

# EFFETTO DELLA SOMMINISTRAZIONE DI ANTIBIOTICI SULLA FLORA BATTERICA FECALE IN SUINETTI SVEZZATI AFFETTI DA SINDROME DI DEPERIMENTO

## *EFFECT OF ANTIBIOTICS' ADMINISTRATION ON FAECAL MICROFLORA IN WEANLING PIGS AFFECTED BY A WASTING SYNDROME*

CANDOTTI, P., MERIALDI, G., GUERRA, O., NASSUATO, C., ROTA NODARI, S.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna  
"B. Ubertini", Brescia, Italia*

**Parole chiave:** suino, svezzamento, carica batterica fecale, antibiotici, mangimi medicati.  
**Key words:** pig, weaning, faecal bacterial count, antibiotics, medicated feeds.

### **Riassunto:**

Lo studio è stato condotto in 11 allevamenti di suini in cui gli animali presentavano nel settore svezzamento sintomi di malattia clinicamente riferibile a sindrome del deperimento progressivo multisistemico post-svezzamento del suino (PMWS). In ciascun allevamento sono stati prelevati campioni di materiale fecale da 10 animali affetti dai segni clinici tipici della malattia. Sui campioni di feci è stata eseguita in campo un'analisi visiva della consistenza e della qualità e in laboratorio una quantificazione delle componenti batteriche fecali (carica batterica totale, streptococchi fecali, coliformi fecali, *Escherichia coli*) valutando se la somministrazione orale di antibiotici (amoxicillina e/o colistina) avesse influenzato tali parametri.

Rispetto ai valori riportati in letteratura in soggetti sani, sono stati rilevati livelli di coliformi tendenzialmente maggiori, mentre la carica batterica totale rientrava nei limiti citati.

Non sono risultate associazioni statisticamente significative tra i parametri indagati e il trattamento.

### **Abstract:**

A survey was performed in eleven pig farms with a post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). In each farm faecal samples were collected from 10 weaner pigs with clinical signs of the disease. A visual examination of faecal samples was performed on farm and different bacterial counts (total bacterial count, faecal streptococci, faecal coliforms and *Escherichia coli*) were determined in laboratory. The effect of orally administered antibiotics (amoxicillin and/or colistin) on these parameters was studied as well.

Compared with data in literature, coliforms were tendentially higher while total bacterial counts were into ranges reported.

Antibiotics did not significantly affect the bacterial counts examined.

### **INTRODUZIONE**

L'apparato gastrointestinale degli animali vertebrati ospita una numerosa, dinamica ed eterogenea popolazione microbica non patogena in cui sono rappresentati tutti i principali gruppi di microrganismi, principalmente batteri, soprattutto Gram positivi (Savage, 1977; Mackie et al., 1999).

Nei suini si ritiene sia presente una concentrazione pari a  $10^9$  batteri per grammo di contenuto

nell'intestino tenue e fino a  $10^{11}$  nel grosso intestino (cieco e colon) (Smith et al., 1963; Gaskins et al., 2002). I principali generi rappresentati comprendono *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Selenomonas*, *Clostridium* e *Escherichia* (Konstantinov et al., 2004; Moore et al. 1987; Salanitro et al., 1977; Smith et al., 1963).

La popolazione microbica gastrointestinale svolge un ruolo complesso e importante nella nutrizione e nella crescita degli animali, che non è stato ancora completamente chiarito (Dibner et al. 2002; Jensen, 1998; Zoetendal et al., 2004). Si ritiene che la microflora enterica eserciti una forte influenza su processi immunologici, nutrizionali e fisiologici e che il suo equilibrio sia fondamentale per il benessere dell'intestino e quindi dell'ospite (Hillman, 2004; Salminen et al., 1998; Savage, 1977; Umesaki et al., 2000), ma che possa anche avere effetti negativi sull'accrescimento degli animali da reddito a causa della competizione con l'ospite per i nutrienti, della produzione di metaboliti tossici e dell'aumentata attività secretoria necessaria per la produzione di muco, in particolare a livello di intestino tenue (Collier et al., 2003; Kelly et al., 2001).

