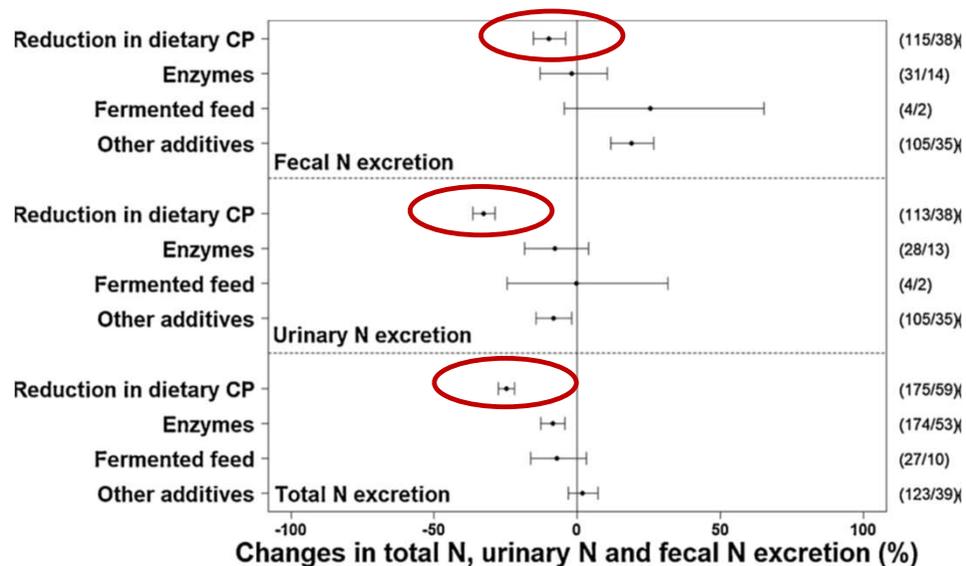


Implicazioni della modulazione del livello di proteine grezze nella dieta dei suinetti



Si raccomandano strategie di manipolazione dietetica per ridurre l'impatto della produzione di suini

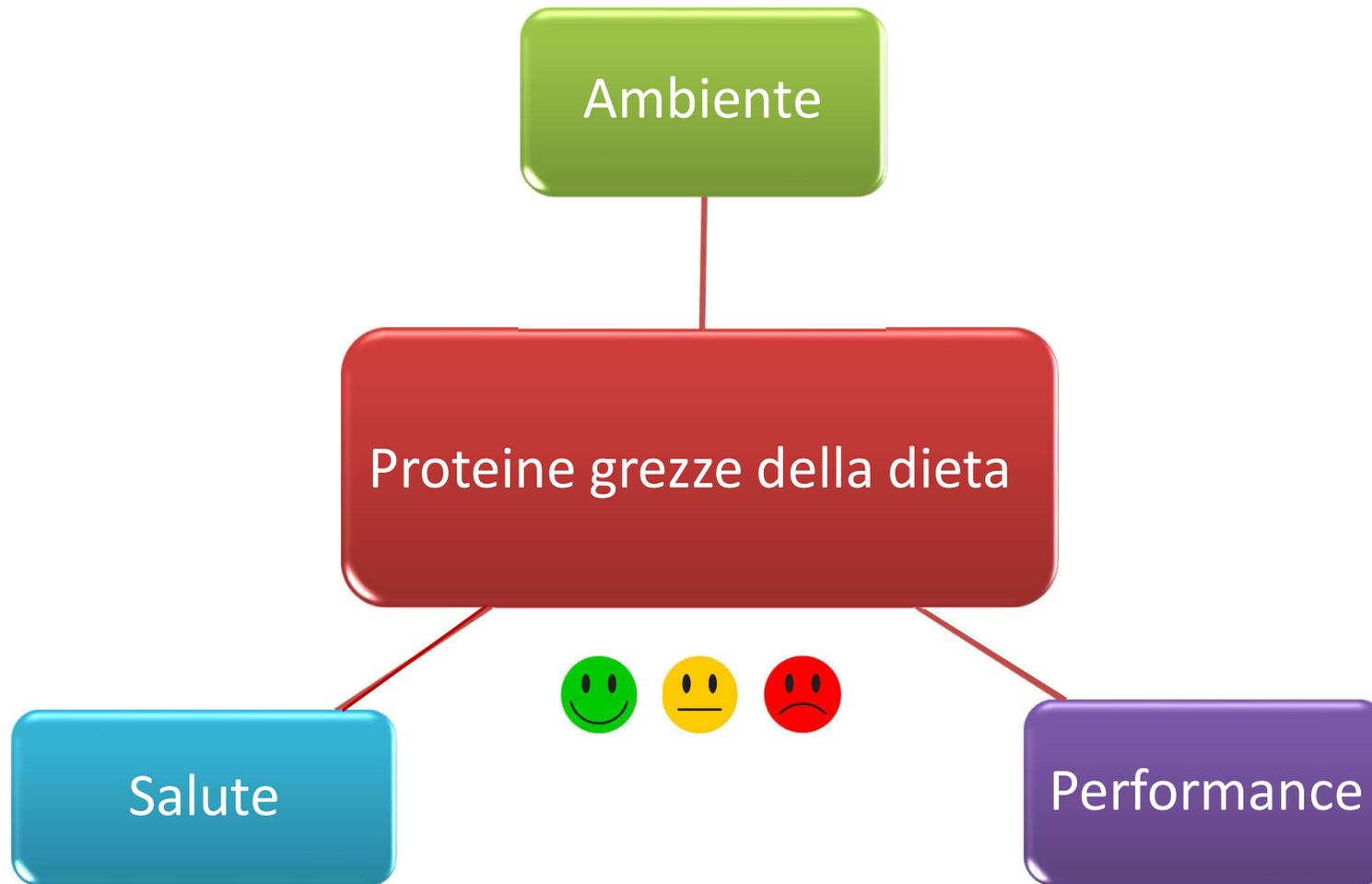
Ambiente



- ✓ L'escrezione di N è diminuita significativamente del 28,5% con una riduzione del contenuto di PG nella dieta
- ✓ Le emissioni medie di NH3 sono diminuite del 34,4% con una riduzione del contenuto di PG nella dieta



