

«METAGENOMICA E SANITA' PUBBLICA VETERINARIA»

“EFFETTI DEL REGIME ALIMENTARE SUL MICROBIOTA INTESTINALE NELLA BUFALA MEDITERRANEA”

Palermo, 28 ottobre 2016

Dr.ssa **Giorgia Borriello**

Dipartimento Sanità Animale

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno





BANDO “SPORTELLO DELL’INNOVAZIONE”: Progetti di Trasferimento Tecnologico Cooperativi e di Prima Industrializzazione per le Imprese Innovative ad Alto Potenziale

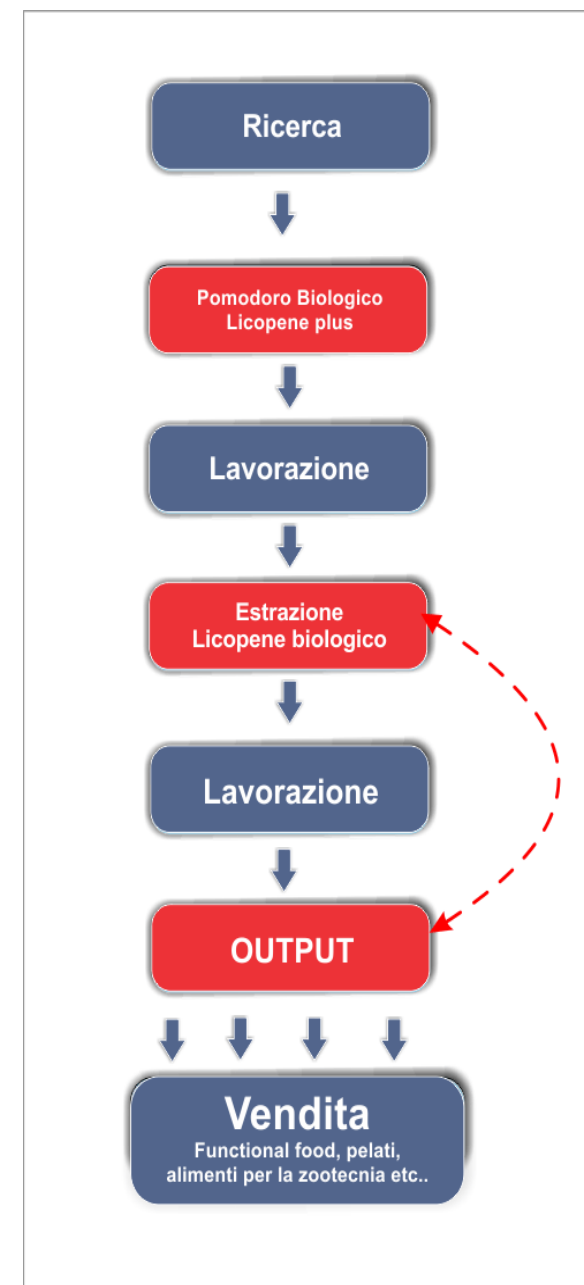
PROGETTO “TR.I.S. – TRasferimento tecnologico e di prima Industrializzazione per le produzioni di pomodoro e recupero dei relativi Scarti di produzione”



TR.I.S.: OPPORTUNITÀ PROGETTUALI

Diverse linee di ricerca concentrate sulla **CATENA DEL POMODORO**, con svariate possibilità applicative:

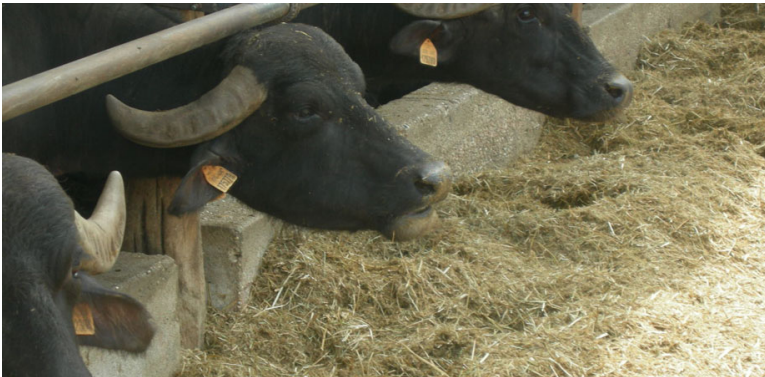
- estrarre **LICOPENE** per produrre semilavorati o preparati alimentari
- creare **MANGIMI BIOLOGICI** utilizzando gli scarti di lavorazione





Scopo dello studio

- Caratterizzazione del **MICROBIOTA** del tratto gastrointestinale **TGI** di bufale mediterranee
- Valutazione della variazione della comunità microbica del TGI in bufale alimentate con mangime addizionato di **bucchette e semi di pomodoro insilate**



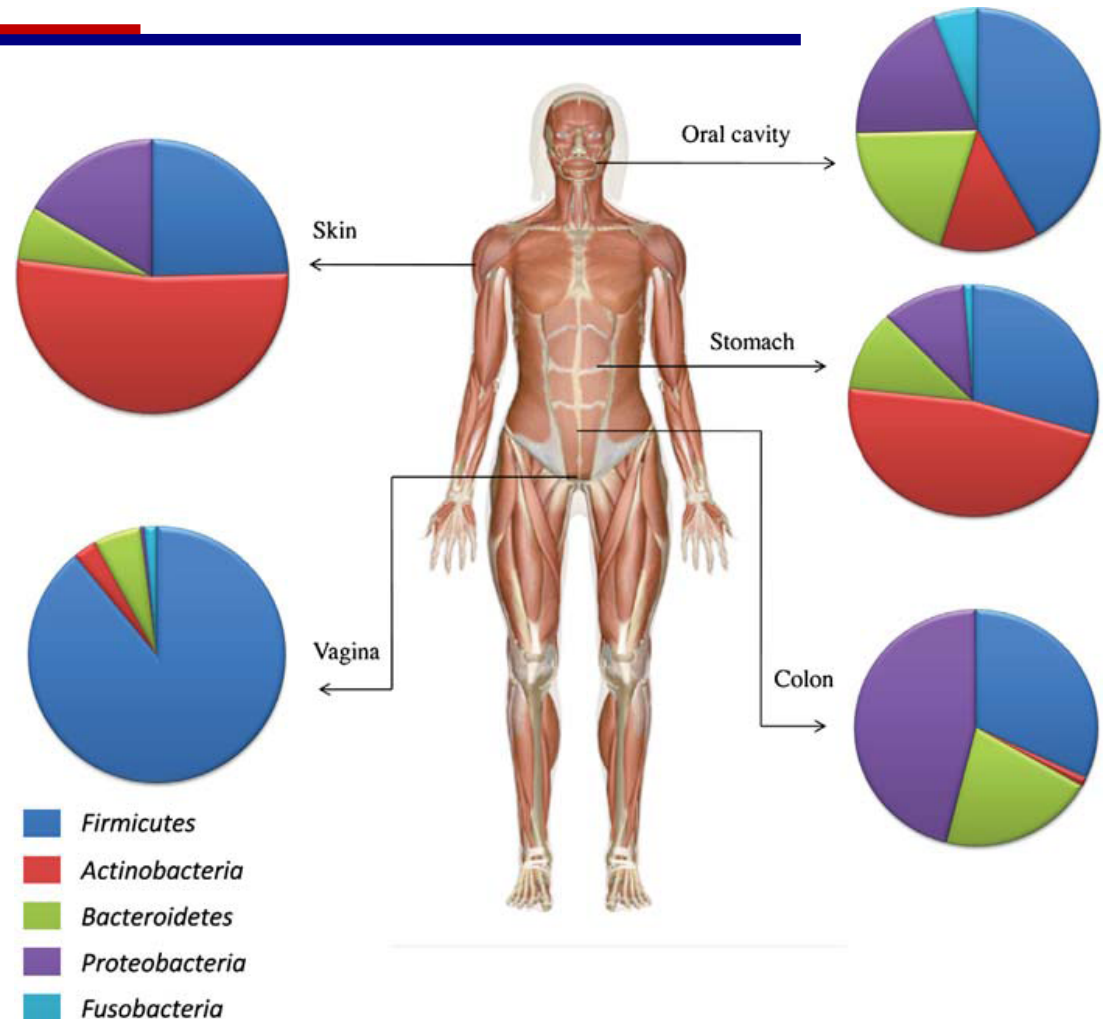


Microbiota

insieme delle specie
microbiche presenti in
una determinata
matrice/organo

Il **90% cellule** di uomo e
animali sono in realtà di
origine microbica

Solo l'**1% del DNA** presente
nell'organismo è **umano** o
animale, il rimanente **99%**
appartiene al microbioma

