PROVA DI INFEZIONE SPERIMENTALE CON UN CEPPO DI SALMONELLA HADAR, ISOLATO DAL CAMPO, IN POLLI SPF E CONTROLLO DELLA REPLICAZIONE ED ESCREZIONE BATTERICA MEDIANTE L'UTILIZZO DI UN PRODOTTO A BASE DI ACIDI ORGANICI ED AROMI NATURAL-IDENTICI MICROINCAPSULATI (BREV. EUROPEO N. 1391155 B1) MISCELATO NELL'ALIMENTO IN CONCENTRAZIONI DIVERSE.

Massi P.1, Tosi G.1, Vandi L.2, Piva A.2

- 1. IZSLER-Sezione di Forlì
- <sup>2</sup>. VETAGRO s.r.l.

#### Abstract

Si descrivono i risultati di una prova infezione sperimentale con un ceppo di *Salmonella hadar*, isolato dal campo, in polli SPF, ed il controllo della replicazione ed escrezione batterica in seguito all'utilizzo di un prodotto, a base di acidi organici ed aromi naturalidentici microincapsulati, miscelato nell'alimento in concentrazioni diverse di 0,3-1.0-5,0 Kg/tonn di mangime. Per una maggior valutazione della prova sono stati raccolti anche i parametri zootecnici.

# Protocollo operativo

Si utilizzavano 125 pulcini SPF SPAFAS® di 1 giorno di età di razza leggera, suddivisi in 5 gruppi in maniera random e ogni gruppo costituito di 25 soggetti veniva immesso in isolatore presso lo stabulario della Sezione diagnostica di Forlì dell'IZSLER.

Il ceppo di *Salmonella hadar* prot.FO/313086/2008 veniva isolato dal fondo delle scatole di trasporto di pollastre di 1 giorno.

La miscela degli acidi organici e di aromi naturali era integrata in un mangime per polli da carne in tre diverse concentrazioni da parte dell'azienda fornitrice della stessa miscela (Piva et al.2007).

I gruppi erano così rappresentati:

- n.1 : gruppo di controllo negativo non infettato e alimentato con mangime per polli non trattato.
- n.2: gruppo di controllo positivo infettato per *Salmonella hadar* con 30-6 ufc/ml/capo per via endoesofagea ad un mese di vita. Il gruppo veniva alimentato con mangime per polli non trattato.
- n.3 : il gruppo veniva infettato con Salmonella come il controllo positivo. Questo gruppo era alimentato con mangime per polli contenente la miscela di acidi organici e aromi naturali nella misura di 0,3Kg/tonn di mangime dal primo giorno di vita.
- n.4: il gruppo veniva infettato con Salmonella come il controllo positivo. Questo gruppo era alimentato con mangime per polli contenente la miscela nella misura di 1,0 Kg/tonn di mangime.
- n.5: il gruppo veniva infettato con Salmonella come il controllo positivo. Questo gruppo era alimentato con mangime per polli contenente la miscela nella misura di 5,0 Kg/tonn di mangime.

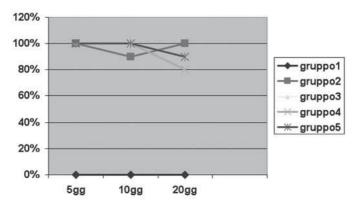
Tutti i gruppi in fase post infezione venivano controllati per l'andamento clinico ( depressione del gruppo, diarrea, eventuale mortalità) e monitorati dopo 2 giorni attraverso tamponi cloacali per il controllo dell'attecchimento dell'infezione; dopo 5 giorni dall'infezione (sopprimendo 5 soggetti per gruppo), dopo 10 giorni (sopprimendo 10 soggetti per gruppo) e dopo 20 giorni (sopprimendo i restanti 10 soggetti per gruppo) al fine di valutare la presenza quali e quantitativa della salmonella nei ciechi e nell'ultimo prelievo anche nel fegato e milza. Inoltre sono stati valutati i parametri zootecnici come il consumo di acqua e mangime e gli indici di accrescimento.

Nel prelievo finale i soggetti sono anche stati saggiati da un punto di vista sierologico al fine di evidenziare eventuali positività crociate nei confronti di *Salmonella enteritidis*, typ-phimurium e pullorum-gallinarum.