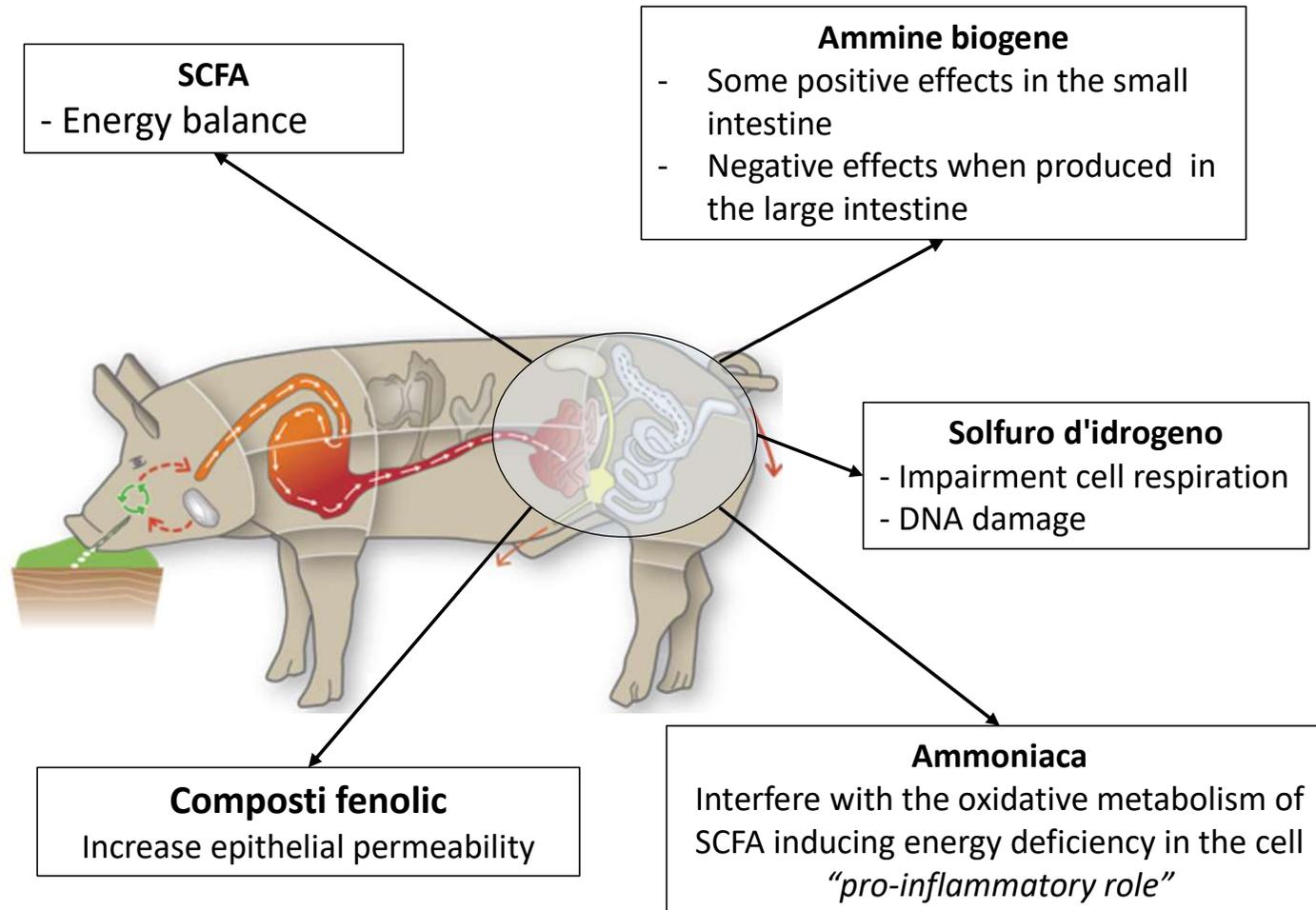
Implicazioni della modulazione del livello di proteine grezze nella dieta dei suinetti





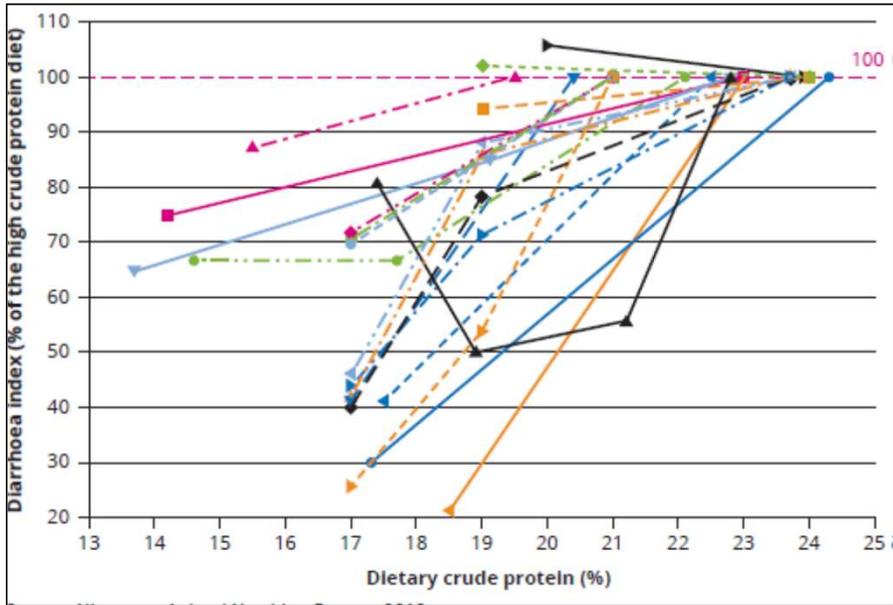
Alti livelli di PG come fattore di rischio per la salute del suino

Fermentazione microbica delle proteine (principalmente intestino crasso)

