

# IMPIEGO DI BIOFILM POSITIVI IN ALLEVAMENTO PER PRODUZIONI ANIMALI PIÙ SICURE

## INDICE

Introduzione: i microbi sono ovunque

1. Il concetto di biofilm positivo

2. Applicazioni

2.1 Allevamenti Avicoli

2.2 Allevamenti Suinicoli

3. Evidenze scientificamente documentate

Conclusioni

p.1

p.3

p.3

p.3

p.4

p.5

p.6

## SOMMARIO

I microrganismi sono ovunque: questo vale anche per l'ecosistema zootecnico. Tutte le superfici di un allevamento e delle sue attrezzature sono colonizzate da microrganismi, principalmente sotto forma di biofilm. Una nuova opzione per i protocolli di biosicurezza è il biofilm positivo tramite l'applicazione di batteri selezionati e tipizzati in grado di formare biofilm non patogeno sulle superfici dell'allevamento nel periodo di vuoto sanitario. Infatti, il rapido sviluppo di biofilm positivo nel periodo di vuoto sanitario, contrasta la crescita di microrganismi indesiderati. I ricercatori di Lallemand hanno selezionato batteri specifici per questo scopo e hanno formulato il prodotto LALFILM PRO. Tutte le prove di campo eseguite nei più diversi contesti produttivi (suinicolo e avicolo) hanno dimostrato che il biofilm creato da LALFILM PRO sulle superfici dell'allevamento aiuta a ridurre la ricolonizzazione delle superfici da parte di batteri indesiderati.

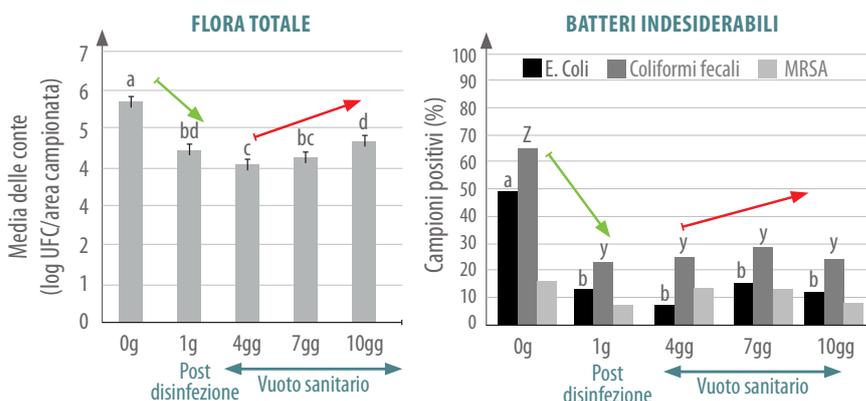
Recenti studi in vitro rafforzano ulteriormente il concetto positivo di biofilm.

## INTRODUZIONE: I MICROBI SONO OVUNQUE

I microbi sono ovunque. Da Louis Pasteur, abbiamo imparato che la maggior parte dei microbi è innocua o addirittura benefica! Basti pensare al microbiota dell'apparato digerente: non potremmo vivere senza di esso. Ci sono molti altri esempi del ruolo chiave dei batteri nella nostra vita.

Negli allevamenti, tutte le superfici - pavimenti, pareti, soffitti e attrezzature - sono colonizzate da microrganismi principalmente sotto forma di biofilm (vedi p.2). Questi biofilm possono essere innocui, positivi oppure, se contengono patogeni, negativi per gli animali.

Un protocollo di pulizia, detergenza e disinfezione è indispensabile prima dell'arrivo di un nuovo gruppo di animali nei locali. Tuttavia, le superfici non rimangono sterili. I microrganismi trasportati nell'ambiente degli animali (aria, polvere, lettiera, attrezzature per la stabulazione), e dagli stessi nuovi animali, iniziano rapidamente a ricolonizzare le superfici, formando biofilm. Questi microrganismi possono essere batteri indesiderati o potenziali agenti patogeni (figura 1).



**Figura 1**

Media delle conte dei batteri aerobici nell'ambiente animale (pavimenti, pareti, mangiatoie e abbeveratoi), dopo la disinfezione e percentuale di campioni positivi alla flora indesiderata (MRSA: *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente) (adattato da K. Luyckx et al., 2016).