L'evolversi delle diverse popolazioni batteriche è condizionato da svariati fattori tra cui componenti ambientali e alimentari e variazioni fisiologiche nell'ospite (Hillman, 2004; Savage, 1977; Mackie et al., 1999; Konstantinov et al., 2004). Negli animali da reddito l'equilibrio della microflora intestinale e i suoi effetti sulla digeribilità e sulle performance vengono in parte regolati mediante l'utilizzo di basse dosi di antibiotici (Dibner et al., 2002; Gaskins et al., 2002; Jensen, 1998; Serratoso et al., 2006), la cui azione antimicrobica porta a una migliore assimilazione di proteine ed energia (Dibner et al., 2002; Gaskins et al., 2002).

È stato ampiamente dimostrato che nel periodo immediatamente successivo allo svezzamento si verificano modificazioni significative nella composizione della popolazione microbica intestinale (Konstantinov et al., 2006). Un trattamento antibiotico in questa fase, critica per l'apparato gastroenterico del suinetto che deve adattarsi a una dieta di composizione fisica e chimica diversa, meno digeribile e biodisponibile (Melin et al., 1997; Pluske, 2001), può favorire uno squilibrio del complesso ecosistema microbico, con aumento di popolazioni potenzialmente patogene (Hillman, 2004; Konstantinov et al., 2006; Savage, 1977) o indebolimento della risposta immunitaria dell'ospite (Collier et al., 2003; Kelly et al., 2001).

Una migliore comprensione del ruolo della microflora gastrointestinale permetterebbe di regolarne gli effetti su nutrizione, crescita, salute e malattie. Misurazioni dirette della componente microbica enterica possono essere eseguite solo dopo la morte dell'ospite, che è seguita peraltro da rapide modificazioni nel tratto alimentare e nella sua microflora. Ciò rende necessario, per realizzare studi attendibili, ricorrere ad animali vivi, appositamente sacrificati e immediatamente esaminati (Smith et al., 1963). Una valida alternativa è costituita dalla determinazione delle cariche microbiche fecali, che si ritiene siano sufficientemente indicative della popolazione microbica di cieco e colon (Fuller et al., 1960; Hillman, 2004; Savage, 1977; Willingale et al., 1955) e consentano di valutare l'equilibrio dei principali gruppi batterici della flora commensale intestinale (Hillman, 2004).

L'utilizzo di antibiotici addizionati ai mangimi è una pratica comune negli allevamenti suinicoli (Cromwell G.L., 2002; Jensen, 1998; Casappa et al., 2007) per il trattamento profilattico e terapeutico di diverse malattie (Bosi et al., 2009; Casappa et al., 2007). Tra i principi maggiormente utilizzati in fase di svezzamento, in forma singola o associata, sono colistina, tetracicline, ampicillina e amoxicillina, principalmente per il controllo di forme enteriche e respiratorie (Gervasi, 1998).

Colistina e amoxicillina sono risultati gli antibiotici più utilizzati anche nelle aziende incluse in questo studio. L'uso molto diffuso è uno dei motivi per cui il lavoro è stato focalizzato su queste due sostanze. Inoltre entrambe esplicano azione battericida, portando a degradazione della parete dei batteri Gram negativi e al rilascio di lipopolisaccaridi

(LPS) nell'ambiente in cui i batteri si trovano.

La sindrome del deperimento progressivo multisistemico post-svezzamento del suino (*Post Weaning Multisystemic Wasting Syndrome*) è una patologia con elevato impatto sanitario ed economico, ormai diffusa in tutto il mondo. La diarrea, ritenuta tra le prime cause di perdite economiche nel settore svezzamento (Konstantinov et al., 2006), è uno dei sintomi più comuni, alla base della diagnosi clinica di PMWS insieme a deperimento, aumento dei linfonodi inguinali, pallore, ittero (Harding, 2000; Harding, 2004). Sebbene generalmente non rilevabili tutte in un singolo animale, le sei manifestazioni più caratteristiche della malattia sono tutte presenti in un'azienda clinicamente infetta (Harding, 2000; Harding, 2004).