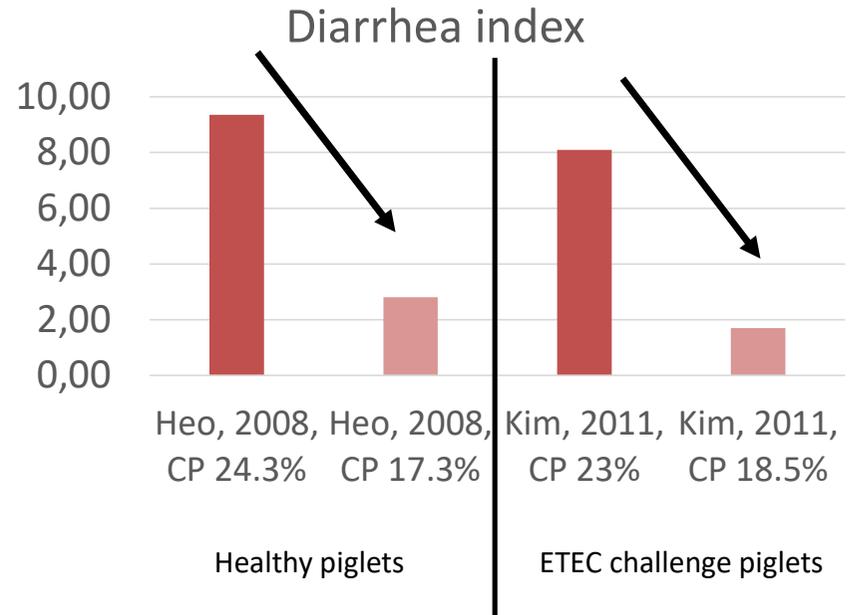


Ridurre la PG, diminuisce il rischio di diarrea

Salute

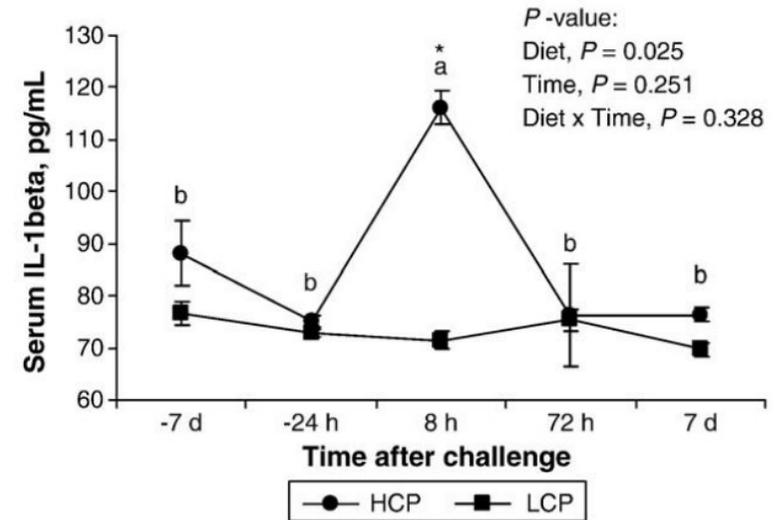
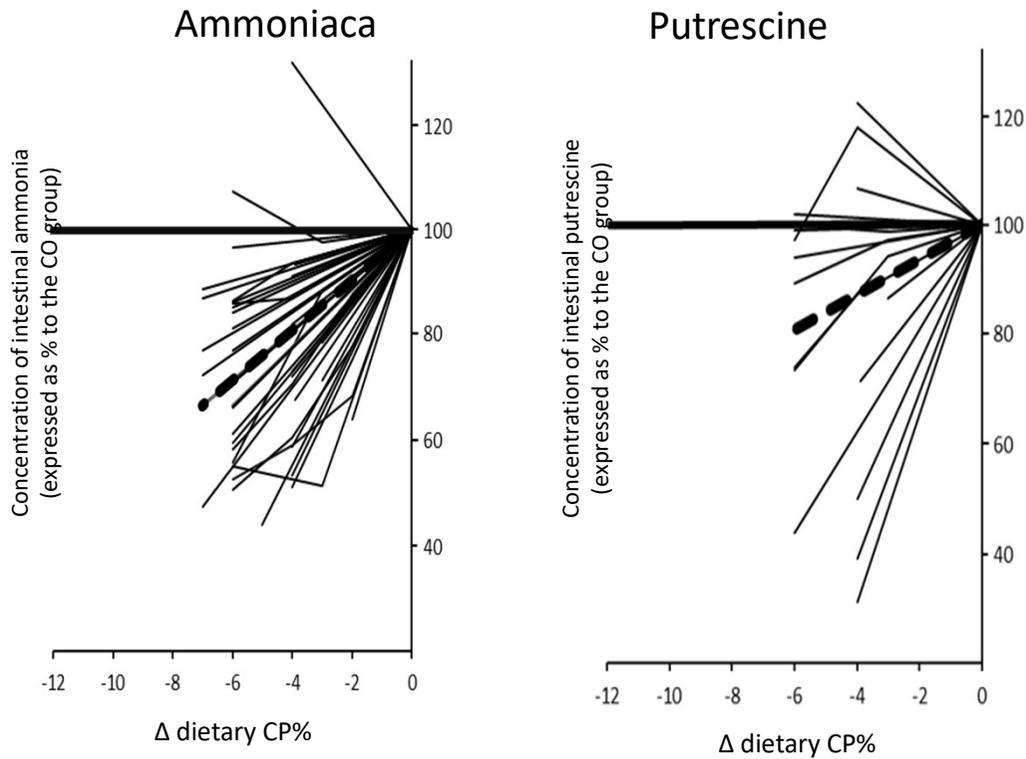


Source: Ajinomoto Animal Nutrition Europe, 2019.



Ridurre le PG, diminuisce la sintesi di ammoniaca e ammine intestinali

Salute



Feeding a low CP, AA-supplemented diet to piglets reduces inflammatory-associated responses induced by ETEC challenge

Opapeju, et al. 2010. *Livest. Sci.* 131, 58–64.



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



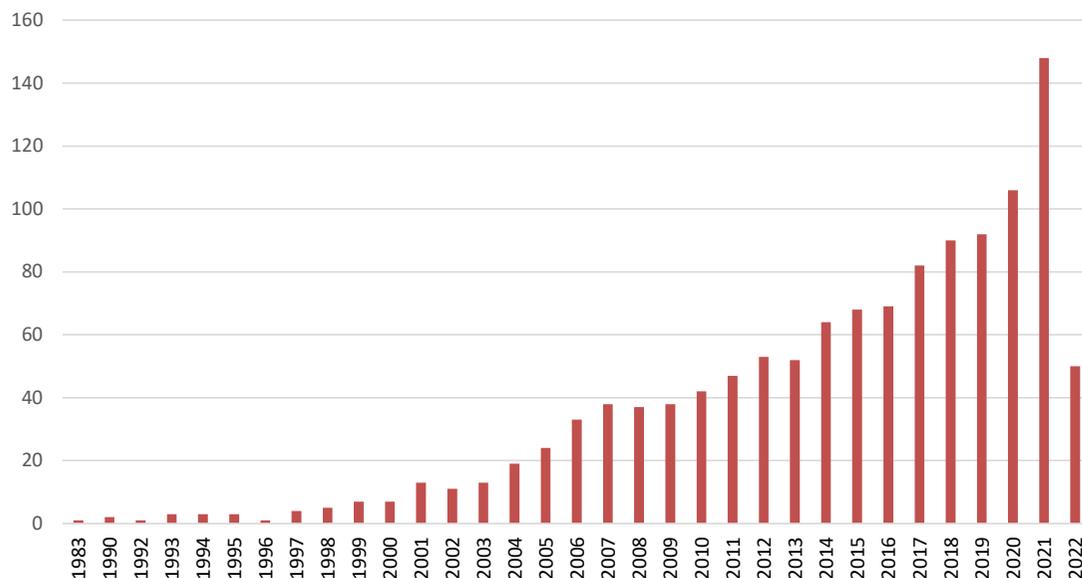
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Uso di probiotici per mantenere la salute intestinale nei suinetti in post-svezzamento

Paolo Trevisi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

Number of articles, NCBI "probiotic" "pig"



Beneficial Microbes, 2019; 10(7): 773-799



Could probiotics be the panacea alternative to the use of antimicrobials in livestock diets?

A. Cameron^{1,2} and T.A. McAllister^{2*}



Review article

Practical aspects of the use of probiotics in pig production: A review

Emili Barba-Vidal^{1,2,*}, Susana M. Martín-Orde³, Lorena Castillejos⁴

¹Animal Nutrition and Welfare Service, Departamento de Ciencia Animal y de Alimentos, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain
²Department of Animal and Poultry Science, University of Saskatchewan, S7N 5A6 Saskatoon, Canada

Hou et al. Journal of Animal Science and Biotechnology (2015) 6:14
 DOI 10.1186/s40104-015-0014-3



REVIEW

Open Access

Study and use of the probiotic *Lactobacillus reuteri* in pigs: a review

Chengli Hou, Xiangfang Zeng, Fengjuan Yang, Hong Liu and Shiyao Qiao*



REVIEW
 published: 07 February 2022
 doi: 10.3389/fmicb.2022.801827



Bacillus spp. Probiotic Strains as a Potential Tool for Limiting the Use of Antibiotics, and Improving the Growth and Health of Pigs and Chickens

Pathogens 2015, 4, 34-45; doi:10.3390/pathogens4010034

OPEN ACCESS

pathogens

ISSN 2076-0817

www.mdpi.com/journal/pathogens

Review

The Use of Lactic Acid Bacteria as a Probiotic in Swine Diets

Fengjuan Yang, Chengli Hou, Xiangfang Zeng and Shiyao Qiao*



ALMA MATER STUDIORUM
 UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Probiotici nel post-svezzamento