I locali di stabulazione degli animali sono ambienti microbici complessi dove condizioni ambientali oppure operative possono influenzare la pressione infettiva ed il rischio di contaminazione, tra cui:

- Variazioni di umidità e di temperatura
- Scarsa manutenzione di strutture e attrezzature
- Ventilazione dell'edificio:  
i bio-aerosol consentono la diffusione di batteri su altre superfici
- Biosicurezza sommaria e inefficacia del protocollo di igiene

**VISIONE:** l'applicazione di batteri benefici su superfici e attrezzature subito dopo la pulizia e la disinfezione può essere un'opportunità? Se l'inoculo è in grado di trasformarsi in un biofilm di batteri positivi, lo sviluppo di quelli negativi risulterà contrastato (figura 2).  
**Ecco il concetto di biofilm positivo.**

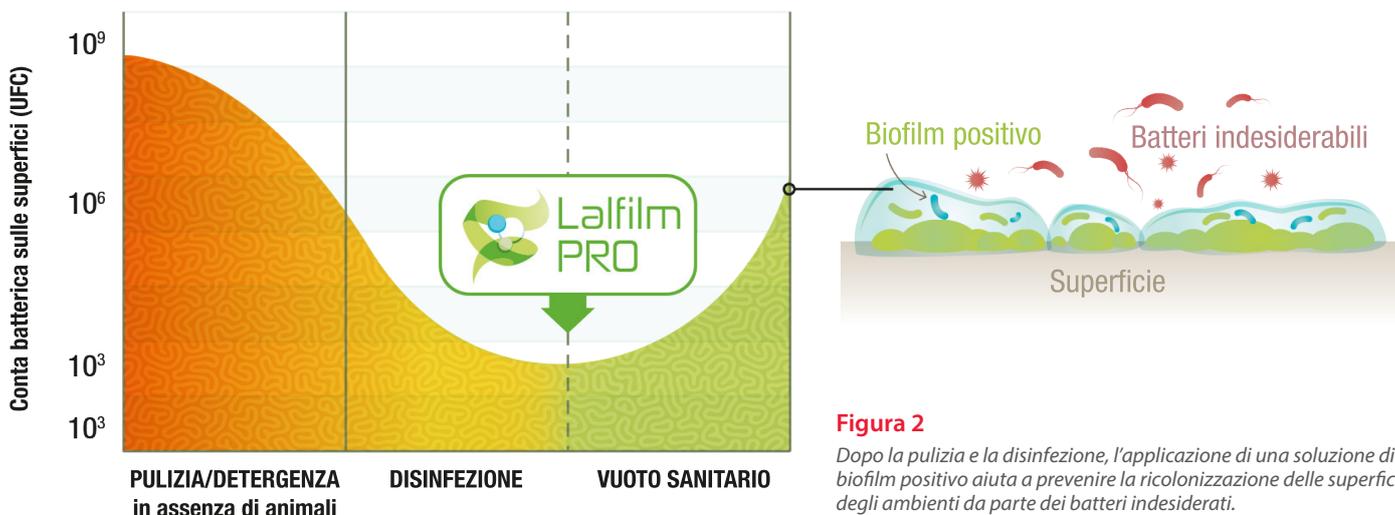
Pertanto, oggi risulta possibile estendere il protocollo di igiene a 3 momenti fondamentali:

- 1. Pulizia e detergenza**
- 2. Disinfezione**
- 3. Condizionamento delle superfici tramite biofilm positivo**

Prove in campo e studi *in vitro* hanno dimostrato il potenziale strategico di questo approccio innovativo nell'ottimizzazione degli interventi di profilassi diretta ambientale.

### IL NUOVO PARADIGMA DELLA BIOSICUREZZA:

- 1 PULIZIA E DETERGENZA**
- 2 DISINFEZIONE**
- 3 APPLICAZIONE DI BIOFILM POSITIVO**



## COSA SONO I BIOFILM?

**Sapevi che il 90% della biomassa batterica sulla Terra è organizzata sotto forma di biofilm?**

■ Anche per i microbi, la forza sta nei numeri.

In natura, la maggior parte dei batteri non vive come cellule singole (stato planctonico) ma, invece, è organizzata in comunità complesse conosciute come **biofilm**.

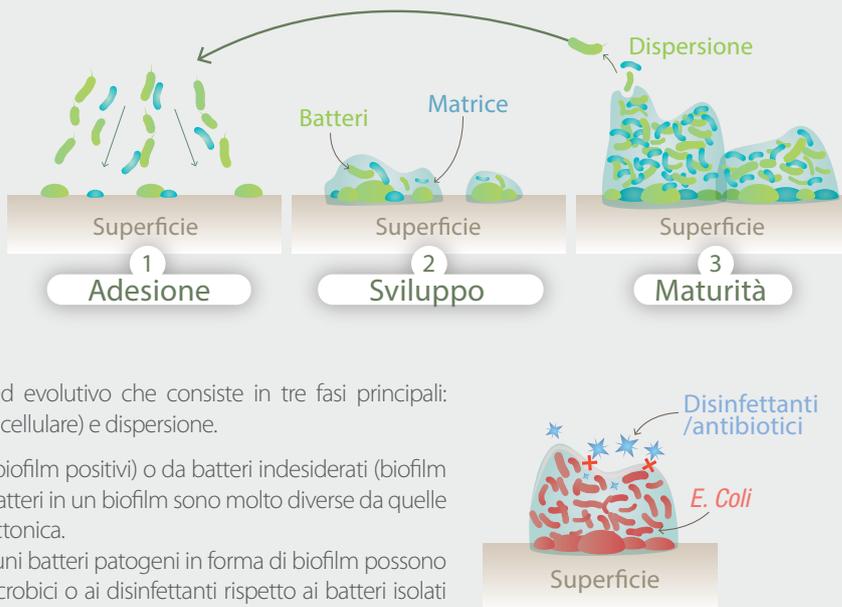
Un biofilm è definito come *'una comunità di microrganismi fissati su una superficie'*, in grado di secernere una matrice extracellulare protettiva che può rappresentare l'85% della sua biomassa. I biofilm possono rappresentare ecosistemi molto complessi che sviluppano sistemi di comunicazione cellula-cellula (*quorum sensing* o *rilvamento del quorum*).

