

**UTILIZZO DI ACIDO FORMICO INCAPSULATO, ACIDO CITRICO, AROMI FUNZIONALI E BACILLUS SP. PB6 IN UNA DIETA PREMIUM PER SVEZZARE CON SUCCESSO I PICCOLI SUINETTI SENZA MEDICAZIONE CON OSSIDO DI ZINCO**

***USING ENCAPSULATED FORMIC ACID, CITRIC ACID, AND FUNCTIONAL FLAVOURS AND BACILLUS SP. PB6 IN A PREMIUM DIET TO SUCCESSFULLY WEAN SMALL PIGLETS WITHOUT MEDICAL ZINC OXIDE***

MATTUZZI S.<sup>1</sup>, BUKOWSKA P.<sup>1</sup>, VAN HAMME V.<sup>1</sup>, GUETTA N.<sup>1</sup>, CARLSON D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Kemin Europa N.V.*, <sup>2</sup>*SvineRaadgivning (Danish Pig Advisory Center)*

**Parole chiave:** Suinetto, svezzamento, diarrea

**ABSTRACT**

Weaning is one of the main challenges in the piglets life. It combines changes in local protection, caused by sudden withdrawal of maternal milk with IgA's, declining immunity against pathogens to which will be exposed after weaning, changes in the intestinal tract (structural and functional) to adapt to a new different diet, insufficient stomach acidification and inability to fully use the nutrients available in the diet immediately after weaning. All these challenges often lead to post weaning diarrheas. Currently pig veterinarians rely on antibiotic treatments during the post weaning period and on Zinc Oxide at higher doses included in the post weaning diets. Due to concerns about the accumulation of Zn in the environment and the potential to the development of antibiotic resistance due to the use of ZnO and metaphylactic or prophylactic antibiotic use Vahjen et al (2015), ZnO at higher than the physiological required is being banned from June 2022 and new restrictions on the use of antimicrobials also came in place in January 2022.

It is important to find alternatives to support piglets during the post weaning period and tools to help controlling post weaning diarrhea. Probiotics have proved to be potential alternatives to antibiotics to prevent diarrhea and support good performance, Rist et al (2013).

The objective of this study was to assess a premium medical ZnO free diet formulated with encapsulated formic acid, citric acid, and functional flavours (FormaXOL™) and *Bacillus* sp PB6 (CLOSTAT®) in comparison to a standard diet containing a high dose of ZnO. Diarrhoea score was comparable between the diet containing medical doses of ZnO and the diet reformulated with encapsulated formic acid, citric acid, and functional flavours and *Bacillus* sp PB6.

FCR was significantly improved during the first 14 days after weaning, and during the overall post weaning period with the diet reformulated with encapsulated formic acid, citric acid, and functional flavours and *Bacillus* sp PB6 compared to the diet containing medical ZnO. Piglets having a small body weight at weaning particularly benefited from the diet reformulated with formic acid, citric acid, and functional flavours and *Bacillus* sp PB6.

## **INTRODUZIONE**

L'ossido di zinco (ZnO) usato a dosi mediche nelle diete dei suinetti svezzati sarà gradualmente eliminato nell'Unione europea entro giugno 2022. Poiché questa scadenza si sta avvicinando velocemente, la necessità di sviluppare strategie di successo per sostituire le alte dosi di ZnO si fa sentire. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto di una dieta priva di ZnO (formulata con acido formico incapsulato, acido citrico, aromi funzionali incapsulati e con Bacillus sp. PB6) rispetto a una dieta standard contenente una dose elevata di ZnO. Nello studio sono stati utilizzati suinetti svezzati con un peso medio di 4,15 kg. Sono stati monitorati e registrati i dati in merito all'insorgenza di diarrea, all'uso di farmaci e alle prestazioni post-svezzamento. Lo studio è stato condotto in Danimarca da TestPig, presso la stazione di prova di Skjoldborg. Le diete mediche prive di ZnO sono state formulate dai nutrizionisti del Danish Pig Advisory Service, con particolare attenzione al tenore in proteina e alla digeribilità complessiva dei nutrienti.