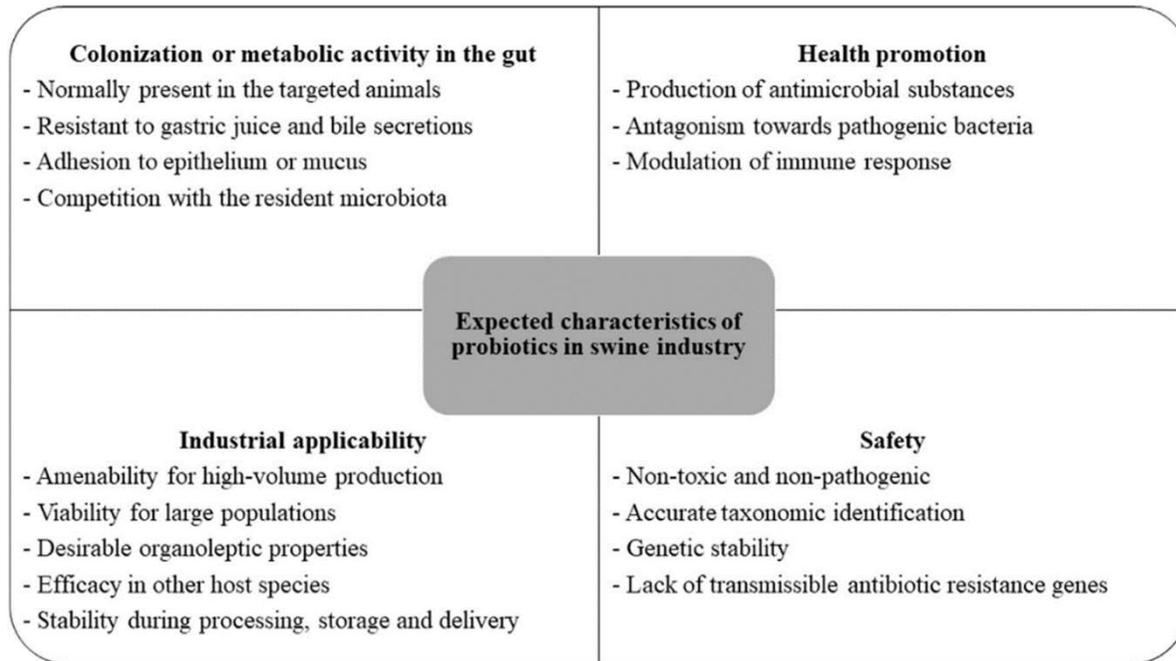
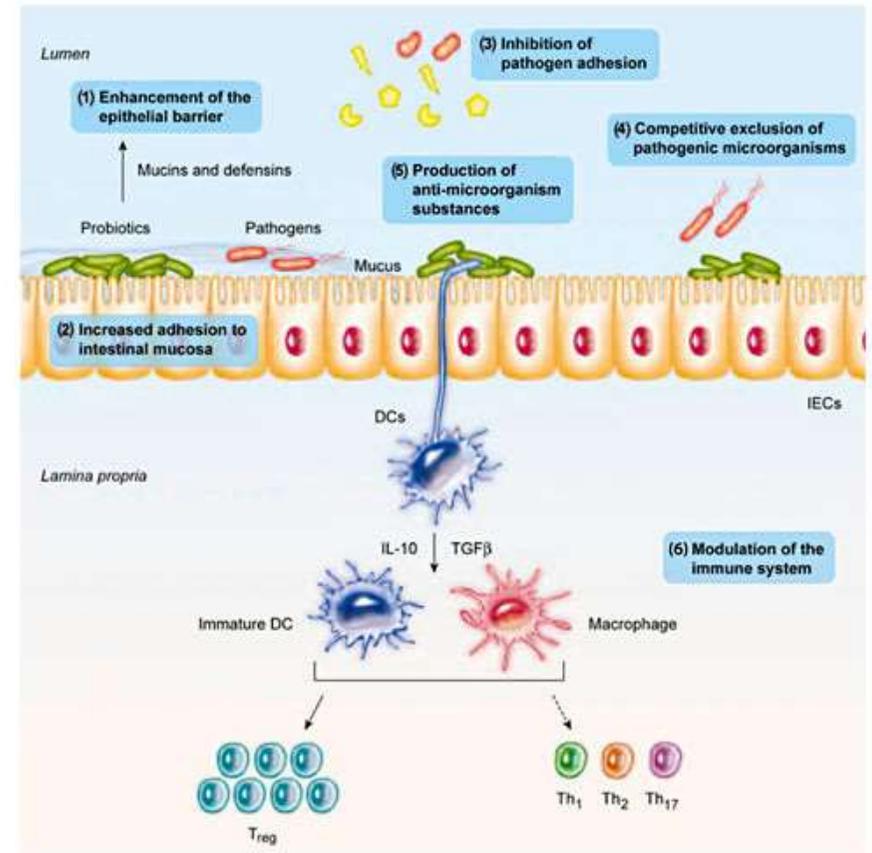


Fig. 1. Expected characteristics of probiotics.



Bermudez-Brito et al., 2012

Barba-Vidal et al., 2019



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Probiotici nel post-svezzamento

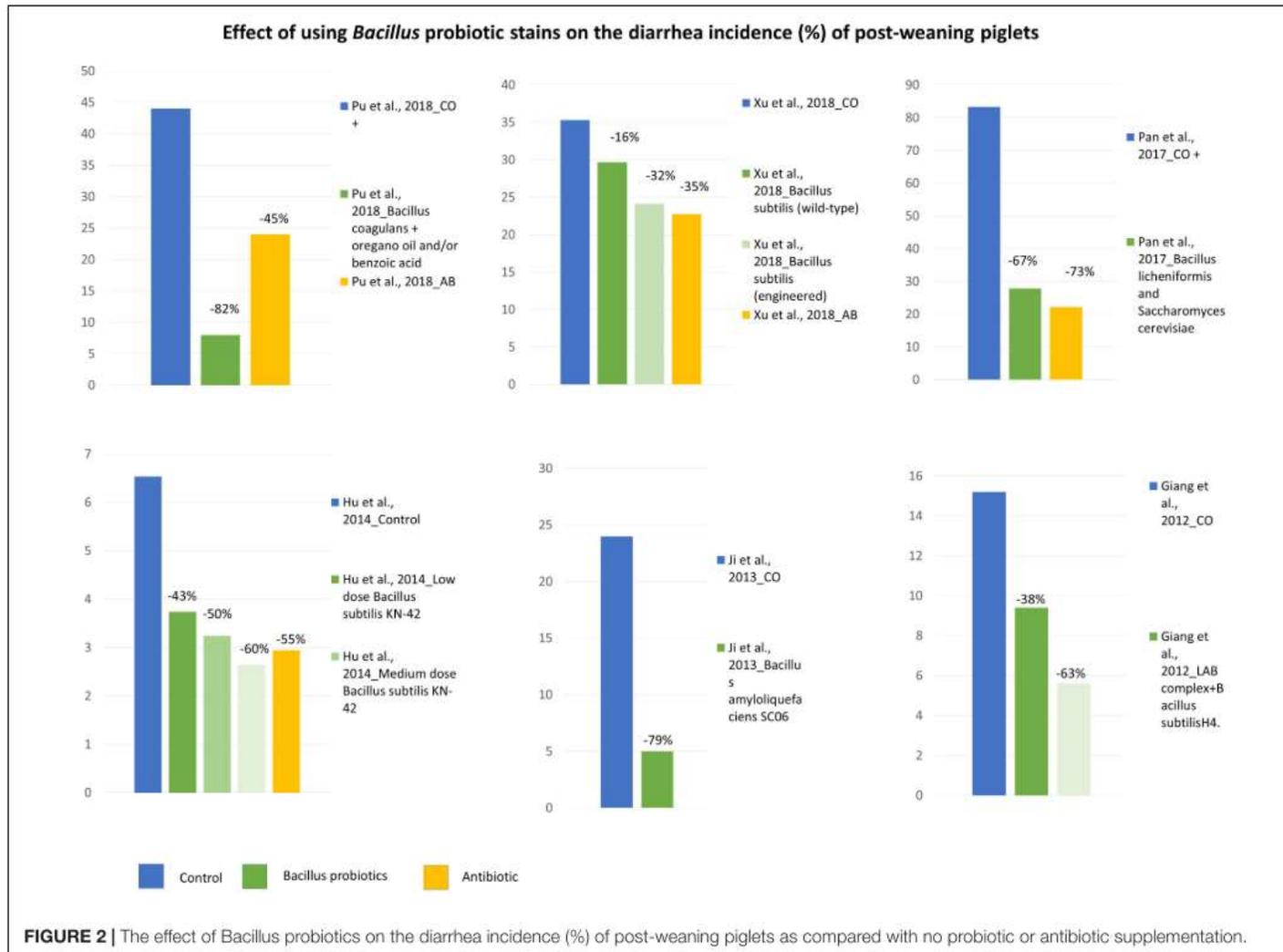


FIGURE 2 | The effect of *Bacillus* probiotics on the diarrhea incidence (%) of post-weaning piglets as compared with no probiotic or antibiotic supplementation.