La formazione del biofilm è un ciclo dinamico ed evolutivo che consiste in tre fasi principali: adesione, sviluppo (con produzione di matrice extracellulare) e dispersione.

■ Un biofilm può essere formato da batteri benefici (biofilm positivi) o da batteri indesiderati (biofilm negativi). È importante notare che le proprietà dei batteri in un biofilm sono molto diverse da quelle degli stessi batteri nella loro forma fluttuante o planctonica.

Una delle conseguenze più preoccupanti è che alcuni batteri patogeni in forma di biofilm possono essere da 10 a 1.000 volte più resistenti agli antimicrobici o ai disinfettanti rispetto ai batteri isolati (Briand et al., 2012, Cabeça et al., 2012). È interessante notare che il 60-80% delle infezioni nosocomiali microbiche umane sono causate da biofilm batterici.

■ Alcuni esempi di biofilm negativi includono: placca dentale, bioincrostazioni degli scafi delle navi, biofilm all'interno delle tubature per acqua potabile e degli impianti petrolchimici. I biofilm positivi includono, ad esempio, il microbiota intestinale e cutaneo. Nelle produzioni animali, qualsiasi superficie dell'allevamento o attrezzatura per l'alimentazione ospita anche biofilm che possono rappresentare una potenziale minaccia per la salute degli animali se non gestiti correttamente.



# 1. IL CONCETTO DI BIOFILM POSITIVO

Per sviluppare l'opportunità del biofilm positivo, Lallemand Animal Nutrition ha selezionato alcuni ceppi di batteri per la loro capacità di:

- a) **Formare un biofilm**
- b) **Colonizzare rapidamente** l'ambiente

Il biofilm positivo formato dai batteri selezionati occupa rapidamente lo spazio vuoto sulle superfici di allevamento: test *in vitro* mostrano che il 90% della superficie è uniformemente colonizzata entro 12 ore (**figura 3**), lasciando meno spazio allo sviluppo di batteri indesiderati.



**Figura 3**

Colonizzazione positiva della superficie con i batteri di LALFILM PRO dopo 0, 6 e 24 ore (Fonte: INRA-LALLEMAND).

I batteri selezionati sono stati formulati in una specifica formulazione ad elevato potere adesivo facilmente ed omogeneamente applicabile sia su superfici verticali che orizzontali (LALFILM PRO).

## L'ANGOLO DELLO SCIENZIATO

**Come selezioniamo i migliori batteri che formano biofilm?**

Un test di laboratorio, il Biofilm Ring Test® (BioFilm Control®, Francia), ha permesso a Lallemand di validare la capacità dei batteri di formare un biofilm e selezionare i migliori candidati.

**Come funziona?**

In ogni pozzetto di una piastra da 96 pozzetti, la coltura batterica pura viene miscelata con particelle metalliche. Dopo l'incubazione, le piastre vengono posizionate su piccoli magneti:

- Se i batteri fluttuano liberi, le particelle sono attratte dal magnete e formano un punto visibile nella parte inferiore del pozzo.
- Se i batteri hanno formato un biofilm, le particelle vengono immobilizzate all'interno della matrice del biofilm e non vi è alcun punto visibile sopra il magnete.

BioFilm Control®

## 2. APPLICAZIONI IN ALLEVAMENTO

Prove di campo eseguite in diversi contesti produttivi (sala parto scrofe, sale svezzamento, capannoni broiler) hanno mostrato l'efficacia del prodotto per suini e avicoli. Il biofilm positivo generato da LALFILM PRO riduce la ricolonizzazione delle superfici da parte di batteri indesiderati.