## **MATERIALI E METODI**

Tutti i suinetti sono stati tenuti, per i primi 14 giorni dopo lo svezzamento, in stanze di cura speciali (stanze BabyPig) poiché avevano un peso corporeo medio di circa 4 kg. Dopo questo periodo, i suinetti sono stati spostati nelle sale da svezzamento standard, dove sono stati tenuti per altre quattro settimane. La durata totale della prova è stata di 43 giorni e la prova è terminata il 10 agosto 2021.

### Prodotti testati durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento (1-14 giorni)

Una dieta commerciale standard è stata usata come dieta di controllo. Questa dieta conteneva 3000 ppm di ossido di zinco, 0,5% di formiato di calcio invece di calcio carbonato (CaCO<sub>3</sub>) e 0,5 % di acido benzoico.

Il mangime per il test era un nuovo mangime, formulato dal Danish Pig Advisory Service (Servizio di consulenza per i suini danese). Nella formula della dieta riformulata, il contenuto proteico è stato mantenuto basso (161 g di proteine digeribili per kg) e il contenuto di aminoacidi è stato aumentato del 14-18% rispetto alle raccomandazioni standard. La dieta in prova è stata integrata con 4 kg/t di acido formico incapsulato, acido citrico e aromi funzionali (FormaXOL) e 750 g/t di Bacillus sp. PB6 (CLOSTAT XCL (4 x 10<sup>8</sup> CFU/g)). Anche l'acido benzoico e il formiato di calcio sono stati utilizzati a un livello di dose simile a quello della dieta standard (0,5% per ciascun prodotto). Inoltre, una miscela di acidi organici è stata fornita nell'acqua potabile dei suinetti alimentati con la dieta riformulata. Questi maialini hanno anche ricevuto chelati organici di ferro e zinco, e un'alta quantità di vitamine e plasma in polvere.

Tutti i suinetti hanno avuto accesso ad libitum al mangime secco e il mangime bagnato è stato somministrato quattro volte durante il giorno (dalle 7 alle 15) e una volta durante la sera (dalle 20 alle 23). I dettagli sulla composizione delle diete, sia di controllo che le riformulate, sono riportati nell'appendice 1.

Le composizioni delle diete durante il test erano sconosciute al personale della stazione di prova.

### Animali e misure durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento (1-14 giorni)

Un totale di 1072 suinetti, svezzati a 25 ± 3 giorni di età, sono stati utilizzati nello studio. Nel gruppo di controllo, 538 suinetti (4,2 ± 0,5 kg) sono stati nutriti con la dieta standard. Nel gruppo di prova, 534 suinetti (4,1 ± 0,5 kg) sono stati alimentati con la

dieta riformulata contenente acido formico e acido citrico incapsulato, aromi funzionali e Bacillus sp PB6. I suinetti sono stati assegnati a un totale di 40 box (20 box in ogni gruppo) contenenti circa 27 suinetti ciascuno. I recinti erano dotati di un “nido” per suinetti e di un’area di attività a doghe.

Sono stati monitorati l’assunzione di mangime (FI), il guadagno medio giornaliero (ADG), il rapporto di conversione del mangime (FCR, Kg FI/kg di aumento di peso), la mortalità e i trattamenti medici. L’unità sperimentale era il capannone.

Il numero di giorni in cui 0/3, 1/3, 2/3 o 3/3 dei suinetti in ogni box avevano presentato diarrea è stato registrato durante l’intero studio. Questo sistema di punteggio si è basato su una valutazione visiva giornaliera della qualità delle feci, per valutare la prevalenza della diarrea in ogni gruppo sperimentale.

#### Animali e misure dopo i primi 14 giorni dallo svezzamento (14-43 giorni)

Dopo il primo periodo di 14 giorni, tutti i suinetti svezzati sono stati spostati in una stanza di svezzamento standard, dove sono stati alimentati con le rispettive diete per 3 giorni e gradualmente passati (controllati automaticamente) a una dieta di svezzamento standard per un ulteriore periodo di 29 giorni. Le caratteristiche nutrizionali delle diete somministrate durante questo periodo sono riportate nell’appendice 2.

I suinetti sono stati distribuiti in 8 stanze simili con i loro compagni di box del primo periodo sperimentale. In ogni stanza sono stati utilizzati 2 box doppi. FI, ADG, FCR e mortalità sono stati registrati e l’unità sperimentale era la stanza.