Luise et al., 2022



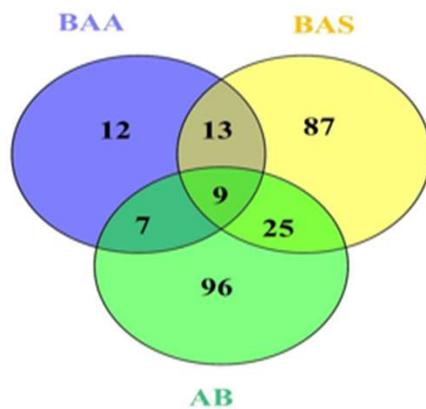
Probiotici nel post-svezzamento

Effetto della somministrazione di *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens* sulla mucosa intestinale

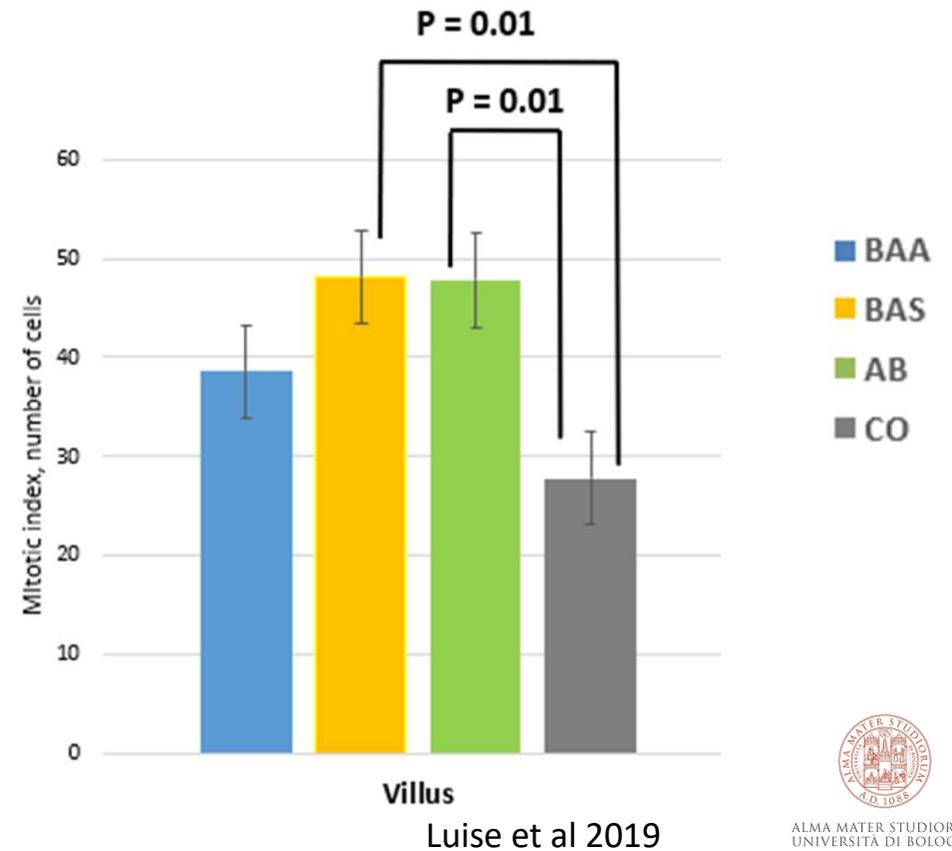
Set di geni arricchiti rispetto a CO (FDR <0,25) correlati con la risposta infiammatoria

9 Gene sets of intersection AB|BAA|BAS

- LEUKOCYTE_ACTIVATION
- T_CELL_ACTIVATION
- LYMPHOCYTE_DIFFERENTIATION
- B_CELL_ACTIVATION
- T_CELL_DIFFERENTIATION
- CELL_STRUCTURE_DISASSEMBLY_DURING_APOPTOSIS
- DETECTION_OF_EXTERNAL_STIMULUS
- DETECTION_OF_STIMULUS



Indice mitotico, d21

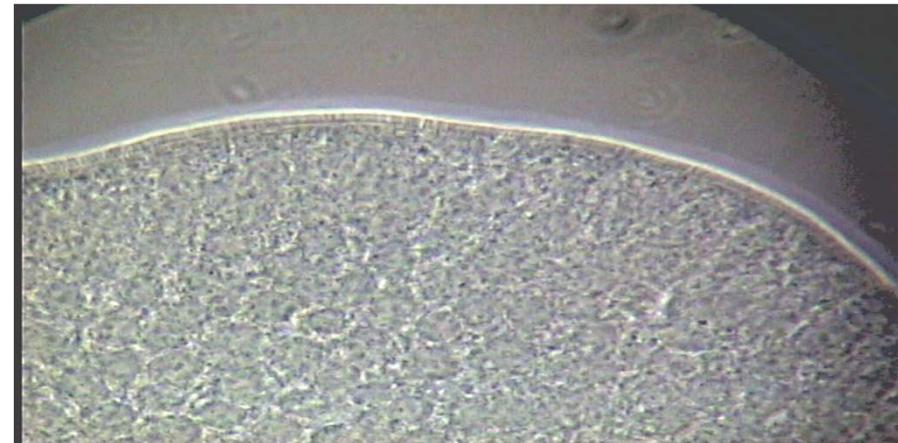


Escherichia coli enterotossigeno

- L'*Escherichia coli* enterotossigeni (ETEC) F4ac e F18ac sono i patogeni più frequentemente isolato nei suinetti e associato alla diarrea da post svezzamento (PWD)
- La suscettibilità dei suinetti a ETEC F4ac e F18 dipende dalla presenza di recettori per le fimbrie del patogeni nell'intestino tenue
- La suscettibilità può essere valutata mediante un test in vitro dell'adesione di ETEC al tessuto intestinale o ai recettori
- La suscettibilità è associata alla presenza di specifiche mutazioni puntiformi (SNP) del genoma suino



Soggetto suscettibile (F4 R⁺ classe 3)



Soggetto non suscettibile (F4 R⁻ classe 0)