### 2.1. AVICOLI

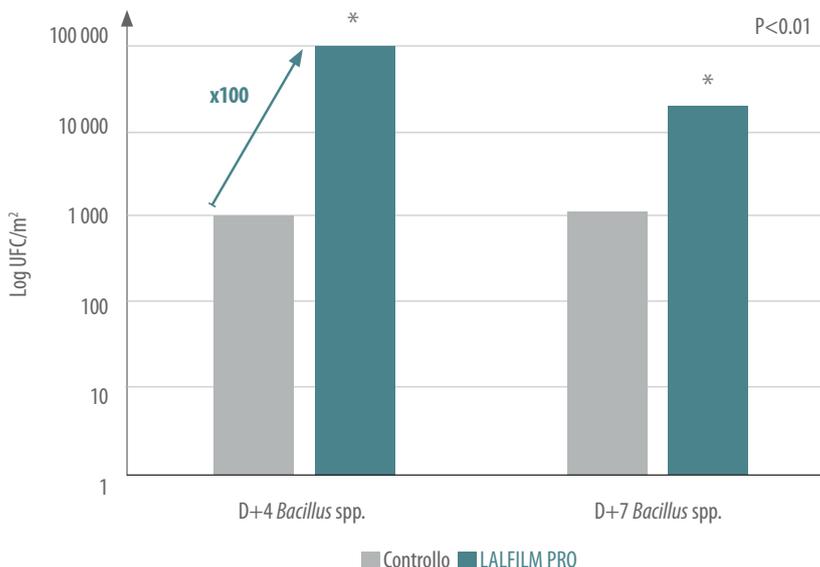


Negli allevamenti avicoli vengono applicate diverse misure di biosicurezza interna come pulizia, disinfezione e applicazione di vuoto sanitario. Ciascuna di queste procedure influisce sul livello di pressione infettiva ambientale prima dell'ingresso dei nuovi animali in allevamento. Lo sviluppo di un biofilm microbico positivo nei capannoni prima dell'arrivo degli animali e durante il ciclo di produzione rappresenta un reale valore aggiunto a queste procedure.

È stata eseguita una prova in un allevamento commerciale in Francia nel 2017. LALFILM PRO è stato applicato alla dose raccomandata per gli allevamenti avicoli (corrispondente a 0,2 g di prodotto / m<sup>2</sup> di superficie del pavimento in base al calcolo della dose specifica in relazione al tipo di struttura), un giorno prima dell'ingresso degli animali e quindi di nuovo dopo 15 giorni dall'inizio del ciclo per potenziare la presenza di batteri benefici durante il lotto di produzione. Le superfici delle mangiatoie sono state campionate per l'analisi microbiologica.

- È stato dimostrato che l'applicazione di LALFILM PRO porta allo sviluppo di un biofilm microbico positivo (aumento significativo delle popolazioni di *Bacillus* spp.) (**figura 4**).
- Conseguentemente, nel capannone in cui è stato applicato LALFILM PRO, la perdita totale (scarti + mortalità) è stata ridotta del 21% rispetto al capannone di controllo.

Creando biofilm positivi, LALFILM PRO aiuta a mantenere un ambiente microbico sicuro negli allevamenti avicoli, come dimostrato dalla riduzione dei tassi di mortalità e scarto.



**Figura 4**

Evoluzione delle popolazioni di batteri benefici nell'ambiente di polli da carne - Il giorno 0 corrisponde all'ingresso dei volatili (Lallemand Animal Nutrition, dati interni, Allevamento commerciale, Francia, 2017).

## 2. 2 TUTELARE L'AMBIENTE DEI SUINETTI



Nell'allevamento di suini, un elevato livello di igiene e biosicurezza può ridurre significativamente i costi di produzione. Il miglioramento della redditività tra allevamenti suini con livelli elevati di biosicurezza rispetto a quelli con livelli inferiori è stato stimato in circa 200€/scrofa/anno (Corrége et al., 2012). In questo contesto, l'approccio basato sul biofilm positivo è di particolare interesse nelle fasi di maternità e post-svezzamento. Numerose prove in azienda indicano vantaggi in entrambi i reparti produttivi.

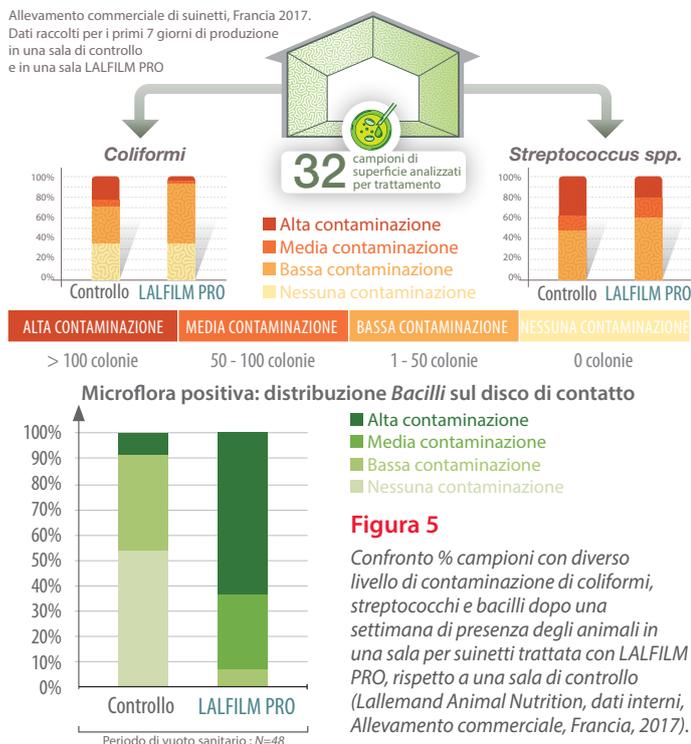
■ È stato condotto uno studio su 2.318 suinetti suddivisi in tre lotti in un allevamento commerciale per cinque mesi consecutivi. LALFILM PRO è stato applicato in due locali comparati a due sale di controllo.