#### Risultati

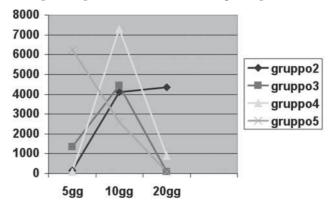
I grafici 1 e 2 sono riassuntivi delle medie delle percentuali di positività e del conteggio della Salmonella nei ciechi dei soggetti a 5,10 e 20 giorni post-infezione

Grafico1. riassuntivo della percentuale di positività della Salmonella nei ciechi nei 5 gruppi nei tre prelievi post-infezione (5,10 e 20 giorni post-infezione)



Come si può vedere l'unico gruppo in cui dopo 20 giorni permane la positività nel 100% dei soggetti è il gruppo infettato e non trattato.

Grafico2. riassuntivo della media dei conteggi Salmonella dai ciechi, espressi in ufc/gr. dei 4 gruppi infettati nei tre prelievi post infezione (5,10 e 20 giorni post infezione)



Il gruppo 2 non trattato è l'unico che non ha avuto una riduzione del numero di Salmonelle.

Nell'ultimo prelievo la Salmonella è stata reisolata anche nei fegati e nella milza in tutti i gruppi infettati nella percentuale del 30-40 % dei soggetti esaminati senza differenze significative fra i quattro gruppi e sempre in numero molto basso al di sotto delle 100 ufc/gr.

In Tabella 1 sono riassunti i pesi medi del prelievo finale

	Gruppo n.1	Gruppo n.2	Gruppo n.3	Gruppo n.4	Gruppo n.5
Pesi medi in gr.	649,00	628,50	664,50	657.00	675.00

# In tabella 2 sono riassunti i consumi di acqua

	Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	Gruppo4	Gruppo 5
Consumo totale di acqua	30,5 lt	32 lt	33,5 lt	31,5 lt	35 lt

# In **tabella 3** sono riassunti i consumi di mangime

	Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	Gruppo 4	Gruppo 5
Consumo totale di mangime	12,300kg	13,850kg	13,900kg	13,500kg	13,700kg

Per quanto attiene alla sierologia, nessun soggetto, a fine prova, ha presentato risposta anticorpale crociata verso gli Antigeni per *Salmonella enteritidis, typhimurium* e pullorum-gallinarum.

#### Considerazioni

La prova sperimentale eseguita ci conduce ad una serie di considerazioni preliminari che dovranno essere riconfermate con prove successive.

L'obiettivo della prova sperimentale era quella di verificare la riduzione di prevalenza e di replicazione di soggetti infettati con Salmonella e trattati con sostanze naturali come prevede la normativa vigente sulle Salmonelle (Reg.2160/2003) che vieta l'utilizzo di trattamenti antibiotici in caso di gruppo infetto da Salmonella.

La prima considerazione riguarda il permanere della presenza di Salmonella nei ciechi della gran parte dei soggetti 3 settimane dopo l'infezione. La seconda considerazione riguarda la significativa riduzione, nei gruppi alimentati con mangime trattato, del numero di Salmonelle, fra il primo prelievo e l'ultimo, e fra il gruppo di controllo positivo e i gruppi trattati nell'ultimo controllo, alla luce anche della massiva infezione indotta. Sempre nell'ultimo controllo i pesi medi dei gruppi trat-

tati sono significativamente più alti rispetto al controllo positivo ed anche maggiori rispetto al controllo negativo. Per quanto attiene al consumo di acqua e mangime: tutti i gruppi infettati hanno bevuto e consumato una maggior quantità di acqua e alimento.

Un ultimo spunto di discussione riguarda il fatto che tutti i soggetti infettati non hanno manifestato alcun sintomo clinico, nonostante che la Salmonella hadar è stata dimostrata replicare bene e diffondersi in modo sistemico anche nel fegato e nella milza. Ciò dimostra la pericolosità della *Salmonella hadar*, che non essendo patogena per la specie, replica nel pollame in modo silente e solo il costante monitoraggio di tipo batteriologico può metterla in evidenza.

# **Bibliografia**

Piva et al.,2007."Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine"J.Anim.Sci.2007.85:486-493