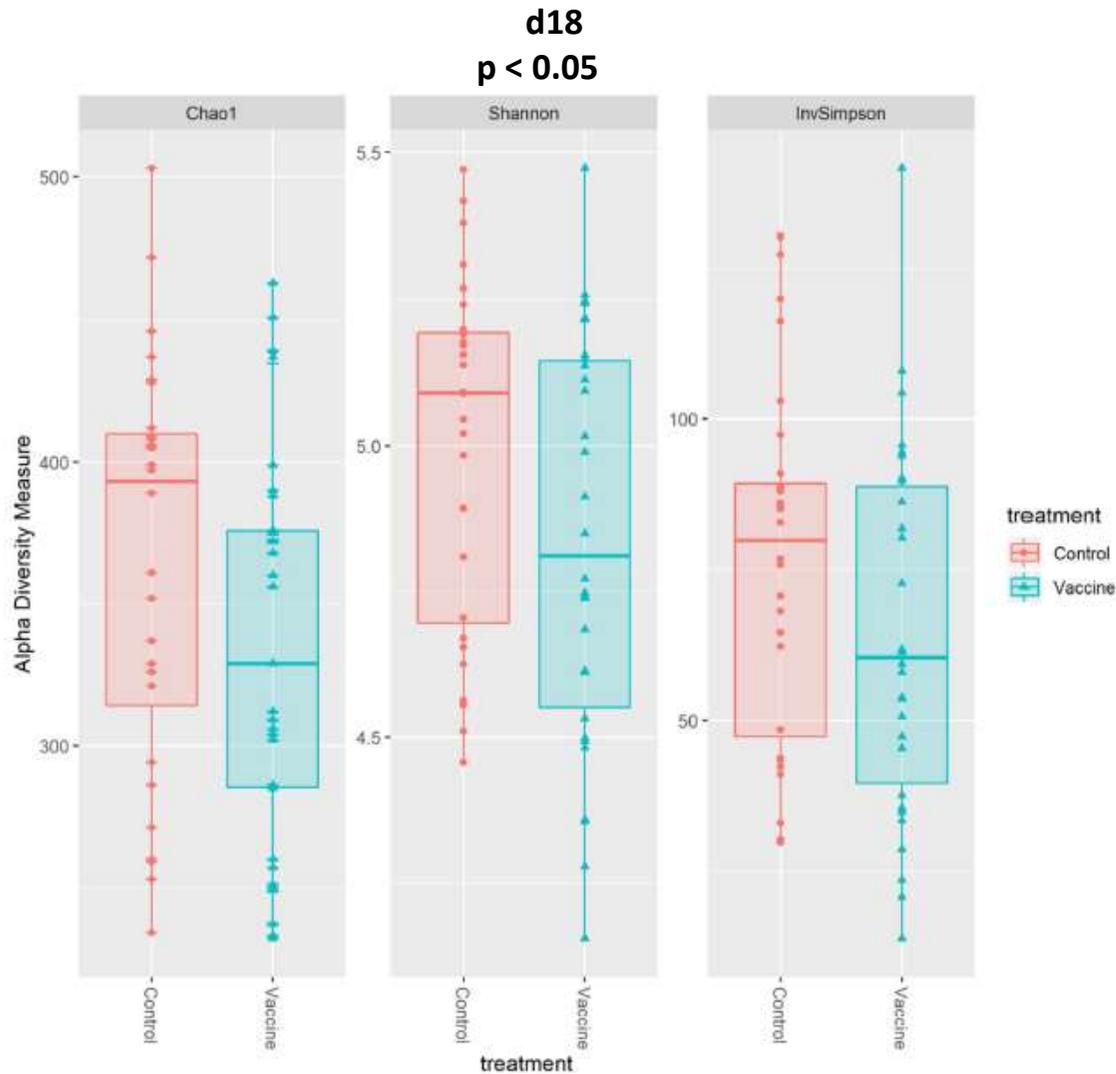
ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Effetti del vaccino bivalente contro *E. coli* e della suscettibilità genetica dell'ospite a tale patogeno sul profilo microbico fecale dei suini svezzati

Publicato: Livestock Science 241 (2020) 104247

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

Risultati - Microbiota



La ridotta complessità della comunità batterica nel gruppo vaccinato rispetto al controllo può essere correlata alla colonizzazione dell'intestino da parte di *E. coli* non patogeno.

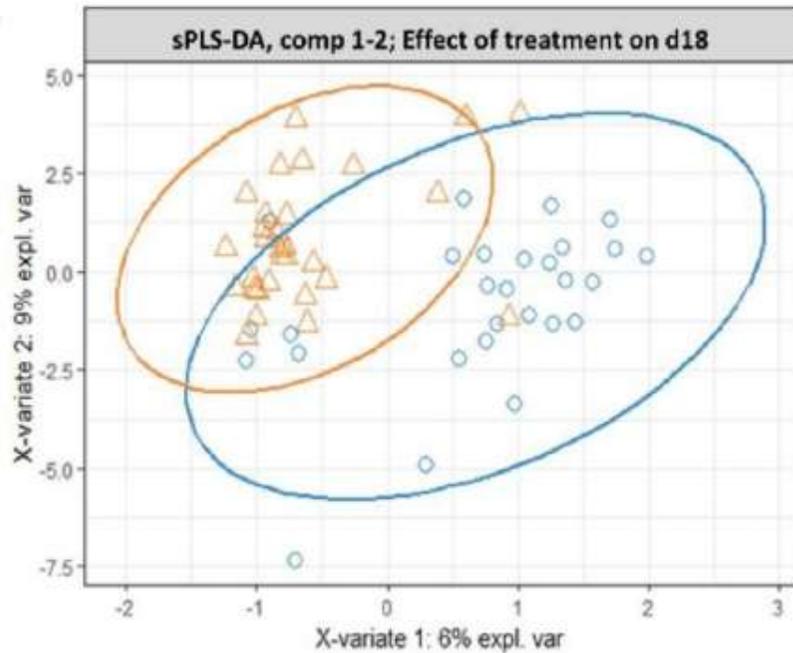


Anche se, dal punto di vista ecologico, una maggiore complessità sarebbe considerata più favorevole, in questo caso, analogamente all'apporto della probiosi, la minore complessità potrebbe essere considerata benefica (es. esclusione competitiva)



Resultati - Microbiota

d18



Legend
 ○ Control
 △ Vaccine

| Group | Bacterial genera | Potential Activity | References |
|---------|----------------------------|---|------------|
| Vaccine | <i>Faecalibacterium</i> | Produce SCFAs, mainly butyrate | 1 |
| Vaccine | <i>Parabacteroides</i> | Produce SCFAs, mainly succinate | 2 |
| Vaccine | <i>Ruminiclostridium_6</i> | Produce SCFAs, mainly acetate | 3 |
| Vaccine | <i>Blautia</i> | Produce SCFAs, mainly acetic and lactic acids | 4 |
| Vaccine | <i>Prevotella_2</i> | Ability to process complex dietary saccharides of the diet. It has been associated with increase of performance | 5, 6 |
| Vaccine | <i>Prevotella_7</i> | Ability to process complex dietary saccharides of the diet. It has been associated with increase of performance | 5, 6 |

References:

- 1) Louis et al., 2007. FEMS Microbiol. Lett. 269, 240–247.
- 2) Lecomte et al., 2015. PLoS One 10: e126931
- 3) Yamamura et al., 2019. Bioscience of microbiota, food and health, 19-010.
- 4) Liu, et al., 2008. Int J Syst Evol Microbiol, 58(8), 1896-1902.
- 5) Kiros et al., 2019. PLoS One PLoS One 14, e0219557.
- 6) Mach, et al., 2015. Environ. Microbiol. Rep. 7, 554–569.





ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Effect of an Escherichia coli F4/F18 bivalent oral live vaccine on gut health and performance of healthy weaned pigs

Publicato: *Animal* 2022, 16: 100654

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

Resultati – consistenza fecale

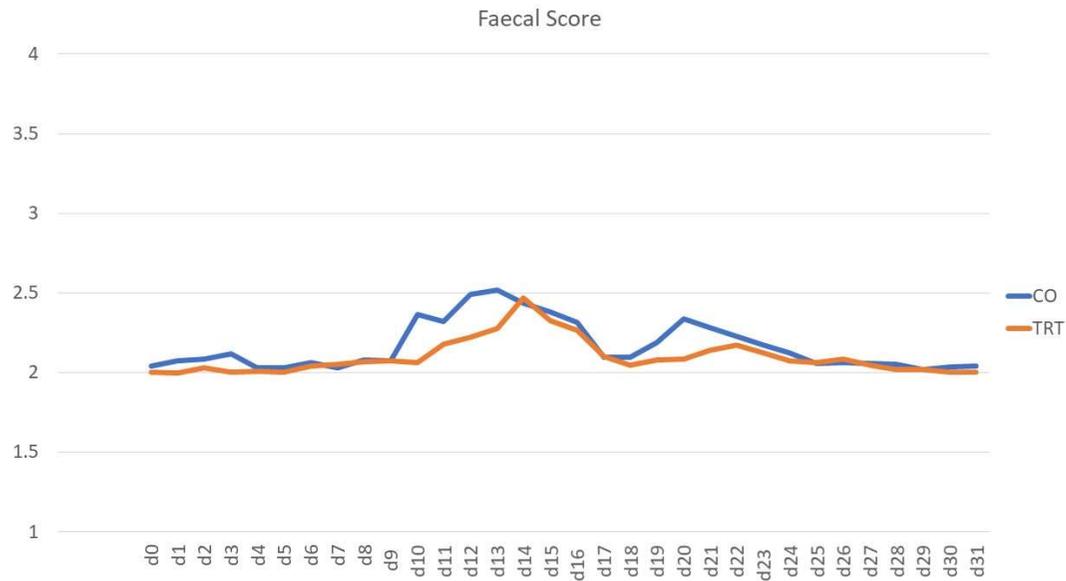


Figure 2. Effect of Coliprotec F4/F18®, administration on the faecal score of post weaning piglets.