#### Analisi statistica

I dati sulle prestazioni degli animali (ADG, FI e FCR) sono stati analizzati con la procedura GLM utilizzando R con un modello a effetti misti che includeva il peso corporeo iniziale (BW) al giorno 0, il numero di lotti settimanali, la dieta e le interazioni tra BW e dieta. I dati del punteggio fecale sono stati analizzati con un modello di regressione di Poisson.

## **RESULTATI E DISCUSSIONE**

#### Salute e medicazione dei suinetti durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento (1-14 giorni)

Nel complesso, i suinetti di entrambi i gruppi sperimentali hanno avuto uno stato di salute molto buono durante il periodo di prova. Per quanto riguarda la diarrea, solo un suinetto del gruppo alimentato con la dieta riformulata senza ZnO ha dovuto essere trattato con iniezioni di trimetoprim e sulfadoxina per 3 giorni consecutivi. Nessun suinetto ha avuto bisogno di un trattamento per la diarrea nel gruppo alimentato con la dieta contenente ZnO. L’insorgenza di diarrea in entrambi i gruppi è stata molto bassa rispetto ai risultati storici dell’allevamento di prova.

#### Diarrea durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento (1-14 giorni)

Il numero medio di giorni con segni di diarrea nelle feci visibili nei recinti per ogni gruppo sperimentale è presentato nella tabella 1. Nel complesso, la presenza di diarrea è stata bassa e non è stata osservata alcuna differenza significativa tra i due gruppi sperimentali. Il numero medio di giorni con 1/3 di diarrea nelle feci della dieta ZnO e riformulata era 0,9 e 1,7 rispettivamente ( $P > 0,05$ ). Il numero medio di giorni con 2/3 di diarrea nelle feci dello ZnO e della dieta riformulata era 0,1 e 0,4 rispettivamente ( $P > 0,05$ ).

**Tabella 1:** Numero medio di giorni con segni di diarrea in 1/3, 2/3 o 3/3 delle feci nei primi 14 giorni dopo lo svezzamento

**Table 1:** Average number of days with signs of diarrhea in 1/3, 2/3 or 3/3 of the feces first 14 days after weaning

	ZnO diet	Dieta riformulata (acido formico e acido citrico incapsulati e aromi funzionali e Bacillus sp PB6)	P-value
Giorni con 1/3 di diarrea	0.9	1.7	0.25
Giorni con 2/3 di diarrea	0.1	0.4	0.30
Giorni con 3/3 di diarrea	0	0	-

#### Risultati della performance di crescita durante lo studio (1-14, 14-43 e 1-43 giorni)

I risultati delle prestazioni di crescita ottenuti durante i diversi periodi sperimentali e durante l'intero periodo di studio sono riportati nella tabella 2.

Durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento, i suinetti nutriti con la dieta riformulata con acido formico e acido citrico incapsulati, e aromi funzionali e Bacillus sp PB6 avevano un ADG numericamente più alto (+ 14,4%) e un FCR significativamente ridotto (- 7,3%,  $P < 0,05$ ) rispetto ai loro compagni nella dose medica di ZnO. Il livello di energia nella dieta di controllo era del 2,3% superiore a quello della dieta di prova premium. Tenendo conto di questa differenza, l'FCR calcolato sul contenuto energetico del mangime era del 9,2% inferiore per il gruppo che riceveva il mangime di prova rispetto al gruppo di controllo (1,78 e 1,96 rispettivamente,  $P < 0,01$ ).

ADG, FI e FCR erano simili tra i due gruppi durante il periodo 14-43 giorni ( $P > 0,05$ ), il che è in linea con il fatto che i suinetti hanno ricevuto la stessa dieta post-svezzamento prodotta nell'azienda di prova durante questo periodo.

Considerando il periodo totale di studio di 1-43 giorni, FCR è stato significativamente ridotto (- 4.2%,  $P < 0.05$ ) per i suinetti il gruppo di prova rispetto a quelli nel gruppo ZnO medico. Questi risultati indicano che i buoni risultati dati dal trattamento dietetico durante i primi 14 giorni hanno fornito benefici a lungo termine per i suinetti, che si riflette in tutto il periodo post-svezzamento.