L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare la presenza di diarrea e le cariche microbiche fecali in suini con sintomatologia clinica di PMWS e l'impatto della somministrazione orale di antibiotici (amoxicillina e/o colistina) sulla composizione della microflora fecale.

## MATERIALI E METODI

### *Allevamenti e animali*

Per la prova sono stati selezionati animali appartenenti ad allevamenti clinicamente identificati come affetti da PMWS (allevamenti selezionati in seno al Progetto di Ricerca Corrente 16/2004).

All'interno di ciascun allevamento, sono stati selezionati 10 animali in fase di svezzamento, tra i 50 e i 105 giorni di vita, che clinicamente manifestassero i sintomi e i segni tipici della PMWS e non fossero affetti da altre patologie concomitanti. Da ogni singolo animale si è proceduto al campionamento di feci, attraverso defecazione spontanea o prelievo dall'ampolla rettale con guanto sterile monouso. I campioni fecali sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) fino alla processazione in laboratorio, che è avvenuta entro 24 ore dal prelievo.

### *Valutazione delle feci*

Le feci sono state raccolte singolarmente in un contenitore sterile trasparente. Dopo la raccolta le feci sono state esaminate visivamente ed è stato loro attribuito il seguente punteggio: 0: normali; 1: aumento della viscosità; 2: molli; 3: liquide; 4: acquose.

Sono state considerate diarroiche le feci con punteggio pari o superiore a 2. In tabella 1 è indicato, per ciascuna azienda, la percentuale di animali con feci diarroiche.

Tabella 1: Percentuale di diarrea rilevata per azienda  
Table 1: Percentage of diarrhoea per farm

allevamento	età animali	medicazione		feci diarroiche
		amoxicillina	colistina	
A	105	NO	NO	60%
B	50	NO	NO	10%
C	75	NO	NO	40%
D	65	NO	NO	50%
E	60	NO	NO	10%
F	67	SI	SI	50%
G	65	SI	SI	60%
H	83	SI	SI	40%
I	60	SI	SI	90%
L	70	NO	SI	30%
M	90	NO	SI	20%

### *Analisi di laboratorio*

Da ciascun campione di feci sono state realizzate diluizioni seriali da  $10^{-1}$  a  $10^{-8}$  in soluzione diluente di Ringer.

Sono stati utilizzati i seguenti terreni:

- Tryptone Glucose Yeast Agar (Plate Count Agar: PCA) per la determinazione della carica batterica totale (CBT),
- Kanamycin Aesculin Azide agar base (KAA) per la conta degli Streptococchi fecali (S.F.),
- Tryptone Bile-Glucuronid medium (TBX) per la conta dei coliformi fecali (C.F.) e di *Escherichia coli*,
- Agar sangue per la ricerca di ceppi emolitici di *E. coli*.

Le piastre di PCA, TBX e KAA sono state suddivise in quattro quadranti. Per ogni diluizione sono state pertanto utilizzate due piastre, che sono state poi allestite trasferendo con una micropipetta 20  $\mu$ l di ogni diluizione sul corrispondente quadrante di ciascun terreno. Quindi si lasciavano asciugare per circa 15 minuti a temperatura ambiente sotto cappa a flusso laminare.

I terreni PCA, KAA e Agar sangue sono stati incubati a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , il TBX è stato incubato a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ . Le piastre sono state incubate capovolte per 48 ore, a eccezione dell'agar sangue per il quale l'incubazione è stata di 24 ore. Al termine del previsto periodo di incubazione è stata presa in considerazione la diluizione che, seminata sulle piastre, aveva dato luogo alla crescita di colonie in quantità numerabile. Nella lettura delle piastre di KAA sono state conteggiate le colonie caratteristiche di S.F., tonde, di colore bianco-grigiastro, con diametro di circa 2 mm, circondate da un alone bruno-nerastro di almeno 1 cm di diametro. Nella lettura delle piastre di TBX venivano conteggiate tutte le colonie (C.F.) e la frazione delle stesse di colore blu/blu-verde (*E. coli*). Le colonie emolitiche cresciute su Agar sangue sono state testate mediante agglutinazione rapida su vetrino per individuare i ceppi k 88+.

La CBT, il numero di S.F. e il numero di C.F. per grammo di feci (N/g), sono stati calcolati usando la seguente formula:

$$N/g = n / D \times V$$

in cui n è il numero delle colonie contate, D è la diluizione decimale alla quale sono state contate le colonie, V è il volume dell'inoculo (20  $\mu$ l = 1/50 di millilitro).

Quando non c'è stata crescita batterica alla diluizione più bassa ( $10^{-1}$ ) il risultato è stato espresso come  $N/g = <500$ , valore che si ha in caso dello sviluppo di una sola colonia alla diluizione  $10^{-1}$ .

### *Analisi statistica*

L'effetto del trattamento con amoxicillina e/o colistina sui parametri di interesse (CBT, streptococchi fecali, coliformi fecali, *E. coli* e *E. coli* emolitico) è stato indagato mediante un'analisi della varianza per misure ripetute applicando un modello lineare a effetti misti con la variabile identificativa dell'allevamento come effetto random.

L'effetto del trattamento sulla consistenza delle feci è stato testato sia mediante un modello lineare sia mediante Kruskal Wallis rank sum test.

Sono stati considerati indicativi di significatività statistica valori di p-value inferiori a 0.05.

L'analisi statistica è stata effettuata con il software open-source R (versione 2.8.1).

## **RISULTATI**

I risultati delle analisi eseguite sono riportati in tabella 2. Gli esiti degli esami batteriologici sono espressi come media e deviazione standard (DS). I risultati sono suddivisi sulla base

dell'integrazione antibiotica (nessuna; colistina; colistina e amoxicillina) ricevuta nella settimana precedente al prelievo.

Tabella 2: Risultati dell'esame batteriologico fecale  
Table 2: Faecal bacterial counts