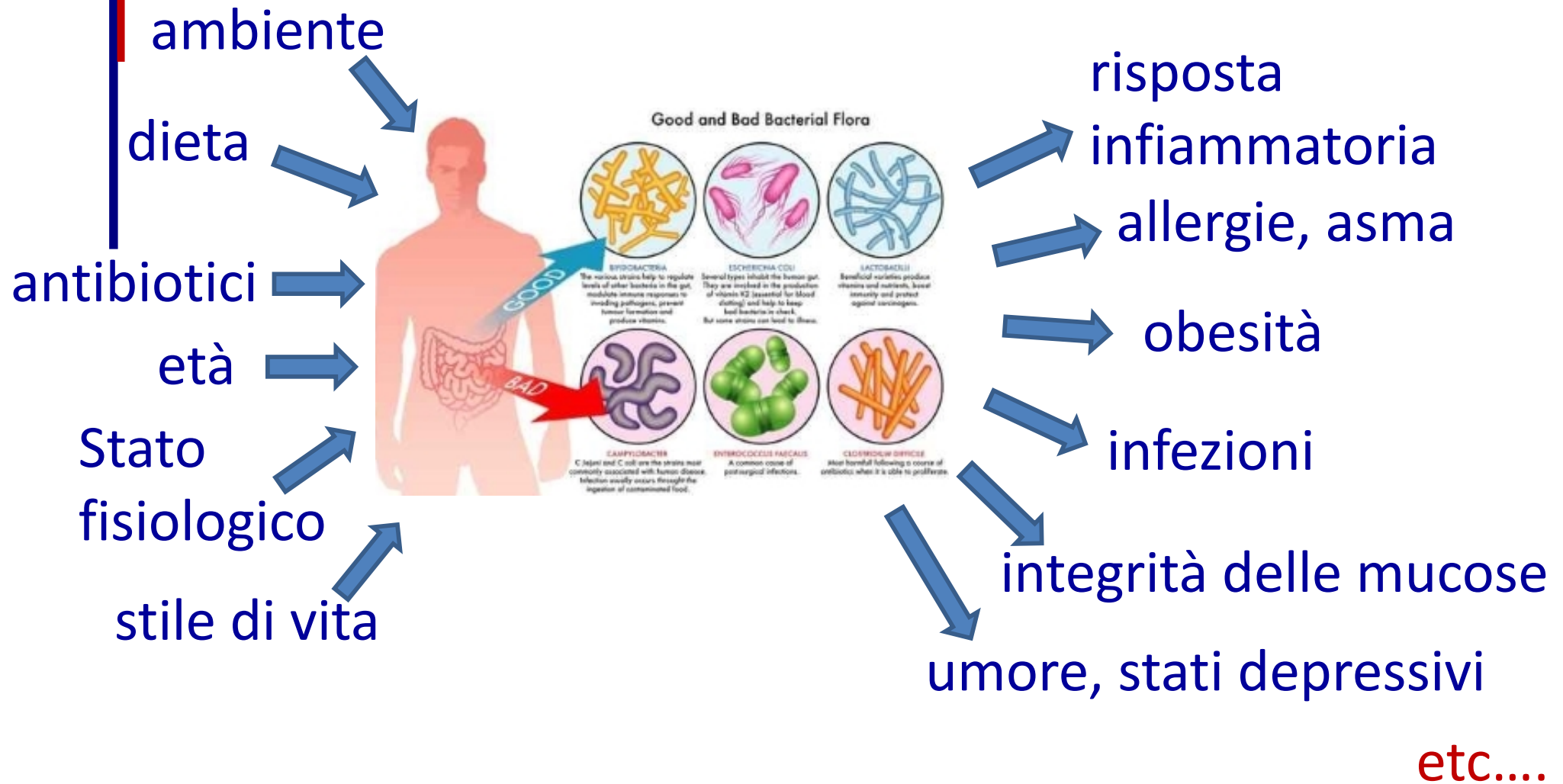


Nel tratto gastro-intestinale dell'uomo albergano da 30 a 400 trilioni di cellule microbiche (in un adulto di 70 kg. **il microbiota pesa 3,5 Kg!**), mentre il corpo umano è costituito complessivamente da 30-40 trilioni di cellule



Microbiota

SALUTE

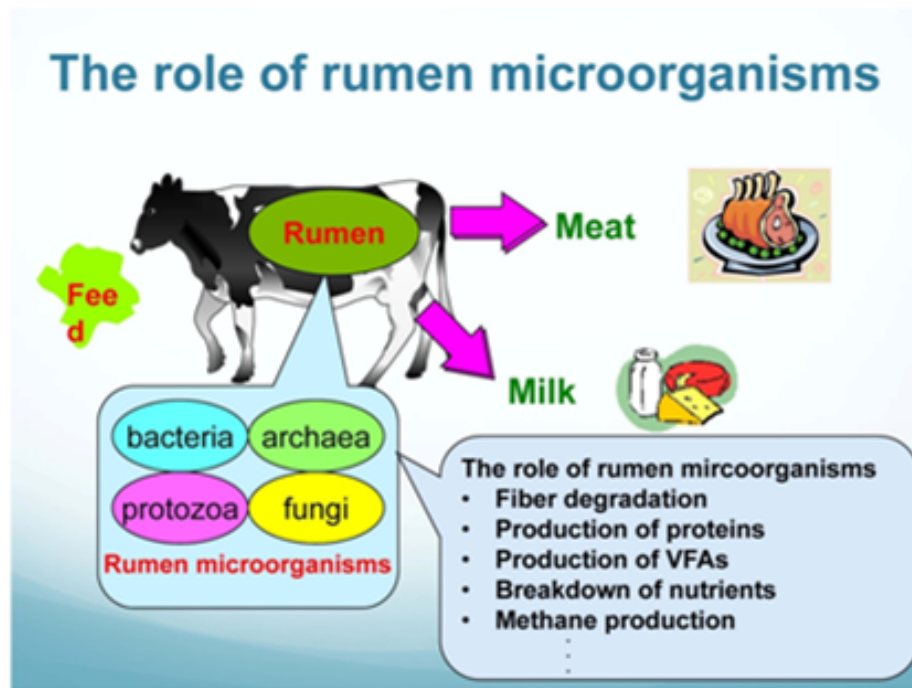




Microbiota Animale

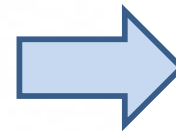
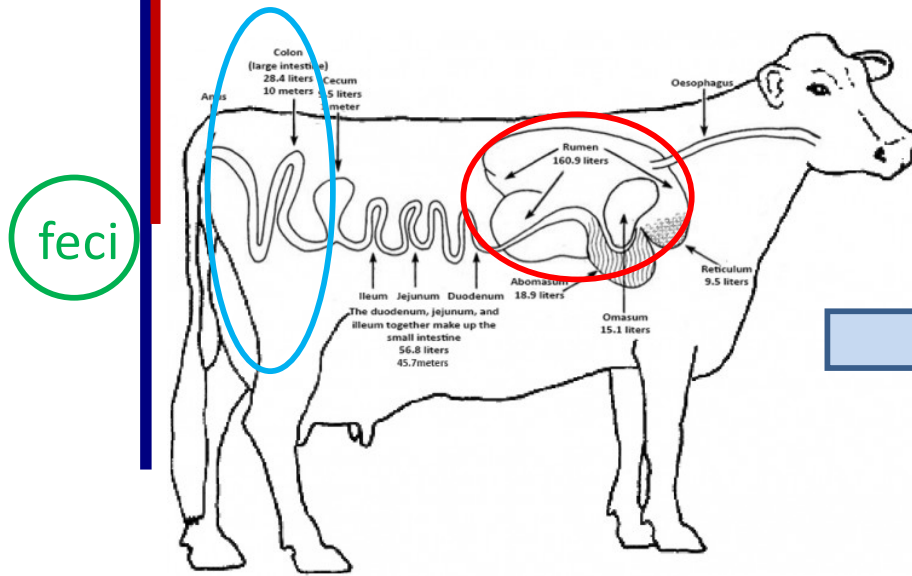


- Lo stato di salute
- Il benessere
- La fisiologia
- pH ruminale
- L'accrescimento
- La composizione del latte (tenore in grasso, in lattosio e proteine)
- la qualità della carne

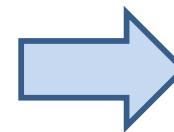




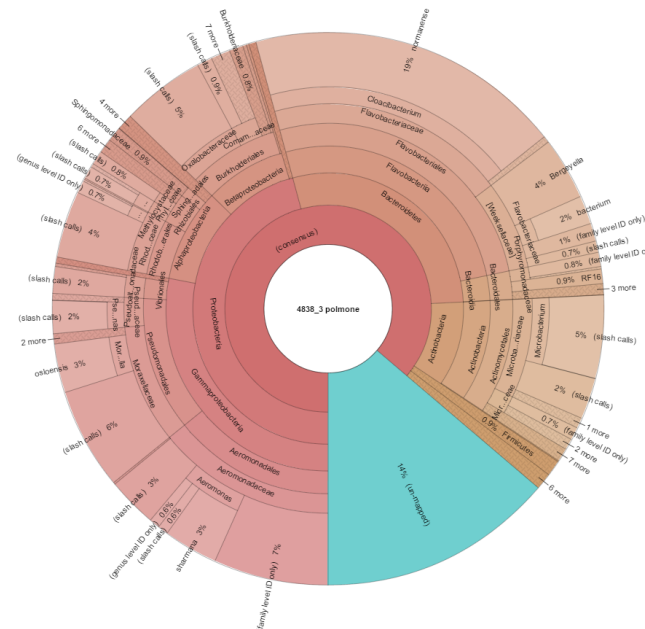
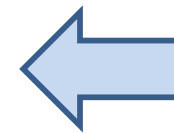
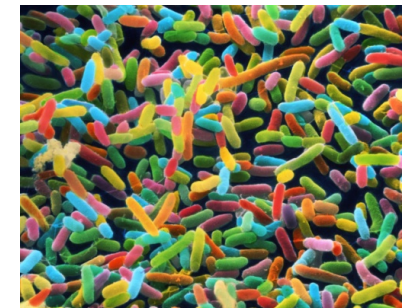
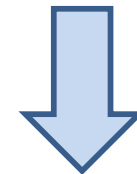
Next Generation Technology - 16S rRNA sequencing



Estrazione
DNA



Sequenziamento



Analisi tassonomica

Caratterizzazione
comunità microbica

Phylum – classe – ordine –
famiglia – genere – specie

Definizione di OTUs
(Operational Taxonomic
Units)

Flusso operativo dello studio



Campionamento

Due gruppi di bufale (n=10) omogenei per produzione, età, distanza dal parto



TRATTATI

15 kg insilato buccette
15 kg trebbie di birre
4 kg farinaccio
2 kg fieno erba medica
4 kg fieno di loietto

CONTROLLI

17 kg insilato mais
6 kg insilato tritcale
5.5 kg mangime
3 kg fieno
1.6 kg soia
120 g carbonato calcio
50 g fertiplus
40 g sale 1:3

3 settimane adattamento
+
3 settimane dieta

Prove di
digeribilità
in vivo e in vitro



Digeribilità
ottimale
Buon apporto
di **fibra, grassi**
e **proteine**





NGS – alpha diversity

7'560 '618 sequenze di alta qualità

OTUs rilevate nei tratti del TGI

α diversity: diversità di OTUs
rinvenute **all'interno del campione**

Regione	OTUs	Chao1	Shannon	
rumine	721.7 $\pm$ 80	1099.7 $\pm$ 110	8.0 $\pm$ 0.6	***
grosso intestino	553.1 $\pm$ 178	928.4 $\pm$ 275	6.8 $\pm$ 1.6	
feci	632.4 $\pm$ 102	1052.8 $\pm$ 173	7.5 $\pm$ 0.7	

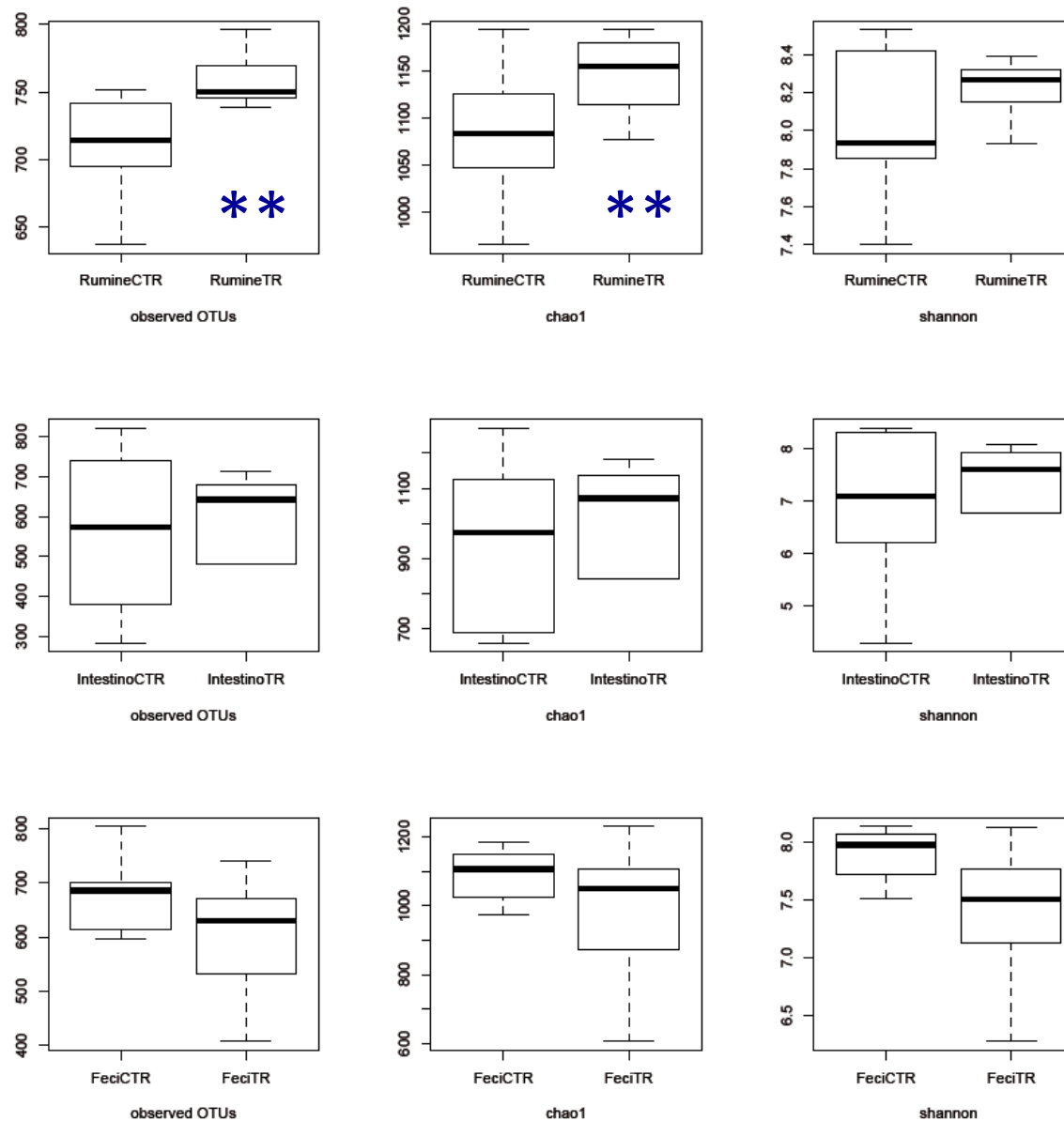


↓
**ricchezza e
abbondanza di
OTUs diverse**

↓
**variabilità e
frequenza di
OTUs diverse**



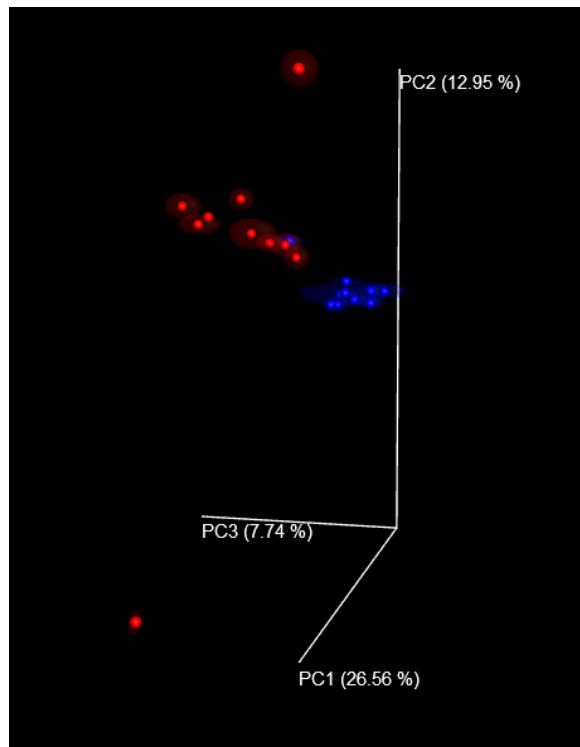
NGS – alpha diversity



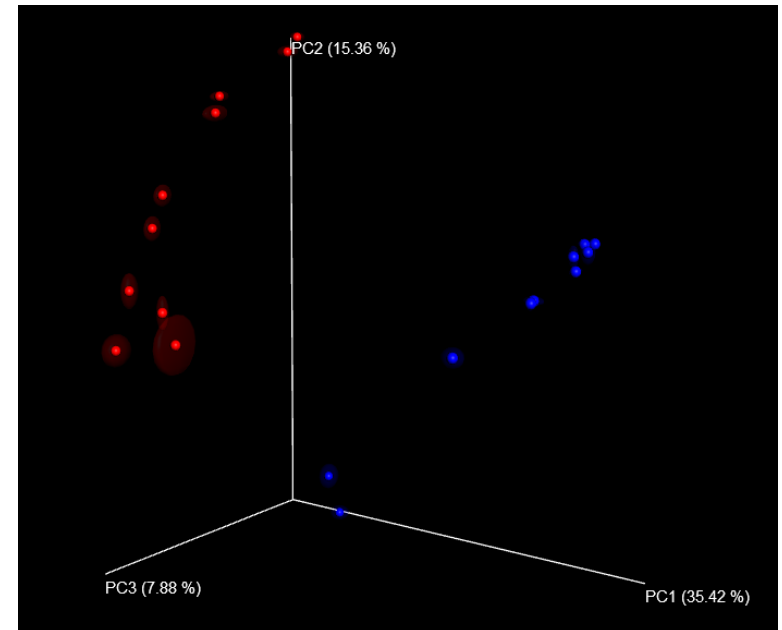


NGS – beta diversity - PCoA

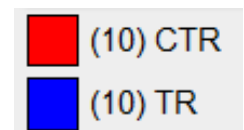
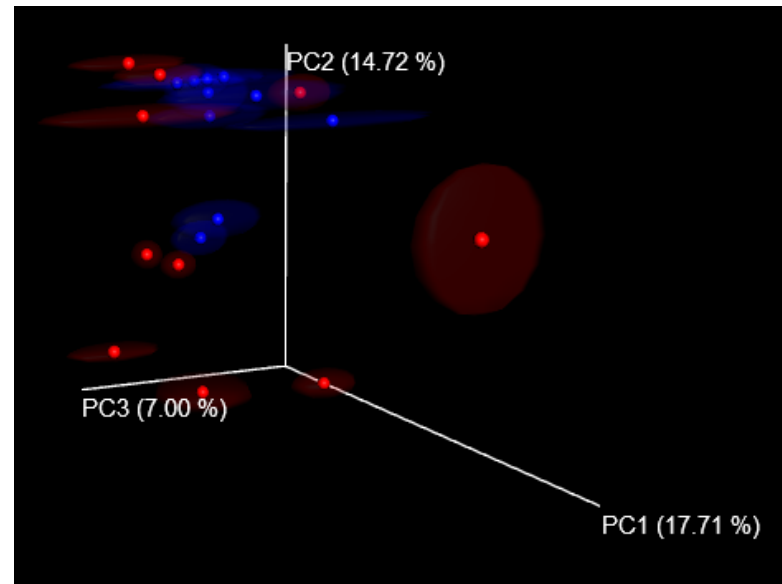
RUMINE



INTESTINO



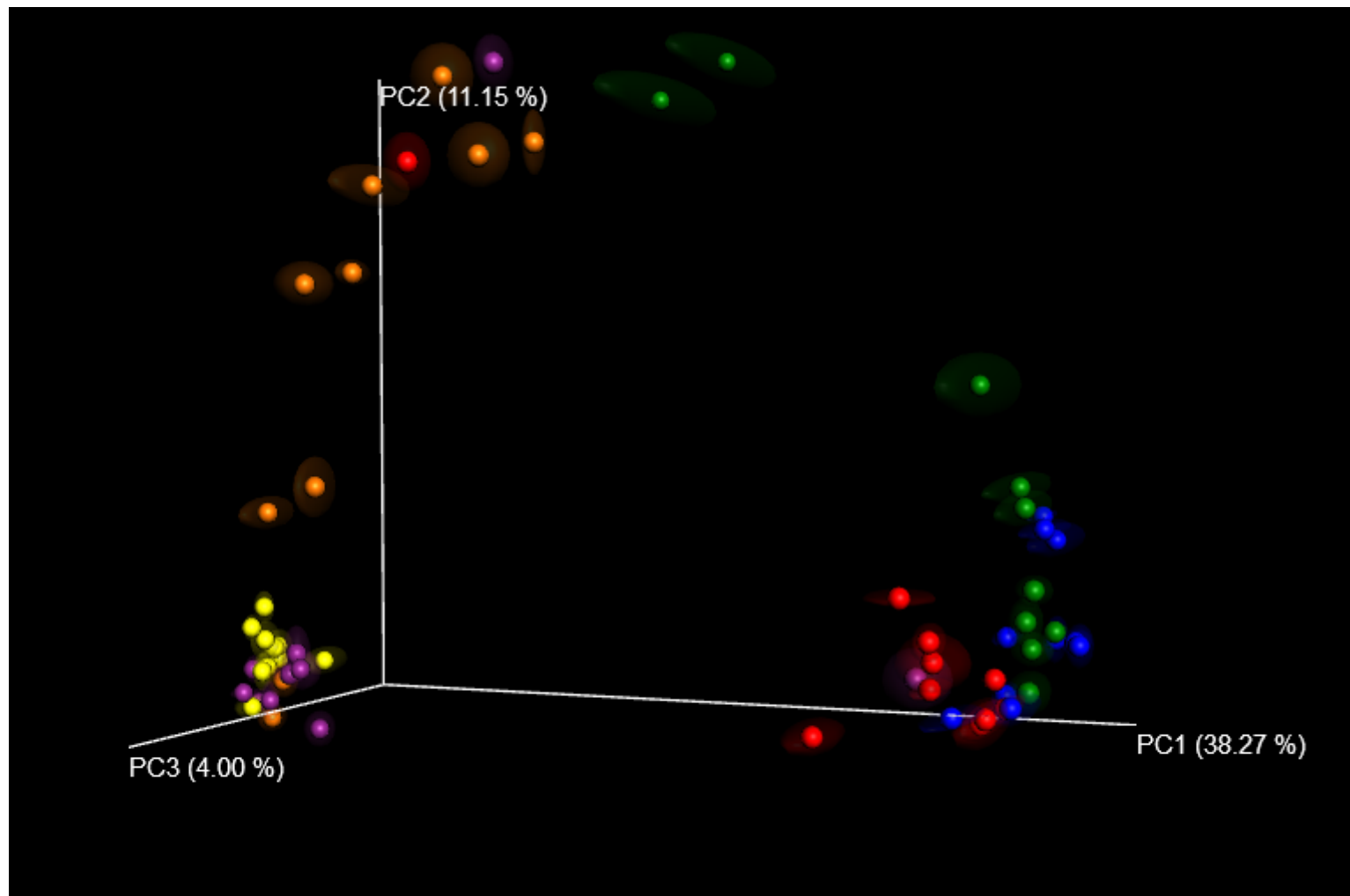
FECI



β diversity: diversità di OTUs rinvenute tra i campioni



NGS – beta diversity - PCoA



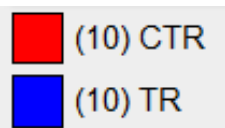
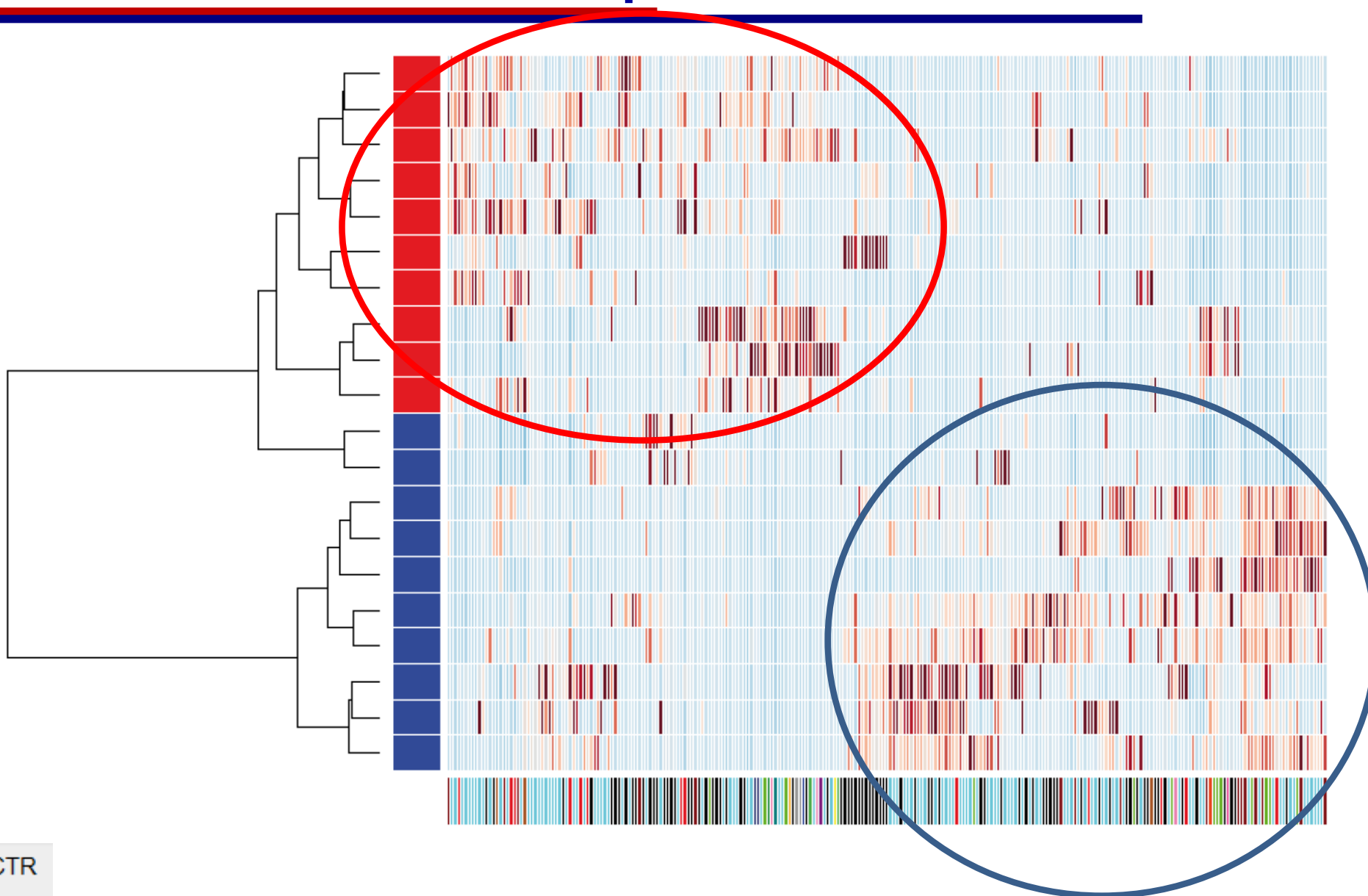
(10) RumineCTR
(10) RumineTR

(10) IntestinoCTR
(10) IntestinoTR

(10) FeciCTR
(10) FeciTR

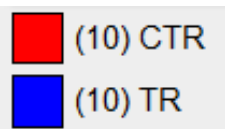
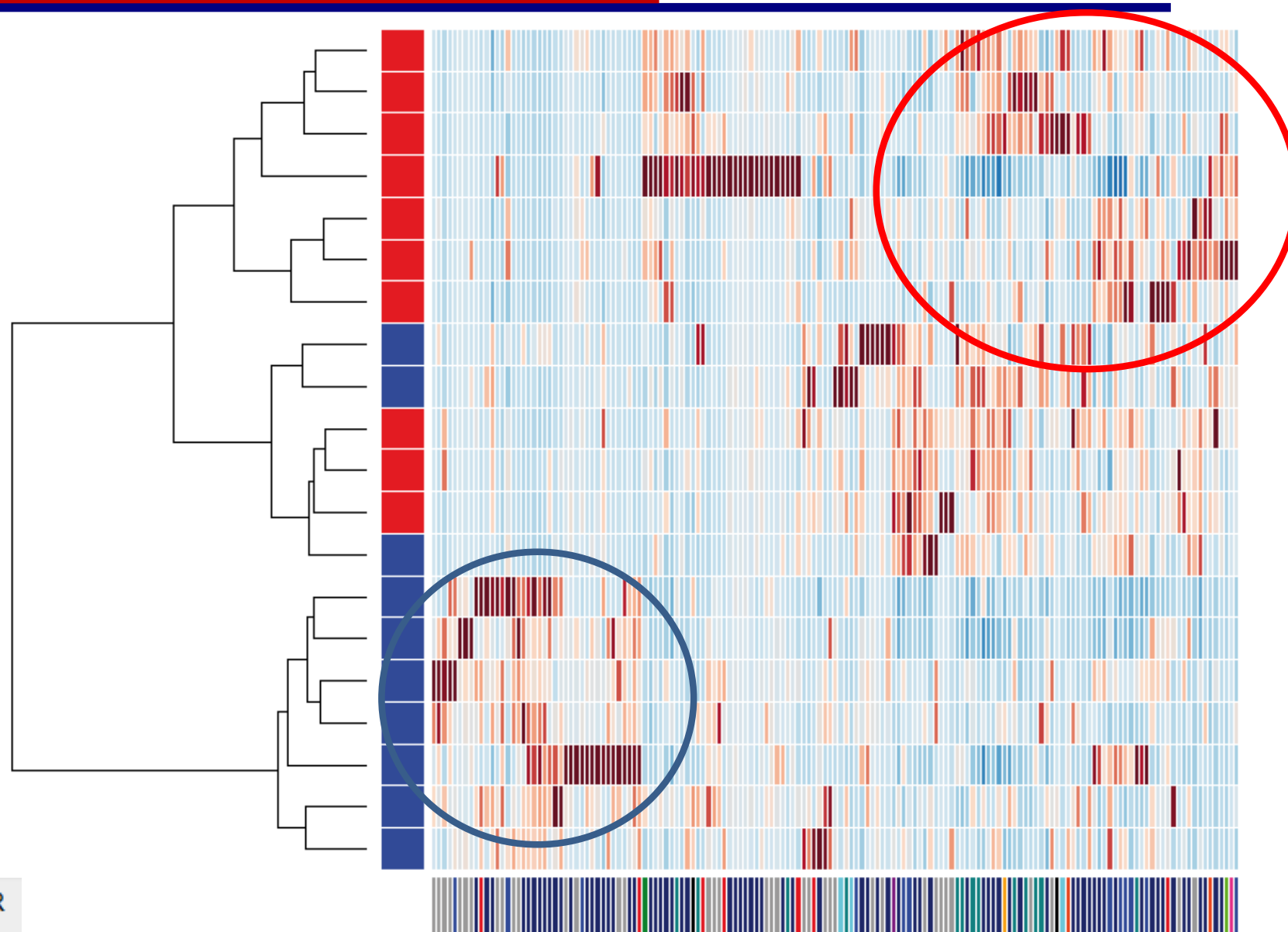


Heat Map - intestino



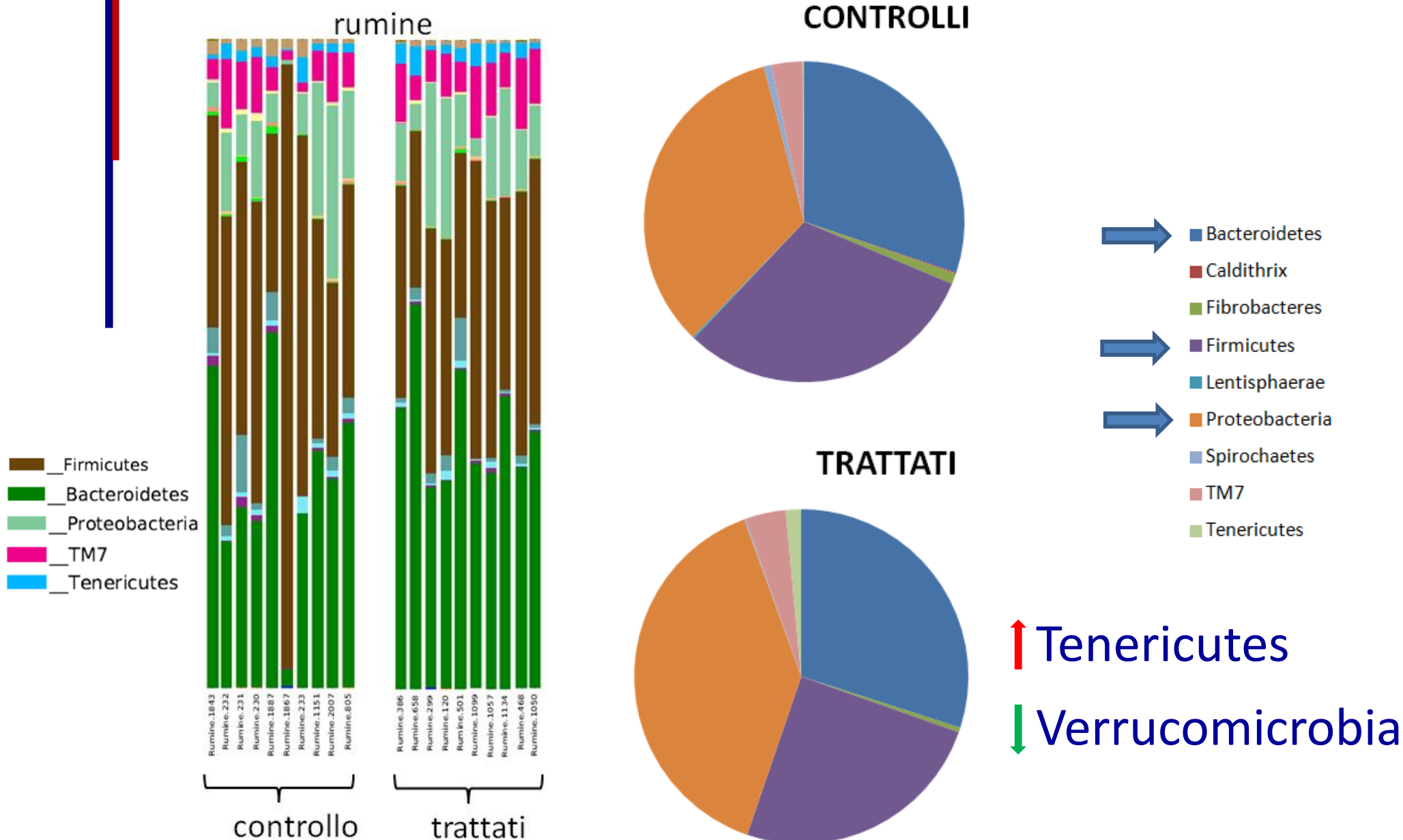


Heat Map - feci



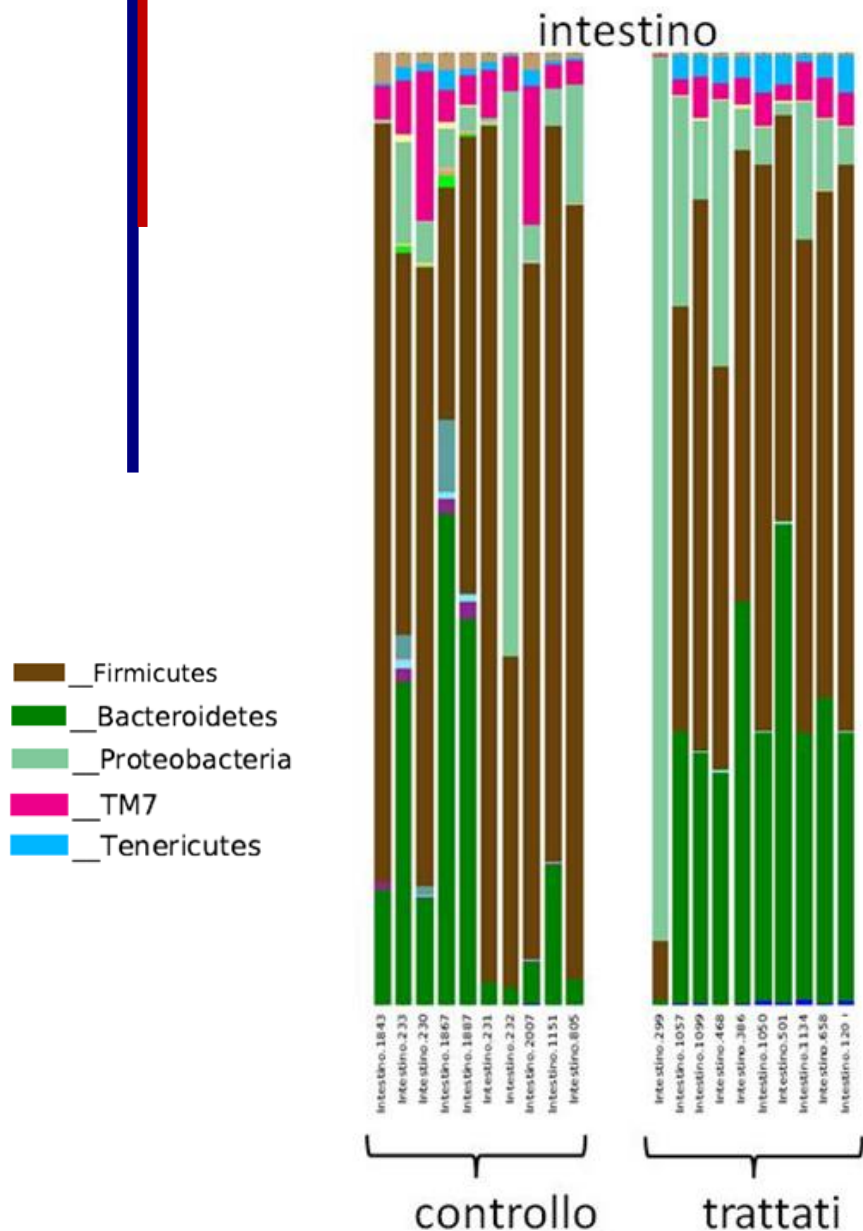


NGS – beta diversity - Phyla





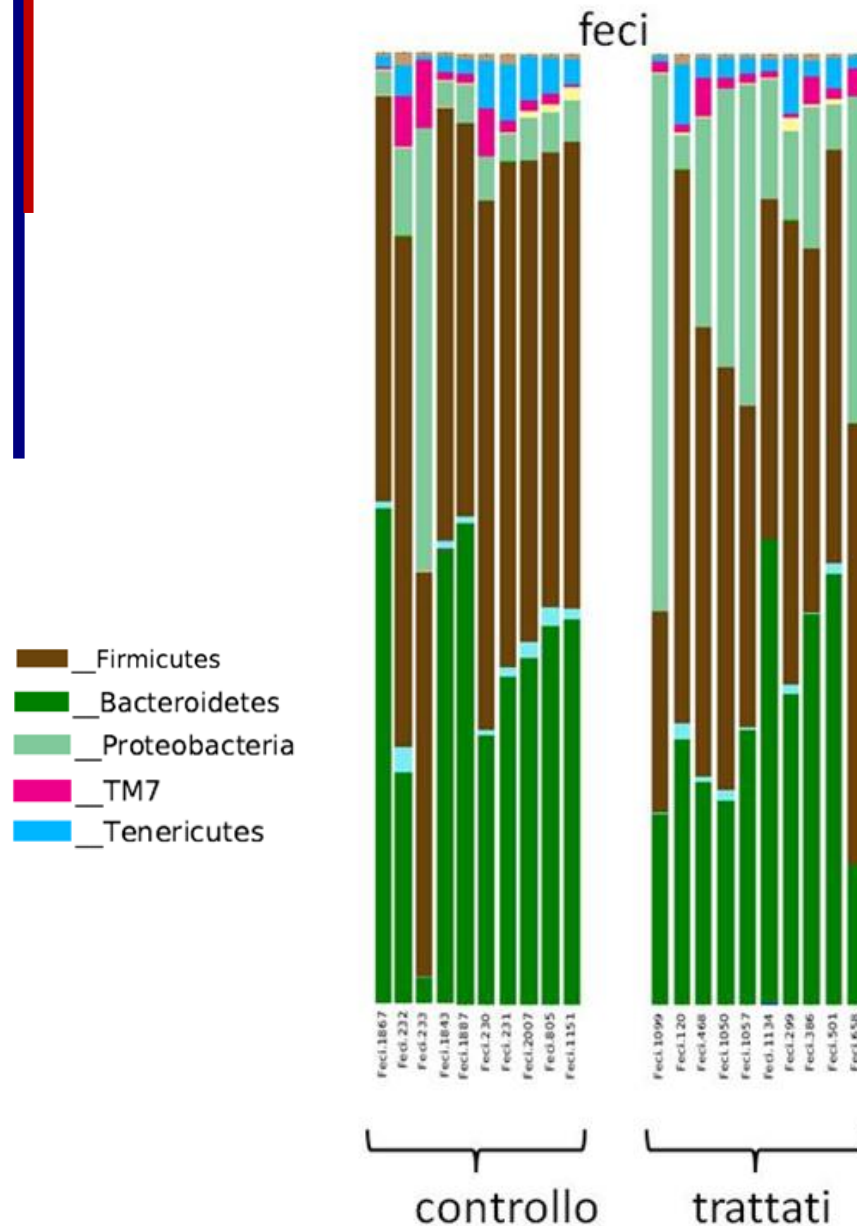
NGS – beta diversity - Phyla



TRATTATI	<i>P</i> value
↓ CHLAMYDIAE	0.016
↓ FIRMICUTES	0.047
↓ TM7	0.045



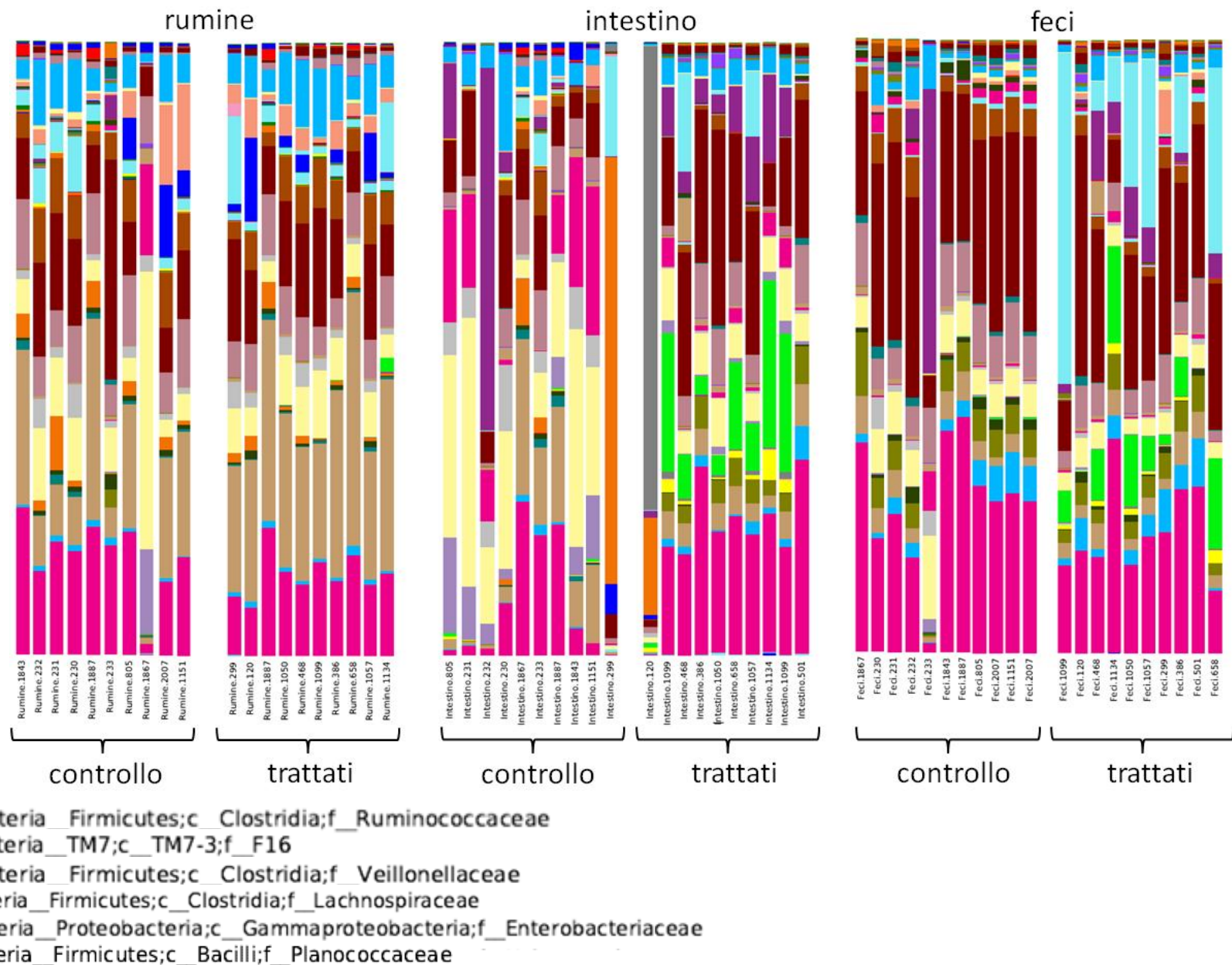
NGS – beta diversity - Phyla



No differenze
significative



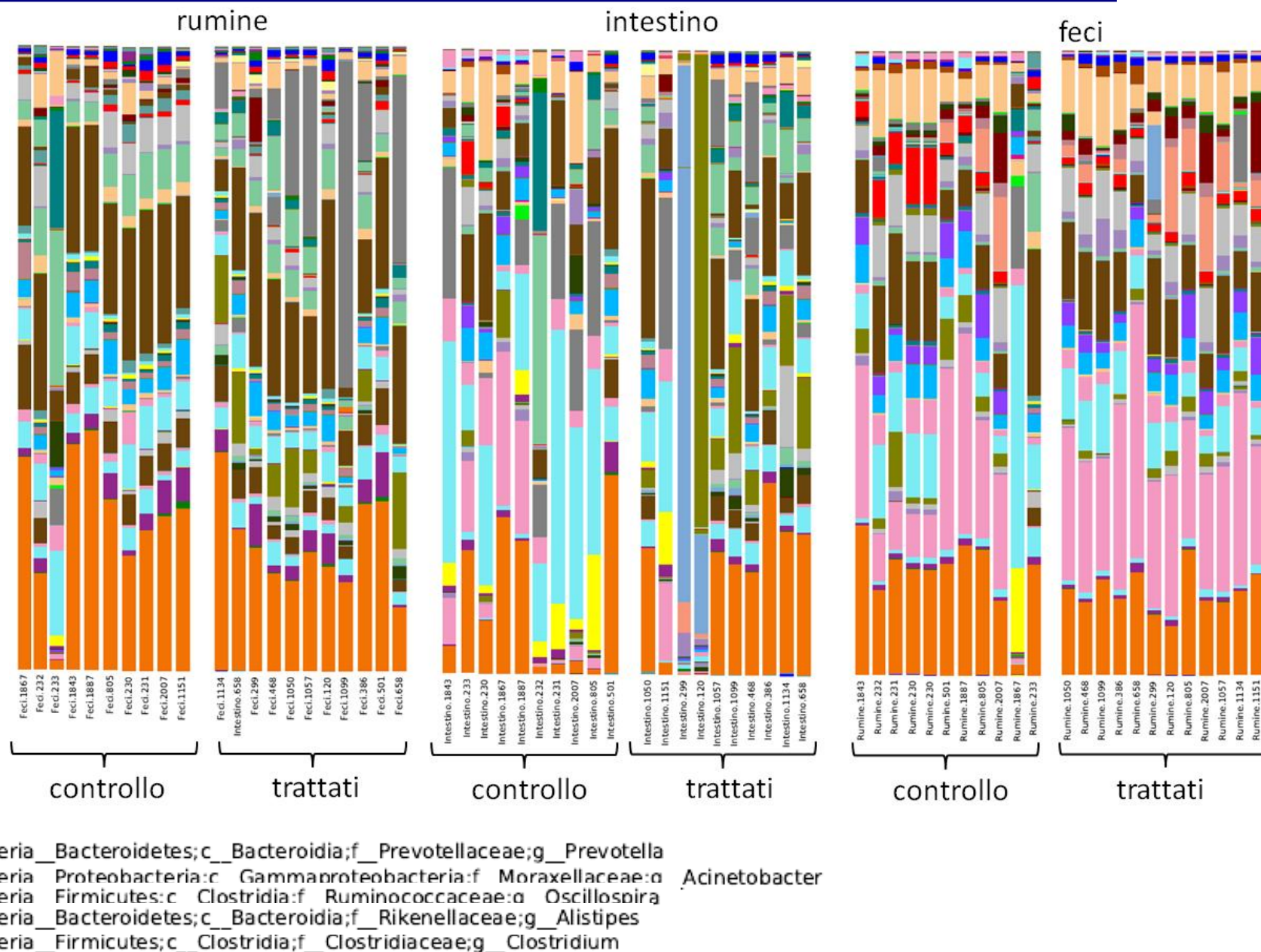
NGS – beta diversity - famiglie



Variabilità e abbondanza delle specie microbiche nel TGI bufalino



NGS – beta diversity - generi



Variabilità e abbondanza delle specie microbiche nel TGI bufalino



NGS – beta diversity - generi

	TRATTATI	<i>P</i> value
RUMINE	↑ PREVOTELLA ↑ EUBACTERIUM ↑ RUMINOCOCCUS ↓ BUTYRIVIBRIO	0.0069 0.0239 0.0140 0.00023
INTESTINO	44 GENERI (freq. >2%)	< 0.05
INTESTINO	↓ PREVOTELLA ↓ TURICIBACTER ↓ CLOSTRIDIUM	0.0087 0.0188 0.0077
FECI	22 GENERI (freq >2%)	< 0.05
FECI	↓ VEILLONELLACEAE	0.0133

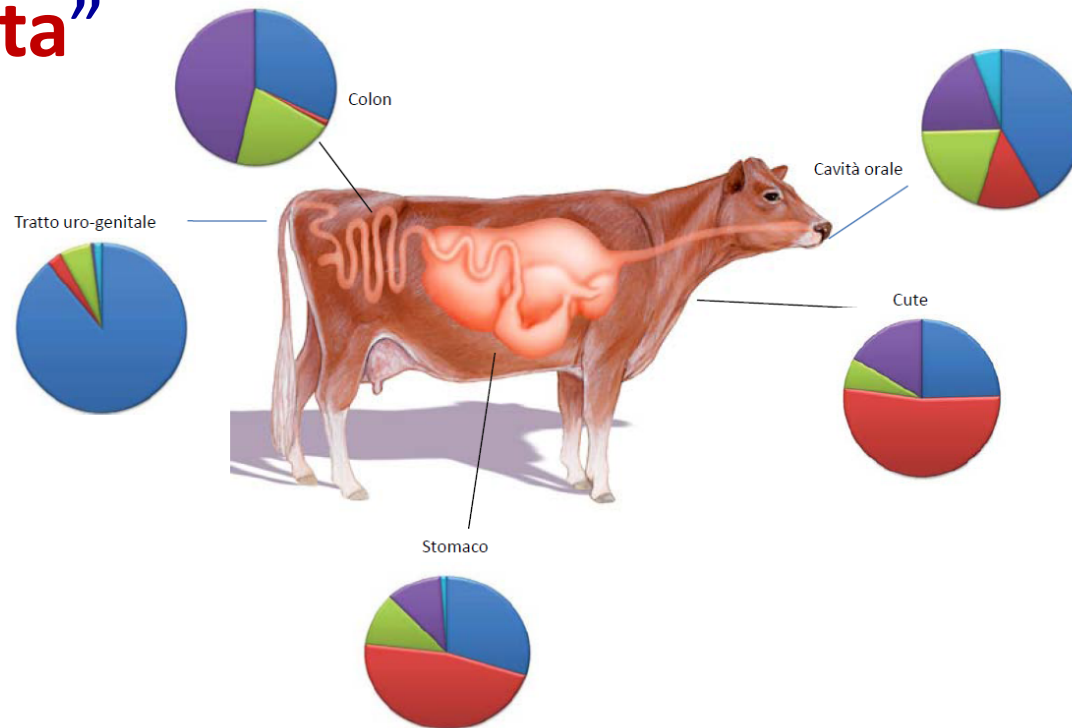


Complessità del microbiota

- Le comunità batteriche del TGI bufalino appaiono costituite da un **“core microbiota”**



Essenziale per la fisiologia animale

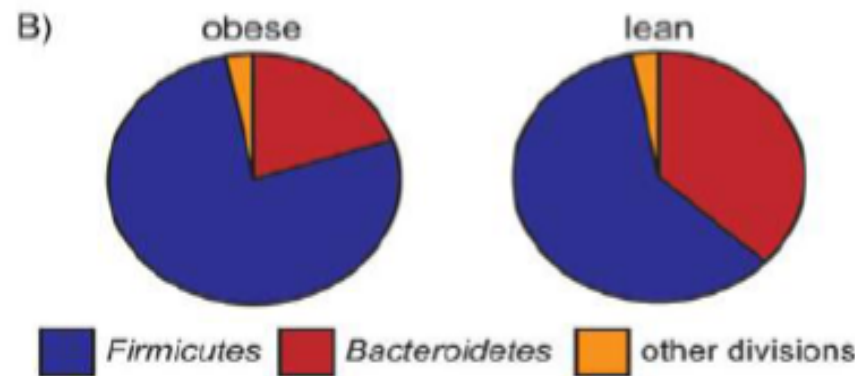


- L'alimentazione influenza l'**abbondanza** e la **tipologia** delle OTUs che costituiscono il microbiota del TGI



Complessità del microbiota

- Il rapporto **Firmicutes:Bacteroidetes** è stato correlato all'**obesità** nell'uomo e al **tenore in grassi** del latte in bovini





Complessità del microbiota

- *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* e *Clostridiaceae* contribuiscono alla **fermentazione** del mangime anche nel grosso intestino
- ***Prevotella*** ha un'azione benefica per la **funzionalità** del rumine; correlata alla produzione e alla % **grassi** nel latte; può influenzare sull'attecchimento di **probiotici** (*Lactobacillus* e *Bifidobacterium*)



Complessità del microbiota

- *Faecalibacterium* è stato direttamente collegato all'**accrescimento ponderale** e alla protezione da patogeni
- *Butyrivibrio* e *Pseudobutyrvibrio* importanti per la produzione di **butirrato** (mucose, risposta infiammatoria, azione anticancerogena, assimilazione nutrienti)



Conclusioni

Gli studi sul microbiota sono in continuo aumento e possono rappresentare utili **strumenti applicativi** per la definizione di protocolli nutrizionali in grado di influenzare lo stato di **salute**, di **benessere** e la **produttività** degli animali da reddito



Grazie per l'attenzione