**Tabella 2:** Performance di crescita dei suinetti durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento e durante tutto il periodo sperimentale

**Table 2:** Piglets growth performance during the first 14 days after weaning and during the overall experimental period

	Giorno	Gruppo sperimentale		P-values		LSD
		Dieta ZnO	Dieta riformulata (acido formico e acido citrico incapsulati e aromi funzionali e Bacillus sp PB6)	Dieta	BW x dieta	
<b>Peso vivo (BW)</b>						
Peso vivo iniziale (kg/pig)y	1	4.2 ( $\pm 0.5$ )	4.1 ( $\pm 0.6$ )	na	na	na
Peso vivo intermedio (kg/pig)y	14	6.6 ( $\pm 0.8$ )	6.9 ( $\pm 0.8$ )	na	na	na
Peso vivo finale (kg/pig)y	43	22.8 ( $\pm 1.8$ )	22.6 ( $\pm 2.0$ )	na	na	na
<b>1-14 giorni dopo lo svezzamento</b>						
ADG (g/d/pig)x	1-14	173	198	0.13	0.007	37
FI (g/d/pig)x	1-14	265	275	0.53	ns	36
FCRx	1-14	1.51	1.40	0.03	<0.001	0.16
<b>14-43 giorni dopo lo svezzamento</b>						
ADG (g/d/pig)x	14-43	549	533	0.5	ns	57
FI (g/d/pig)x	14-43	820	741	0.25	ns	80
FCRx	14-43	1.43	1.38	0.21	ns	0.09
<b>1-43 giorni dopo lo svezzamento</b>						
ADG (g/d/pig)x	1-43	427	424	0.85	ns	38
FI (g/d/pig)x	1-43	620	599	0.32	ns	49
FCRx	1-43	1.44	1.38	0.03	ns	0.07

y: indica  $\pm$  SD (n=20), x: indica  $\pm$  SD (n=20), na: non analizzato, ns: non significativo

L'analisi statistica ha mostrato un'interazione tra il peso vivo e la dieta per la FCR durante i primi 14 giorni. Ciò ha indicato che in questa prova, il suinetto più piccolo (<4 kg) ha utilizzato in modo più efficiente la dieta contenente acido formico e acido citrico incapsulati, con aromi funzionali e Bacillus sp PB6 rispetto alla dieta medicata con ZnO.

La mortalità è stata dell'1,5% in entrambi i gruppi sperimentali, durante l'intero periodo di prova (1-43 giorni dopo lo svezzamento). Nel periodo dei primi 14 giorni, la percentuale di malattia

è stata pari a 1,1% nel gruppo alimentato con la dieta medicata con ZnO mentre dell'1,9% nel gruppo di prova.

#### Follow up dei test sul campo

Per confermare i risultati di questa prova sperimentale, il rendimento della dieta contenente acido formico e acido citrico incapsulati, aromi funzionali e Bacillus sp PB6 è stato valutato qualitativamente in tre allevamenti commerciali in Danimarca per 14 giorni dopo lo svezzamento (in totale 400 suini, 120 suini e 250 suini ciascuno). Durante le tre valutazioni, la dieta riformulata ha avuto prestazioni simili o migliori delle diete di controllo contenenti ZnO medico.

### **CONCLUSIONI**

Trovare alternative adeguate alla medicazione con ZnO è una grande sfida, soprattutto quando la necessità è quella di sostenere i piccoli suinetti nella fase dello svezzamento, dove è noto che beneficiano maggiormente dell'integrazione di ZnO. Con questa prova, riformulando una dieta premium con l'integrazione di acido formico e acido citrico incapsulati, con aromi funzionali e Bacillus sp PB6, ha dimostrato di essere una strategia eccellente per aiutare con successo i suinetti e garantire lo svezzamento senza ZnO, mantenendo lo stato di salute e assicurando ottime performance di crescita.