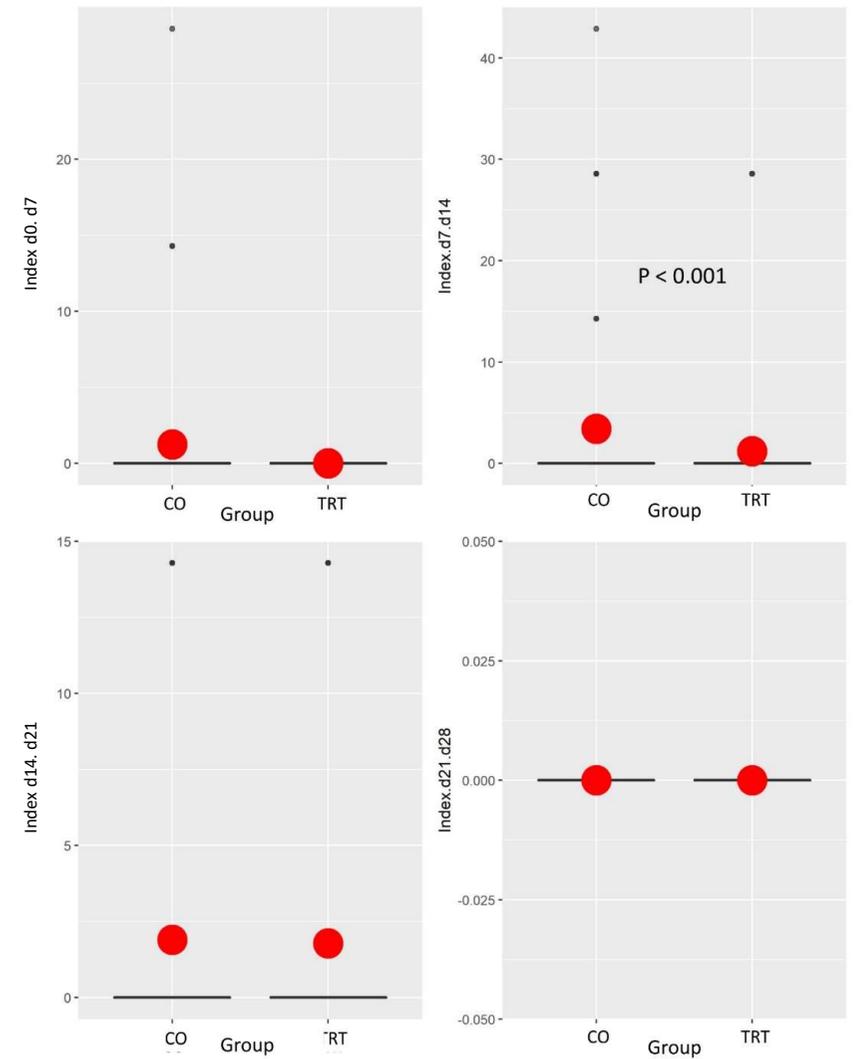


Figure 3. Effect of Coliprotec F4/F18®, administration on the diarrhea index of post weaning piglets.

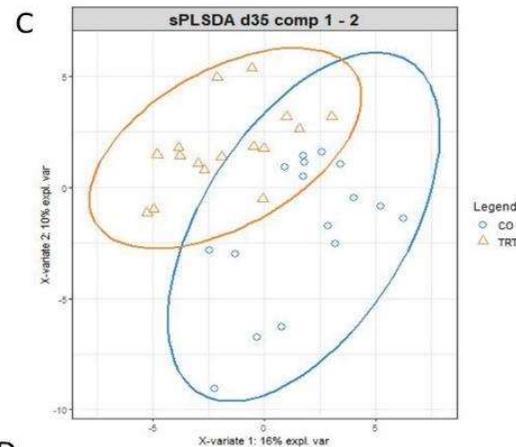
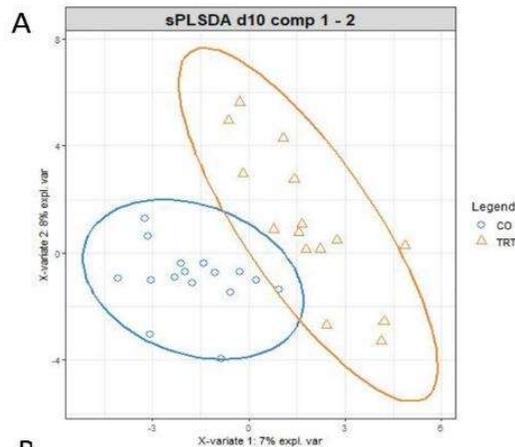
Resultati – Performance di crescita

| Item | Mean | | SEM | P-value |
|----------------------------------|-------|-------|------|-----------|
| | CO | TRT | | Treatment |
| Body weight, g | | | | |
| d0 | 7352 | 7332 | 86 | 0.84 |
| d7 | 7934 | 8028 | 295 | 0.44 |
| d10 | 9248 | 9443 | 382 | 0.43 |
| d14 | 10557 | 10793 | 455 | 0.36 |
| d21 | 14303 | 14386 | 570 | 0.82 |
| d28 | 18730 | 18607 | 598 | 0.82 |
| d35 | 23032 | 22855 | 784 | 0.77 |
| Average daily gain, g/day | | | | |
| d0-d7 | 83 | 99 | 12.1 | 0.12 |
| d7_d14 | 368 | 401 | 25.4 | 0.22 |
| d0_d14 | 225 | 253 | 19.7 | 0.08 |
| d14_d21 | 533 | 513 | 14.3 | 0.46 |
| d0_d21 | 328 | 340 | 18.0 | 0.49 |
| d21_d28 | 634 | 605 | 25.1 | 0.37 |
| d0_d28 | 405 | 406 | 15.8 | 0.94 |
| d28_d35 | 612 | 601 | 32.8 | 0.71 |
| d0_d35 | 446 | 446 | 17.7 | 0.97 |



Studio effetto di vaccino orale bivalente per ETEC sulla salute intestinale

Effetto vaccino coliprotec sul microbiota cecale



| Group | value.var | Freq | PC | Taxa |
|-------|-----------|------|----|-----------------------------|
| CO | -0.29 | 0.60 | 2 | Selenomonas |
| CO | -0.09 | 0.54 | 2 | Mogibacterium |
| TRT | 0.53 | 0.70 | 2 | [Eubacterium] nodatum group |
| TRT | 0.33 | 0.56 | 2 | Prevotellaceae UCG-004 |
| TRT | 0.28 | 0.54 | 2 | Escherichia-Shigella |
| TRT | 0.91 | 0.77 | 1 | Colidextribacter |

| Group | value.var | Freq | PC | Taxa |
|-------|-----------|------|----|-----------------------------------|
| CO | 0.13 | 0.54 | 1 | Rikenellaceae RC9 gut group |
| CO | 0.17 | 0.61 | 1 | Lachnospiraceae XPB1014 group |
| CO | 0.31 | 0.82 | 1 | Monoglobus |
| CO | 0.45 | 0.96 | 1 | Family XIII UCG-001 |
| CO | 0.10 | 0.51 | 1 | [Eubacterium] nodatum group |
| CO | 0.28 | 0.81 | 1 | Sutterella |
| TRT | -0.23 | 0.70 | 1 | [Eubacterium] ruminantium group |
| TRT | -0.19 | 0.65 | 1 | Acetitomaculum |
| TRT | -0.16 | 0.61 | 1 | Alloprevotella |
| TRT | -0.13 | 0.57 | 1 | [Bacteroides] pectinophilus group |
| TRT | -0.52 | 0.97 | 1 | CAG-56 |
| TRT | -0.16 | 0.61 | 1 | Mitsuokella |
| TRT | -0.35 | 0.83 | 1 | Subdoligranulum |

