

***Lactobacillus acidophilus* D2/CSL (CECT 4529): storia, sicurezza, efficacia (1985-2016)**

La storia del ceppo *L. acidophilus* D2/CSL è analoga a quella di molti ceppi prodotti dal CSL. L'attività del CSL concerne infatti la ricerca, l'isolamento e la selezione dei ceppi di batteri lattici (LAB) dai loro habitat naturali (vegetali, animali, intestinali, ecc.). Una volta conclusa la fase di selezione (in vitro e in vivo), i ceppi LAB più promettenti per lo specifico utilizzo "in campo" vengono saggiati dal laboratorio pilota, cioè nuovamente selezionati in base alla loro capacità di essere replicati con successo in scala industriale. Normalmente, solo un ceppo su 4 pre-selezionati risulta anche idoneo alla produzione industriale. Tutti i ceppi sono comunque depositati nella "ceppoteca" del CSL e l'azienda, dal 1948 ad oggi, può vantare una raccolta di ben 4000 ceppi di batteri lattici.

La storia di *L. acidophilus* D2/CSL nasce nel 1984-85 (Bianchi Salvadori B. et al., 1985) con l'isolamento di 19 ceppi di lattobacilli (di cui 6 di *L. acidophilus*) dal tratto gastro-enterico del pollo "ruspante" adulto sano. Nella selezione preliminare *in vitro*, i ceppi di *L. acidophilus* sembrano essere i più promettenti per l'uso probiotico avicolo, soprattutto in virtù della velocità di acidificazione su terreno tipo "mangime per pollo" e della capacità di adesione all'epitelio dell'ingluvie in presenza di bile. Successive prove *in vivo* su broiler Hubbard hanno confermato la spiccata capacità delle specie *L. acidophilus* e *L. salivarius*, somministrate in forma di cellule fresche lavate, di colonizzare il tratto gastroenterico del pollo e di migliorare l'equilibrio del microbiota intestinale (Bianchi Salvadori B. et al., 1985). Infine, le prove al laboratorio pilota dei diversi lattobacilli intestinali hanno promosso *L. acidophilus* D2/CSL per le sue migliori performance in termini di massa cellulare vitale (UFC) raccolta dopo replicazione, centrifugazione e liofilizzazione. Così le cellule liofilizzate di *L. acidophilus* D2/CSL, prodotte a livello pilota, sono state sottoposte a nuovi test sperimentali in vivo, su ovaiole, broiler e tacchini, e commercializzate.

L. acidophilus D2/CSL è stato oggetto di numerose sperimentazioni scientifiche in vivo, alcune pubblicate, altre rese pubbliche attraverso convegni, altre ancora in attesa di pubblicazione. Nel complesso, il ceppo vanta un corposo bagaglio di prove di efficacia, specialmente su polli da carne e su galline ovaiole, con somministrazione in acqua o in mangime (Giardini A. et al., 1993; Giardini A. et al., 1994; Giardini A. et al., 1995; Gatto V., 2007; Gallazzi D. et al., 2008; Marelli S.P. et al., 2008; Cesari V. et al., 2012; Cesari V. et al., 2014; Forte C. et al., 2015; Forte C. et al., 2016; Manfreda G. et al., 2016). Nell'allevamento della gallina ovaiole, il miglioramento del "benessere intestinale" conseguente alla somministrazione di *L. acidophilus* D2/CSL, si misura in termini di:

- riduzione dell'umidità e della collosità fecale, nonché dei composti fecali tossici di putrefazione (NH₃, H₂S, ecc.);
- migliore tasso di deposizione;
- migliore indice di conversione alimentare (kg mangime/kg uova);
- migliore qualità del guscio (peso specifico) e dell'albume (Unità Haugh);
- riduzione uova di scarto (fragili, incrinate, sporche).

Dopo l'istituzione dell'EFSA (2002), il CSL ha iniziato il percorso della registrazione europea di *L. acidophilus* D2/CSL (CECT 4529) come additivo zootecnico, nel "gruppo funzionale 4b, stabilizzatori della flora intestinale", ai sensi del Regolamento (CE) 1831/2003. Per definizione, questi additivi "influenzano favorevolmente la produzione, le prestazioni o il benessere degli animali influenzando, in particolare, sulla flora gastrointestinale" (art. 5,f del Reg. 1831/2003).