### **APPENDICE 1:**

**Tabella 3:** Composizione della dieta somministrata durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento.  
*Table 3: Feed composition of the diet given during the first 14 days after weaning.*

#### Dieta riformulata

<b>Ingredienti della dieta riformulata (Test)</b>	<b>%</b>
Orzo (trattato termicamente)	13.5
Frumento (gelatinizzato)	52.8
Latte in polvere	16
Arbocel	1.5
Proteina di soia AX3 Digest	5
Polvere di plasma	5
Fosfato monocalcico	1.29
Grasso	1
L-Lisina	0.764
DL-metionina	0.271
L-treonina	0.294
DL-triptofano	0.082
L-valina	0.132
Formiato di calcio	0.5
Acido benzoico	0.5
FormaXOL	0.4
CLOSTAT	0.075
Aroma Luctarom Advance	0.1
Chelato di ferro di aminoacido	0.071
Chelato di zinco di aminoacido	0.118
Premix + SR Elite Blanding	0.575
Energia del mangime, per kg	1.27

## Dieta di controllo

<b>Ingredienti della dieta medicata con ZnO (Controllo)</b>	<b>%</b>
Grano (il 20% del grano è stato trattato termicamente)	44.3
Mais, focchi	3.0
Latte in polvere	18.0
Lattosio in polvere	9.1
Concentrato di proteine di soia	10.0
Proteina di patata	7.0
Grasso	2.7
Acido benzoico	0.5
Formiato di calcio	0.5
Zinc Oxide premix	0.3
Minerali, vitamine, aminoacidi ecc.	4.6
Energia del mangime, per kg	1.30

**Tabella 4:** Caratteristiche nutrizionali della dieta riformulata (dieta senza ZnO) somministrata durante i primi 14 giorni dopo lo svezzamento

**Table 4:** Nutritional characteristics of the reformulated (ZnO free diet given) during the first 14 days after weaning

<b>Caratteristiche nutrizionali</b>	<b>%</b>
Sostanza secca	92.35
Proteina grezza	17.91
Grasso grezzo	5.9
Cenere grezza	5.09
Fibra	3.44
Amido	39.6
Lattosio	6.4
<b>Macroelementi</b>	<b>%</b>
Calcio	6.94
Fosforo	6.87
Sodio	3.25
<b>Amminoacidi</b>	<b>‰</b>
Proteina Dig	161.33
Dig lisina	14.99
Dig Metionina	4.93
Dig Met+Cyst	8.2
Dig Threo	9.24
Dig Tryp	3.46
Dig Isoleu	6.23
Dig Val	9.27

## APPENDICE 2: COMPOSIZIONE DEGLI ALIMENTI DELLE DIETE STANDARD PER LO SVEZZAMENTO

**Tabella 5:** Ingredienti del mangime (%) nella dieta dello starter 6-9 kg

**Table 5:** Feed ingredients (%) in the starter diet 6-9 kg

Ingrediente	(%)
Frumento	65
Farina di pesce	6.5
Olio di soia	2.4
Premix <sup>(1)</sup>	26.1

Contenente proteine della soia, della patata e del latte, vitamine, minerali, aminoacidi, fitasi, antiossidanti, xilanasi e acidi organici

**Tabella 6:** Ingredienti del mangime (%) nella dieta iniziale 9-15 kg

**Table 6:** Feed ingredients (%) in the starter diet 9-15 kg

Ingrediente	(%)
Frumento	61.1
Orzo	10
Farina di soia	10
Olio di soia	135
Soia alfa	10.1
Premix (1)	7.3

Contenente proteine di patate, vitamine, minerali, aminoacidi, fitasi, antiossidanti e acidi organici

**Tabella 7:** Ingredienti del mangime (%) nella dieta dello starter 15-30 kg

**Table 7:** Feed ingredients (%) in the starter diet 15-30 kg

Ingrediente	(%)
Frumento	41.3
Orzo	25
Farina di soia	26.9
Olio di soia	1.7
Premix	5.1

Contenente proteine di patate, vitamine, minerali, aminoacidi, fitasi, antiossidanti e acidi organici



## **BIBLIOGRAFIA**

1. Vahjen, W., Pietruszyńska, D., Starke, I. C. & Zentek, J. High dietary zinc supplementation increases the occurrence of tetracycline and sulfonamide resistance genes in the intestine of weaned pigs. *Gut Pathog.* **7**, 23 (2015).
2. Rist, V. T. S., Weiss, E., Eklund, M. & Mosenthin, R. Impact of dietary protein on microbiota composition and activity in the gastrointestinal tract of piglets in relation to gut health: a review. *animal* **7**, 1067–1078 (2013).