Azienda	Carica batterica totale (ufc/g)		Streptococchi fecali (ufc/g)		Coliformi fecali (ufc/g)		Escherichia coli (ufc/g)		E. coli emolitico	Diarrea
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS		
<b>Trattamento 1</b>										
<b>A</b>	3.25x10 <sup>11</sup>	1.03x10 <sup>12</sup>	1.79x10 <sup>4</sup>	3.06x10 <sup>4</sup>	1.30x10 <sup>11</sup>	4.11x10 <sup>11</sup>	1.30x10 <sup>11</sup>	4.11x10 <sup>11</sup>	20%	60%
<b>B</b>	1.14x10 <sup>9</sup>	1.09x10 <sup>9</sup>	5.00x10 <sup>2</sup>	0.00	6.12x10 <sup>7</sup>	1.23x10 <sup>8</sup>	5.96x10 <sup>7</sup>	1.24x10 <sup>8</sup>	0%	10%
<b>C</b>	2.13x10 <sup>9</sup>	6.11x10 <sup>9</sup>	4.54x10 <sup>5</sup>	1.42x10 <sup>6</sup>	8.09x10 <sup>8</sup>	2.35x10 <sup>9</sup>	5.44x10 <sup>7</sup>	1.40x10 <sup>8</sup>	20%	40%
<b>D</b>	5.31x10 <sup>8</sup>	1.09x10 <sup>9</sup>	5.95x10 <sup>3</sup>	1.55x10 <sup>4</sup>	7.50x10 <sup>6</sup>	1.69x10 <sup>7</sup>	7.50x10 <sup>6</sup>	1.69x10 <sup>7</sup>	0%	50%
<b>E</b>	1.23x10 <sup>8</sup>	1.30x10 <sup>8</sup>	1.20x10 <sup>4</sup>	1.35x10 <sup>4</sup>	1.01x10 <sup>7</sup>	3.16x10 <sup>7</sup>	5.00x10 <sup>2</sup>	0.00	0%	10%
<b>Trattamento 2</b>										
<b>F</b>	1.62x10 <sup>7</sup>	2.70x10 <sup>7</sup>	1.63x10 <sup>6</sup>	4.71x10 <sup>6</sup>	6.31x10 <sup>6</sup>	1.89x10 <sup>7</sup>	1.45x10 <sup>5</sup>	2.09x10 <sup>5</sup>	0%	50%
<b>G</b>	3.10x10 <sup>9</sup>	3.77x10 <sup>9</sup>	2.13x10 <sup>4</sup>	3.24x10 <sup>4</sup>	1.32x10 <sup>8</sup>	2.63x10 <sup>8</sup>	1.31x10 <sup>8</sup>	2.63x10 <sup>8</sup>	10%	60%
<b>H</b>	1.63x10 <sup>6</sup>	1.89x10 <sup>6</sup>	2.60x10 <sup>3</sup>	2.88x10 <sup>3</sup>	1.34x10 <sup>5</sup>	2.22x10 <sup>5</sup>	1.00x10 <sup>5</sup>	1.76x10 <sup>5</sup>	0%	40%
<b>I</b>	3.81x10 <sup>8</sup>	5.91x10 <sup>8</sup>	3.11x10 <sup>5</sup>	4.30x10 <sup>5</sup>	9.51x10 <sup>7</sup>	1.29x10 <sup>8</sup>	6.86x10 <sup>7</sup>	9.28x10 <sup>7</sup>	0%	90%
<b>Trattamento 3</b>										
<b>L</b>	3.48x10 <sup>7</sup>	3.92x10 <sup>7</sup>	2.28x10 <sup>4</sup>	4.08x10 <sup>4</sup>	5.38x10 <sup>6</sup>	1.07x10 <sup>7</sup>	1.86x10 <sup>6</sup>	2.61x10 <sup>6</sup>	0%	30%
<b>M</b>	1.71x10 <sup>9</sup>	4.67x10 <sup>9</sup>	1.56x10 <sup>6</sup>	4.73x10 <sup>6</sup>	4.17x10 <sup>8</sup>	1.26x10 <sup>9</sup>	4.17x10 <sup>8</sup>	1.26x10 <sup>9</sup>	0%	20%
<b>Totale</b>										
	<b>3.04x10<sup>10</sup></b>	<b>3.10x10<sup>11</sup></b>	<b>3.67x10<sup>5</sup></b>	<b>2.05x10<sup>6</sup></b>	<b>1.20x10<sup>10</sup></b>	<b>1.24x10<sup>11</sup></b>	<b>1.19x10<sup>10</sup></b>	<b>1.24x10<sup>11</sup></b>	<b>4.5%</b>	<b>39%</b>

**Legenda:** ufc/g = unità formanti colonia per grammo di feci

Trattamento 1= nessuna somministrazione di amoxicillina o colistina nella settimana precedente il prelievo

Trattamento 2= somministrazione sia di amoxicillina che di colistina nella settimana precedente il prelievo

Trattamento 3= somministrazione di colistina ma non di amoxicillina nella settimana precedente il prelievo

**Legend:** ufc/g = colony forming unit per gram of faeces

Treatment 1= neither amoxicillin nor colistin administered the week before sampling

Treatment 2= both amoxicillin and colistin administered the week before sampling

Treatment 3= colistin but not amoxicillin administered the week before sampling

In tre aziende è stata rilevata presenza di *E. coli* emolitico: in 2 suini nelle aziende A e C e in un solo animale nell'azienda G. *E. coli* K88 non è stato individuato in nessuno degli animali esaminati.

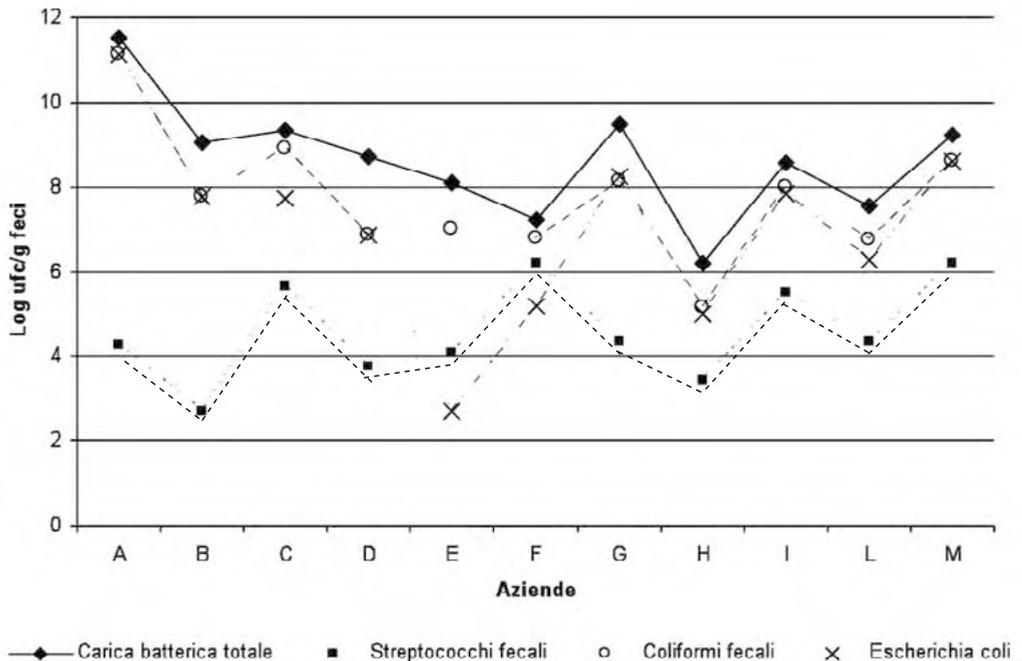
In tabella 3 sono sintetizzati i valori minimo e massimo rilevati per ciascuna delle componenti batteriche valutate.

Tabella 3: Valori minimo e massimo delle cariche batteriche misurate  
Table 3: Minimum and maximum values of faecal bacterial counts

	Carica batterica totale (ufc/g)	Streptococchi fecali (ufc/g)	Coliformi fecali (ufc/g)	<i>Escherichia coli</i> (ufc/g)
valore minimo	$1.63 \times 10^6 \pm 1.89 \times 10^6$	< 500	$1.34 \times 10^5 \pm 2.22 \times 10^5$	< 500
valore massimo	$3.25 \times 10^{11} \pm 1.03 \times 10^{12}$	$1.63 \times 10^6 \pm 4.71 \times 10^6$	$1.30 \times 10^{11} \pm 4.11 \times 10^{11}$	$1.30 \times 10^{11} \pm 4.11 \times 10^{11}$

Nel grafico 1 i risultati sono espressi come logaritmo in base 10 dei valori medi misurati.

Grafico 1: Valori medi delle cariche batteriche per azienda  
Figure 1: Mean values of faecal bacterial counts per farm



## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Non sono state evidenziate differenze statisticamente significative tra i gruppi di trattamento indagati per nessuno dei parametri studiati, ovvero il trattamento antibiotico orale o meno degli animali con colistina e/o amoxicillina non ha influenzato in modo significativo i parametri indagati. L'analisi statistica non ha evidenziato una correlazione tra il punteggio di diarrea attribuito visivamente e i parametri indagati in laboratorio. Tuttavia si evidenzia come il numero di coliformi, in gran parte rappresentati da *E. coli*, tende a essere più elevato di quanto ci si aspetterebbe in soggetti sani. Vari autori infatti hanno rilevato che gli elevati livelli di *E. coli*, clostridi e streptococchi (fino a  $10^8$ - $10^9$ ufc/g) che caratterizzano le feci dei suinetti nei primi giorni di vita (Konstantinov et al., 2006; Kvarnfors et al., 1972; Melin et al., 1997; Smith et al., 1963), diminuiscono progressivamente con l'età (Melin et al., 1997; Smith et al., 1961) e che dopo lo svezzamento si osserva una significativa riduzione degli anaerobi facoltativi, quali *E. coli* e streptococchi (Konstantinov et al., 2004; Melin et al., 1997; Savage, 1977). Melin et al. (1997) hanno osservato un calo di *E. coli* ed enterococchi in suinetti sani da  $10^8$ ufc/g di feci a 7 giorni di vita fino a  $10^5$  a 63 giorni. In particolare, il valore più elevato di coliformi ed *E. coli* ( $1.30 \times 10^{11}$ ufc/g) è stato registrato negli animali dell'azienda A, che sono quelli di età maggiore (105 giorni).

La differenza statisticamente significativa evidenziata dall'analisi tra le cariche batteriche misurate in funzione dell'allevamento conferma che la composizione della flora commensale intestinale è fortemente influenzata da molteplici fattori tra cui la carica batterica ambientale, la flora microbica materna e le scelte alimentari e manageriali che caratterizzano le diverse aziende. In una fase delicata come lo svezzamento, è importante tenere conto di tutti i fattori che possono influenzare l'equilibrio della microflora intestinale, compresi gli interventi profilattici e terapeutici volti a risolvere disturbi dell'apparato gastrointestinale dei suini.

## BIBLIOGRAFIA

Bosi P., Merialdi G., Bardasi L., Scandurra S., Vecchi M., Ferro P., Messori S., Nisi I., Casini L., Trevisi P. (2009) "Effetto della somministrazione di tre diversi antibiotici sull'ecologia intestinale e su alcuni parametri produttivi di suinetti in svezzamento: dati preliminari". in: "Atti della Società italiana di patologia ed allevamento dei suini - XXXV Meeting Annuale" Modena, 12-13 Marzo 2009, 219-228.

Casappa, P., Camoni C., Zanichelli, C. (2007) "Uso strategico della medicazione in suinicoltura: i mangimi medicati". Riv. Zoot. Vet. 37, 55-65.

Collier C.T., Smiricky-Tjardes M.R., Albin D.M., Wubben J.E., Gabert V.M., Deplancke B., Bane D., Anderson D.B.G., HR. (2003) "Molecular ecological analysis of porcine ileal microbiota responses to antimicrobial growth promoters". J. Anim. Sci. 81, 3035-3045.

Cromwell G.L. (2002) "Why and how antibiotics are used in swine production". Anim. Biotechnol. 13, 7-27.

Dibner J.J., Buttin P. (2002) "Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism". J. Appl. Poult. Res. 11, 453-463.

Fuller R., Newland L.G.M., Briggs C.A.E., Braude R., Mitchell K.G. (1960) "The normal intestinal flora of the pig. IV. the effect of dietary supplements of penicillin, chlortetracycline or copper sulphate on the faecal flora". J. Appl. Microbiol. 23, 195-205.

Gaskins H.R., Collier C.T., Anderson D.B. (2002) "Antibiotics as growth promotants: Mode of action". *Anim. Biotechnol.* 13, 29-42.

Gervasi E. (1998) "Mangimi medicati e allevamento intensivo". in: "Atti della Società italiana di patologia ed allevamento dei suini - XXIV Meeting annuale", 13-16.

Harding J.C.S. (2000) "Sindrome del deperimento progressivo post-svezzamento (PMWS). Aspetti clinici, epidemiologia e diagnosi". in: "Atti della Società italiana di patologia ed allevamento dei suini - XXVI Meeting annuale", 77-86.

Harding J.C.S. (2004) "The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2". *Vet. Microbiol.* 98, 131-135.

Hillman K. (2004) "Gut microbial ecology and quorum sensing". *Pig Journal.* 54, 171-178.