LALFILM PRO è stato applicato alla dose di 0,1 g/m<sup>2</sup> di superficie da colonizzare (corrispondente a 0,3 g/m<sup>2</sup> di superficie del pavimento secondo il calcolo specifico per i locali dei suinetti) una prima volta dopo la pulizia e disinfezione ed una seconda volta prima dell'ingresso degli animali.

Il campionamento microbiologico è stato eseguito in presenza degli animali appartenenti al primo lotto (piastre Petri specifiche lasciate sui pavimenti).

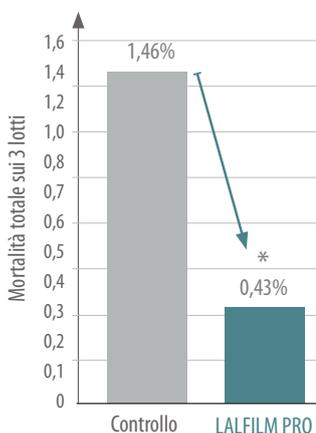
→ L'applicazione di LALFILM PRO ha generato la formazione di un ambiente microbico positivo. Di conseguenza, lo sviluppo di **batteri indesiderati** nell'ambiente di allevamento (streptococchi, coliformi) è stato inferiore (figura 5).

Allevamento commerciale di suinetti, Francia 2017.  
Dati raccolti per i primi 7 giorni di produzione in una sala di controllo e in una sala LALFILM PRO



**Figura 5**  
Confronto % campioni con diverso livello di contaminazione di coliformi, streptococchi e bacilli dopo una settimana di presenza degli animali in una sala per suinetti trattata con LALFILM PRO, rispetto a una sala di controllo (Lallemand Animal Nutrition, dati interni, Allevamento commerciale, Francia, 2017).

→ Conseguentemente, il tasso complessivo di mortalità dei suinetti (3 lotti) è stato significativamente ridotto dall'1,46% allo 0,43%. (figura 6).



**Figura 6**  
Effetto sulla mortalità dei suinetti dopo trattamento della struttura con LALFILM PRO (\*P=0,016) (Lallemand Animal Nutrition, dati interni, Allevamento commerciale, Francia, 2017).

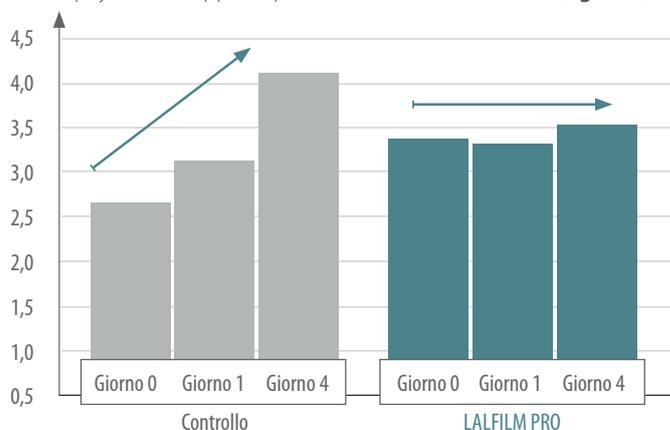
Da questo studio sui suinetti si è concluso che l'applicazione di biofilm positivo ad integrazione delle procedure di pulizia, detergenza e disinfezione aiuta a mantenere un ambiente microbico più sicuro prima dell'ingresso degli animali fino ad almeno 7 giorni, contribuendo così a preservare le buone condizioni igieniche nell'allevamento.

■ **Nelle sale parto**, una prova condotta in Italia in un allevamento commerciale, ha evidenziato benefici simili. LALFILM PRO è stato distribuito (alla dose di 0,4g/m<sup>2</sup> di superficie del pavimento secondo il calcolo specifico per le sale parto) sulle pareti e sui pavimenti della sala parto dopo disinfezione e 3 giorni prima dell'entrata delle scrofe.

Il campionamento microbiologico nell'ambiente è stato effettuato su grigliato a differenti tempi di campionamento. Ancora una volta, il biofilm positivo ha contribuito a mantenere un equilibrio microbico positivo nel reparto.

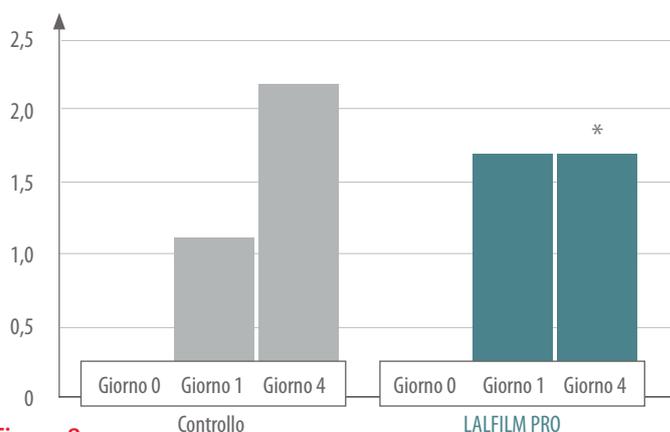
→ Lo sviluppo di microrganismi indesiderati è stato inferiore rispetto alla sala di controllo:

• *Staphylococcus* spp. erano presenti sia nelle sale trattate che in quelle di controllo. Nella sala di controllo, la conta dei batteri ha evidenziato un aumento nel tempo di *Staphylococcus* spp. mentre nella stanza trattata LALFILM PRO, la velocità di crescita è stata quasi stabilizzata tra 2,9 e 3,0 Log/ufc/cm<sup>2</sup>. Al giorno 4, la contaminazione di *Staphylococcus* spp. era più bassa nella stanza trattata (figura 7).



**Figura 7**  
Evoluzione della contaminazione da *Staphylococcus* spp. su grigliato di sala parto con e senza applicazione di LALFILM PRO in Log ufc/cm<sup>2</sup>. Il giorno 0 corrisponde all'ingresso delle scrofe. (Lallemand Animal Nutrition, dati interni, Allevamento commerciale, Italia, 2017).

• *Streptococcus* spp. è stato osservato anche su grigliato. Analogamente, l'applicazione di LALFILM PRO ha contribuito a mantenere una superficie meno colonizzata. Al giorno 4, la contaminazione da *Streptococcus* spp. era significativamente più bassa nella stanza trattata (figura 8).



**Figura 8**  
Evoluzione della contaminazione da *Streptococcus* spp. su grigliato di sala parto con e senza applicazione di LALFILM PRO in Log ufc/cm<sup>2</sup> (\*P = 0,029). Il giorno 0 corrisponde all'ingresso delle scrofe (Lallemand Animal Nutrition, dati interni, Allevamento commerciale, Italia, 2017).

Nel processo di ottimizzazione dell'efficacia del protocollo di igiene, l'applicazione di LALFILM PRO sulle superfici di una sala parto aiuta a mantenere un ambiente microbico più sicuro attraverso la crescita di biofilm positivi prima dell'ingresso degli animali e contribuisce a mantenere buone condizioni igieniche del reparto fino al momento del parto.

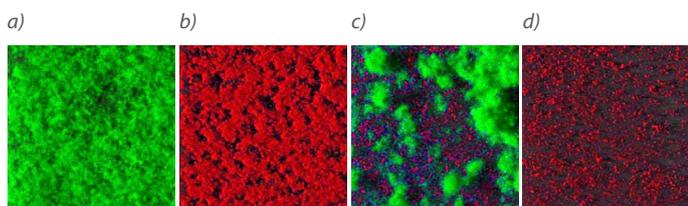
### 3. EVIDENZE SCIENTIFICAMENTE DIMOSTRATE



Gli studi *In vitro* consolidano il concetto di biofilm positivo, dimostrando l'interazione di LALFILM PRO con microrganismi indesiderati.

Uno studio indipendente *in vitro* è stato condotto presso INRA Micalis (Parigi). Tale studio ha consentito ai ricercatori di visualizzare l'interazione tra il biofilm positivo LALFILM PRO e diversi microrganismi indesiderati (*Staphylococcus aureus* HG003, *Listeria monocytogenes* LO28, *Escherichia coli* SS2 e *Escherichia coli* 977).

I dischetti sono stati inoculati con LALFILM PRO o con il solo microrganismo testato (controllo). 24 ore dopo, i microrganismi testati sono stati aggiunti ai dischetti colonizzati con il biofilm LALFILM PRO. La **Figura 9** riporta un esempio della visualizzazione di biofilm positivi e negativi.

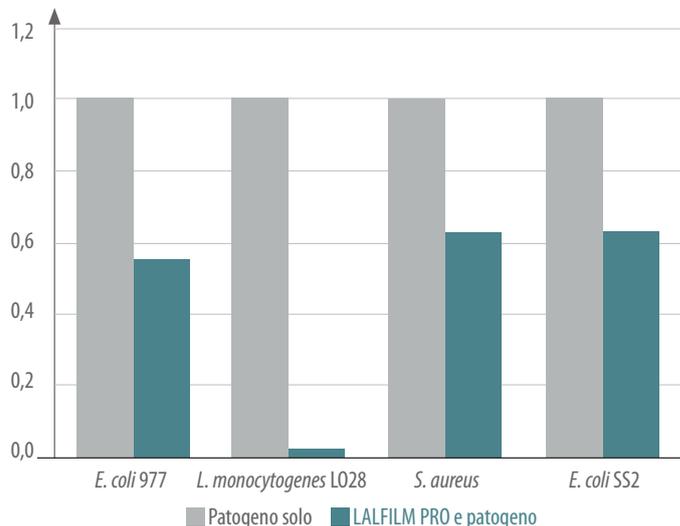


**Figura 9**

Representazione dell'interazione di LALFILM PRO con *S. aureus*.

- a) Solo biofilm LALFILM PRO
- b) Solo biofilm *S. aureus*
- c) Biofilm misto di LALFILM PRO (verde) e *S. aureus* (rosso)
- d) Visualizzazione di solo *S. aureus* in biofilm misto di LALFILM PRO e *S. aureus* (INRA Micalis, relazione interna, 2019).

Per quantificare questi risultati, i ricercatori hanno analizzato le immagini microscopiche per calcolare i volumi relativi di biofilm (**figura 10**). Questo ha dimostrato che nel caso dei **quattro** microrganismi testati, il pretrattamento con biofilm LALFILM PRO permette di evitare la colonizzazione da parte di microrganismi indesiderati.



**Figura 10**

Biovolumi normalizzati dei diversi agenti patogeni calcolati sulla base dei dati di microscopia a fluorescenza (INRA Micalis, rapporto interno, 2019).



#### FOCUS... ZONOSI



**Campylobacter spp.** è recentemente divenuto nella UE il patogeno batterico gastrointestinale isolato con maggior frequenza nell'uomo. L'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) stima la prevalenza della malattia in circa 9 milioni di casi all'anno. *Campylobacter jejuni* è la specie più diffusa che colpisce l'uomo.



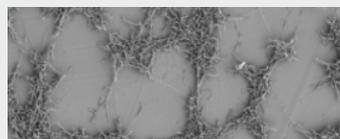
La **Salmonellosi** è una delle principali malattie di origine alimentare che l'industria avicola deve affrontare a livello globale. Esistono più di 2.400 serovar. Le principali specie coinvolte nelle zoonosi di origine alimentare sono *Salmonella typhimurium* e *Salmonella enteritidis*. *Salmonella enteritidis* è più frequentemente isolata nella carne di pollo (33,9% dei casi). Nel 2015, sono stati segnalati 95.000 casi di Salmonellosi nell'uomo, che rappresentano un'importante fonte di preoccupazione per la salute pubblica.

*Salmonella gallinarum* è la causa della tifo aviaria. Negli ultimi anni è stata isolata frequentemente. È in grado di causare un'elevata mortalità degli animali in allevamento ed una perdita del patrimonio di riproduttori, nonché di determinare un'elevata spesa per vaccini e medicinali (Alves, 2017). Lo stipe *Salmonella heidelberg* ha recentemente mostrato un aumento significativo ed è difficile da controllare con gli antimicrobici (Voss-Rech et al., 2015).

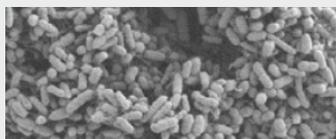
Gli **Stafilococchi** sono uno dei principali agenti zoonotici in grado di causare tossinfezioni alimentari nell'uomo. *Staphylococcus aureus* può contaminare la carne a partire dai polli vivi nonché la cute e il tratto respiratorio degli operatori. La prevalenza di ceppi di *S. aureus* resistenti alla meticillina (MRSA) rappresenta una minaccia crescente per la salute pubblica. Il primo caso di MRSA associato alle produzioni animali e isolato da polli sani è stato pubblicato in Europa nel 2008 (Nemati et al., 2008). *S. aureus* forma un biofilm ad elevata resistenza ai trattamenti antibiotici e alla risposta immunitaria dell'ospite.



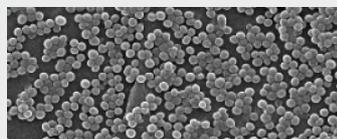
**Escherichia coli** si trova comunemente nell'intestino di uomini e animali. La maggior parte dei ceppi di *Escherichia coli* è innocua e rappresenta batteri commensali del tratto digestivo. Alcuni ceppi, come l'*Escherichia coli* produttore di tossine Shiga (STEC), possono causare gravi patologie di origine alimentare. *Escherichia coli* O157:H7 è il sierotipo STEC più importante in relazione alla salute pubblica; tuttavia, altri sierotipi sono stati spesso coinvolti in casi sporadici ed epidemie. Uno studio ha dimostrato che il 25% dei campioni di carne avicola cruda era contaminato con *Escherichia coli*, incluso un 2% contenente il ceppo patogeno O157:H7 (Akbar et al., 2014).



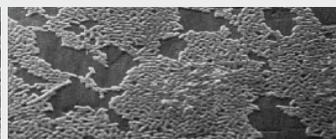
Formazione di biofilm di *Campylobacter* su una superficie plastica (Fonte: Dr Louise Salt, IFR, UK)



Biofilm di *Salmonella* su nastro trasportatore per uova (Fonte: Florence Dubois-Brissonnet, 2012 Micalis)



Microscopia elettronica a scansione di numerosi agglomerati di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (CDC)



Microscopia elettronica a scansione di un biofilm di *Escherichia coli* formato su un supporto MBEC.