L. acidophilus D2/CSL (CECT 4529) ha ottenuto la prima autorizzazione europea, come additivo per galline ovaiole, nel 2003, la seconda nel 2007 e la terza nel 2015 (Regolamento UE n. 2015/38). Il prodotto è autorizzato per la somministrazione attraverso il mangime e l'acqua di abbeverata, alla dose minima di 1×10^9 UFC/kg mangime e 5×10^8 UFC/L acqua. Invece non è fissata una dose massima. L'EFSA, nella sua Scientific Opinion (EFSA Journal, 2014, 12,7:3789), afferma infatti che il lattobacillo ha lo status QPS e pertanto è assolutamente sicuro per i consumatori, gli animali e l'ambiente. Inoltre afferma: "*Lactobacillus acidophilus* D2/CSL has the potential to increase laying intensity and significantly improve the feed-to-egg mass ratio at the proposed dose of 1×10^9 CFU/kg feed. The FEEDAP Panel

considers that the results are independent of the mode of administration, provided that exposure is the same and that the equivalent dose in water for drinking would be $3-5 \times 10^8$ CFU/L".

Oggi, dopo 30 anni di prove sperimentali *in vitro* e *in vivo*, si può affermare che il ceppo *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL è:

- * alleato naturale dell'intestino del pollo: colonizza e vive in simbiosi negli *habitat* gastro-intestinali, stimolando il GALT e l'impianto del microbiota autoctono nel pulcino;
- * antagonista naturale dei batteri pro-infiammatori, putrefattivi e patogeni, in questi modi previene le disbiosi;
- * leader delle fermentazioni utili: migliora le funzioni digestive fermentando i carboidrati – non gli aminoacidi – e producendo acido lattico, che costituisce un'ulteriore fonte di energia recuperabile per l'ospite.

In conclusione i volatili in allevamento sono continuamente soggetti a disbiosi gastro-intestinali e l'esito può essere una patologia conclamata (infiammazione acuta), oppure, nella situazione più frequente, una manifestazione sub-clinica, evidenziata dallo scarso rendimento (crescita, deposizione, conversione alimentare) e dalla scadente qualità della produzione (uova fragili, sudice, ecc.). Ma queste condizioni dismicrobiche, oltre a ripercuotersi negativamente sulla funzionalità digestiva, sulla vitalità e sulla produttività degli animali, peggiorano la qualità dell'ambiente di allevamento (aumento di umidità, di ammoniaca, e di germi patogeni di origine fecale) e riducono la sicurezza igienico-sanitaria delle carni e delle uova (aumento delle cariche microbiche patogene).

La ricostituzione dell'equilibrio microbico intestinale, cioè dell'eubiosi, può essere ottenuta per via naturale attraverso la somministrazione di lattobacilli autoctoni, cioè selezionati dall'intestino del pollo

Lactobacillus acidophilus D2/CSL è un microrganismo sicuro, non lascia residui tossici nelle derrate zootecniche e si può utilizzare anche negli allevamenti biologici. L'impiego di *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL va incontro alle esigenze dell'attuale consumatore, la cui attenzione è rivolta verso prodotti alimentari ottenuti nel massimo rispetto della condizione di "naturalità".

Alcune considerazioni:

1. *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL è tra i primi batteri autoctoni a colonizzare l'intestino del pulcino, creando da subito un habitat favorevole all'impianto di una microflora più equilibrata;
2. *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL, in un gruppo di polli, serve anzitutto a proteggere i soggetti "a rischio" (profilassi) e quelli sub-clinicamente "malati" (metafilassi): ecco perchè si denota un aumento della performance generale del gruppo e, in parallelo, della qualità dei prodotti;
3. dal punto di vista igienico-sanitario, quando si impiegano ceppi microbici probiotici sicuri, assolutamente apatogeni, ma anzi "protettivi", come *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL, bisogna agire esattamente all'opposto di come ci consiglierebbe il "buon senso igienico-sanitario", ovvero: (1) non temere di "contaminare" mangimi, acqua di bevanda, animali e ambiente, anzi (2) preferire una carica batterica più elevata (una dose più potente) ad una più bassa.