Jensen B.B. (1998) "The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs". *J. Anim. Feed Sci.* 7, 45-64.

Kelly D., King T.P. (2001) "Luminal bacteria: regulation of gut function and immunity" in: Piva A., Bach Knudsen K. E., Lindberg J. E. "Gut Environment of Pigs", Nottingham, UK, Nottingham University Press, 113-132.

Konstantinov S.R., Awati A.A., Williams B.A., Miller B.G., Jones P., Stokes C.R., Akkermans A.D.L., Smidt H., de Vos W.M. (2006) "Post-natal development of the porcine microbiota composition and activities". *Environ. Microbiol.* 8, 1191-1199.

Konstantinov S.R., Favier C.F., Zhu W.Y., Williams B.A., Klüß J., Souffrant W.B., de Vos W.M., Akkermans A.D.L., Smidt H. (2004) "Microbial diversity studies of the porcine gastrointestinal ecosystem during weaning transition". *Anim Res.* 53, 317-324.

Kvarnfors E., Mansson I. (1972) "The intestinal flora of pigs with special reference to clostridium perfringens". *Nord. Vet. Med.* 24, 567-576.

Mackie R.I., Sghir A., Gaskins H.R. (1999) "Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract". *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 1035S-1045S.

Melin L., Jensen-Waern M., Johannisson A., Ederoth M., Katouli M., Wallgren P. (1997) "Development of selected faecal microfloras and of phagocytic and killing capacity of neutrophils in young pigs". *Vet. Microbiol.* 54, 287-300.

Moore W.E., Moore L.V., Cato E.P., Wilkins T.D., Kornegay E.T. (1987) "Effect of high-fiber and high-oil diets on the fecal flora of swine". *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1638-1644.

Pluske J.R. (2001) "Morphological and functional changes in the small intestine of the newly-weaned pig". in: Piva A., Bach Knudsen K. E., Lindberg J. E. "Gut Environment of Pigs", Nottingham, UK, Nottingham University Press, 1-28.

Progetto di ricerca corrente IZSLER 16/2004 "Studio di determinanti virali e non virali (Ips sierici, citochine infiammatorie, componenti batteriche) nelle sindromi di deperimento del suino in corso di focolai spontanei". Responsabile scientifico: dott. Paolo Candotti.

- Salanitro J.P., Blake I.G., Muirhead P.A. (1977) "Isolation and identification of faecal bacteria from adult swine". *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 79-84.
- Salminen S., Ouwehand A.C., Isolauri E., (1998). "Clinical applications of probiotic bacteria" *Int. Dairy J.* 8, 563-572.
- Savage D.C. (1977) "Microbial ecology of the gastrointestinal tract". *Ann. Rev. Microbiol.* 31, 107-133.
- Serratosa J., Blass A., Rigau B., Mongrell B., Rigau T., Tortadès M., Tolosa E., Aguilar C., Ribó O., Balagué J. (2006) "Residues from veterinary medicinal products, growth promoters and performance enhancers in food-producing animals: a European Union perspective". *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 25, 637-650.
- Smith H.W., Crabb W.E. (1961) "The faecal bacterial flora of animals and man: Its development in the young". *J. Pathol. Bacteriol.* 82, 53-66.
- Smith H.W., Jones J.E. (1963) "Observations on the alimentary tract and its bacterial flora in healthy and diseased pigs". *J. Pathol. Bacteriol.* 86, 387-412.
- Umesaki Y., Setoyama H. (2000) "Structure of the intestinal flora responsible for development of the gut immune system in a rodent model". *Microb. Infect.* 2, 1343-1351.
- Willingale J.M., Briggs C.A.E. (1955) "The normal intestinal flora of the pig II: quantitative bacteriological studies". *J. Appl. Microbiol.* 18, 284-293.
- Zoetendal E.G., Collier C.T., Koike S., Mackie R.I., Gaskins H.R. (2004) "Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: A review". *J. Nutr.* 134, 465-472.