## COME APPLICARE LALFILM PRO SULLE SUPERFICI DI ALLEVAMENTO?

- ✓ LALFILM PRO si presenta sotto forma di una polvere idro-dispersibile. Si raccomanda di applicare il prodotto per nebulizzazione a bassa pressione (<4 bar). Tutte le superfici interne dell'edificio devono essere trattate, compresi pavimenti, pareti, soffitti e attrezzature (gabbie, alimentatori, ecc.).
- ✓ Per un'efficienza ottimale del prodotto, i tempi di applicazione sono cruciali. La prima applicazione di LALFILM PRO deve essere effettuata dopo che le superfici sono state disinfettate, asciugate e prima che gli animali entrino nella struttura. Si consiglia di applicare LALFILM PRO 12-24 ore dopo la disinfezione e consentire un tempo minimo di contatto di 10-12 ore tra l'applicazione e l'ingresso degli animali nell'edificio per permettere ai microrganismi positivi di colonizzare l'ambiente.
- ✓ Una seconda applicazione è possibile in presenza di animali secondo necessità.
- ✓ La dose raccomandata varia da 0,1 a 0,2 g/m<sup>2</sup> di superficie calcolata da colonizzare in base alla tipologia ed alle problematiche sanitarie dell'allevamento.



## CONCLUSIONI

Le misure di biosicurezza nell'allevamento — *in primis* pulizia, detergenza, disinfezione e vuoto sanitario — incidono sul livello di pressione infettiva prima del nuovo accasamento. Il condizionamento di superfici e attrezzature tramite lo sviluppo di biofilm positivo si è rivelato un efficace strumento di integrazione ed estensione del protocollo di igiene perchè contribuisce a creare un ambiente microbico favorevole dopo la procedura di disinfezione e durante il ciclo produttivo come è stato dimostrato in allevamenti commerciali in cui il miglioramento dell'ecosistema microbico ha conseguito un impatto positivo sulla salute animale. Di conseguenza, anche le performance sono migliorate. Inoltre, i dati *in vitro* mostrano che l'approccio basato sul biofilm positivo può aiutare ad evitare la ri-colonizzazione da parte dei batteri indesiderati comunemente presenti negli allevamenti.

Nel concetto odierno di One Health, garantire un ambiente microbico sicuro durante l'intero ciclo produttivo è un dovere e, pertanto, nuovi approcci alla biosicurezza in grado di combinare la corretta disinfezione con una gestione virtuosa dell'ecosistema microbico sono attuali e incoraggianti.

### BIBLIOGRAFIA

- Akbar A., Sitar, U., Khan S., Imran A., Khan M., & Phadungchob T., and Anal A. 2014. Presence of *Escherichia coli* in poultry meat: A potential food safety threat. *International Food Research Journal*. 21:941-945.
- Alves, L. B. R. 2017. Pathogenicity of *Salmonella Gallinarum* with Deletion of *phoP* and *phoQ* Genes (SGΔphoPQ) in Commercial Birds. Master in Agricultural Microbiology - Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences - Unesp, Jaboticabal - SP.
- Briandet R., Fechner L., Naïtali M., Dreanno N. 2012. "Biofilms, quand les microbes s'organisent". France, QUAE, collection Carnet de sciences.
- Cabeca T. K., Pizzolitto A. C., and Pizzolitto Loshchagin E. 2012. Activity of disinfectants against foodborne pathogens in suspension and adhered to stainless steel surfaces. *Braz. J. Microbiol.* vol.43, n.3.
- Correge I., Fourchon P., Le Brun T., Berthelot N. 2012. "Biosecurity and hygiene in pig farms: current status and impact on technical and economic performances". *Journées Recherche Porcine, France*. 44, 101-102.
- Luyckx K., Millet S., Van Weyenberg S., Herman L., Heyndrickx, M. Dewulf J., and De Reu K. 2016. A 10-day vacancy period after cleaning and disinfection has no effect on the bacterial load in pig nursery units. *BMC Vet Res.* 12:236.
- Nemati M, Hermans K, Lipinska U, Denis O, Deplano A, Struelens M, Devriese LA, Pasmans F, Haesebrouck F. 2008. Antimicrobial resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST398. *Antimicrob Agents Chemother.* Oct; 52(10):3817-9.
- Voss-Rech, D., Vaz, C. S., Alves, L., Coldebella, A., Leão, J. A., Rodriguez, D. P., Back, A. 2015. A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. *Poult. Sci.* V. 94, p. 433-441.

**Lallemand Animal Nutrition** is committed to optimizing animal performance and well-being with specific natural microbial product and service solutions. Using sound science, proven results and knowledge, Lallemand Animal Nutrition develops, produces and markets high value yeast and bacteria products - including probiotics, forage inoculants and yeast derivatives. These innovative solutions positively benefit animal nutrition and well-being, forage management and animal environment. Lallemand offers a higher level of expertise, leadership and industry commitment with long-term and profitable solutions to move our partners Forward. Lallemand Animal Nutrition is *Specific for your Success*.

Not all products are available in all markets nor associated claims allowed in all regions.