- L'aumento di *Prevotella* concorda con il nostro precedente studio (Luise et al; 2020), quindi conferma la capacità del vaccino di favorire questo genere che è generalmente associato a una migliore maturazione dell'intestino e a suinetti a crescita più rapida e robusta (Luise et al., 2021)
- I batteri appartenenti al gruppo *Eubacterium nodatum* sono riconosciuti come produttori di SCFA e sono più elevati nei suinetti normali rispetto a quelli di basso peso corporeo (Li et al., 2019).
- L'aumento dell'*Escherichia-Shigella* nel gruppo vaccinato è dovuto probabilmente al fatto che questo gruppo include il ceppo utilizzato per il vaccino; pertanto, questo risultato suggerisce una potenziale colonizzazione del ceppo vaccinale nell'intestino dei suinetti.



Studio effetto di vaccino orale bivalente per ETEC sulla salute intestinale

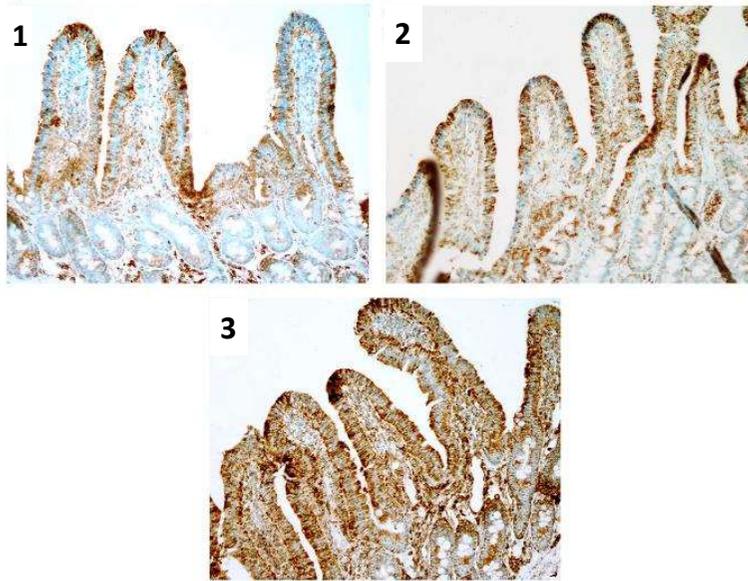
Effetto del vaccino Coliprotec F4/F18® su mucosa digiunale di suinetti a 10 e 35 giorni post svezzamento

| Item | d10 | | | | d35 | | | |
|--------------------|-------|-------|-------|-------------------|-------|-------|-------|-----------|
| | Mean | | SE | P-value | Mean | | SE | P-value |
| | CO | TRT | | Treatment | CO | TRT | | Treatment |
| Villus height, um | 251 | 232 | 13.20 | 0.265 | 323 | 335 | 10.90 | 0.370 |
| Villus width, um | 67.30 | 65.60 | 3.79 | 0.723 | 81.90 | 85.70 | 2.83 | 0.323 |
| Crypts width, um | 32.80 | 33.30 | 1.77 | 0.814 | 37.30 | 37.60 | 0.88 | 0.802 |
| Crypts depth, um | 156 | 139 | 7.02 | 0.040 | 197 | 202 | 7.84 | 0.564 |
| M mean | 7.38 | 6.82 | 0.32 | 0.176 | 8.02 | 8.12 | 0.24 | 0.736 |
| Villus/crypts , um | 1.64 | 1.63 | 0.10 | 0.980 | 1.66 | 1.68 | 0.09 | 0.863 |
| Claudin 4, score | 1.50 | 2.69 | 0.15 | <0.0001 | 1.29 | 1.92 | 0.14 | 0.0004 |

L'aumento della profondità della cripte è associato ad un aumento del tasso di proliferazione delle cellule della cripta e alla stimolazione complessiva del turn-over cellulare nell'intestino tenue a seguito di un'inflammatione, questo indica un numero elevato di cellule immature che si muovono lungo l'asse cripta-villi nel gruppo di controllo.



Studio effetto di vaccino orale bivalente per ETEC sulla salute intestinale



Representative immunohistochemistry images for Claudin 4. A) score 1= light/sparse staining: some villi and weakly marked crypts are represented; B) 2= moderate staining: the immunoreactivity for Claudin-4 involves about 50% of the epithelial cells (enterocytes) of the villi; C) Score 3 =intense staining: the immunoreactivity appears intense and uniformly distributed on the surface of the villi.

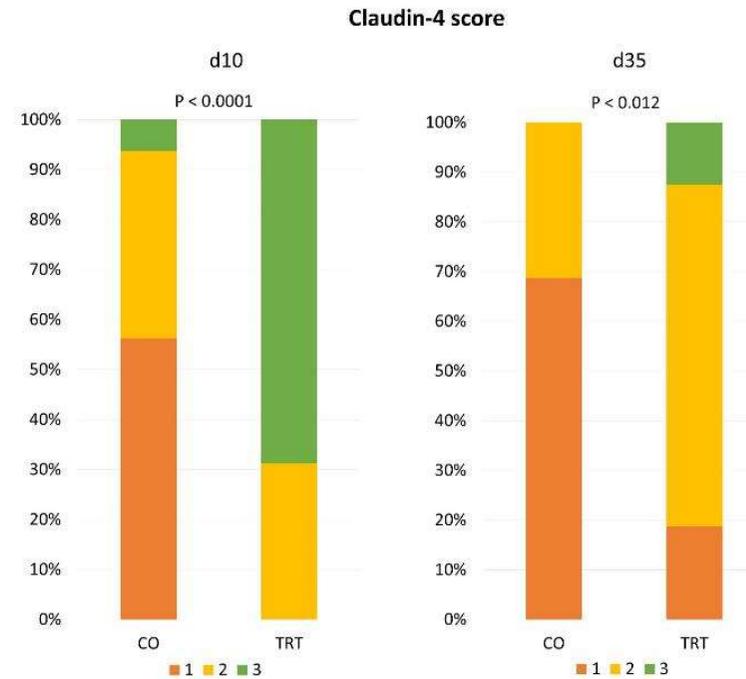


Figure 7. Jejunal immunohistochemistry scoring for Claudin-4 of post-weaning piglets orally vaccinated with Coliprotec F4/F18.

Per il suo ruolo nell'intestino tenue, la claudina-4 può essere considerata un buon marker per la funzione barriera e l'integrità della mucosa. Il punteggio più alto osservato nel gruppo vaccinato ha suggerito un'influenza positiva del vaccino sulla funzione di barriera e sull'integrità della mucosa nel digiuno dei suinetti. In effetti, l'espressione e il punteggio di Claudin-4 diminuiscono con l'infiammazione data da lipopolisaccaride di *E. coli* (Ciro Galeano et al., 2015) e al virus PED (Curry et al., 2017).





ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Prof Paolo Trevisi

paolo.trevisi@unibo.it

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari