



## **I Quaderni ZooBioDi**

**N. 2/2009**



**L'importanza delle piante medicinali  
in zootecnia:  
mercato, prospettive, nuove applicazioni**

**Evento ECM:  
Giovedì 10 Settembre 2009**

**XXI SALONE INTERNAZIONALE DEL NATURALE  
10-13 settembre 2009  
Bologna  
[www.sana.it](http://www.sana.it)**



Il Quaderno ZooBioDi N.2/2009 raccoglie i lavori presentati al convegno "L'importanza delle piante medicinali in zootecnia: mercato, prospettive, nuove applicazioni" nell'ambito del XXI Salone Internazionale del Naturale che si è tenuta a Bologna il 10 settembre 2009, presso il Quartiere Fieristico Bologna, Sala Opera.

#### **COMITATO SCIENTIFICO**

**Roberto Balducchi**, ENEA BAS-BIOTECH-BIOAGRO C.R. La Trisaia  
**Renzo Nazareno Brizioli**, Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Lazio e Toscana  
**Agostino Macrì**, Istituto Superiore di Sanità  
**Mauro Serafini**, Sapienza, Università degli Studi di Roma

#### **COMITATO ORGANIZZATIVO**

**Paola Del Serrone**, CRA - Dip. Biologia e Produzioni Animali  
**Marcello Nicoletti**, Società Italiana Fitochimica SIF  
**Marinella Trovato**, Società Italiana di Scienze e Tecniche Erboristiche, SISTE  
**Paolo Pignattelli**, Associazione Nazionale di Zootecnia Biologica e Biodinamica, ZooBioDi  
**Giovanni Giacometti**, Associazione Scientifica Internazionale Medicina Tradizionale, Complementare e Scienze Affini, OLOSMEDICA

#### **SEGRETERIA ORGANIZZATIVA**

**SISTE** Via Filargo, 38 20143 Milano, Tel.: 02/45487428 Fax: 02/4548790,  
[segreteria@sisteweb.it](mailto:segreteria@sisteweb.it)

#### **PROGETTO GRAFICO**

**Susanna Loli**, Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano.

#### **FOTO**

Archivio del Laboratorio di Botanica Farmaceutica del Dip. Di Biologia Vegetale, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Roma, Sapienza.

Tutti i diritti riservati

Copyright © 2008, ZooBioDi - Associazione Italiana di Zootecnia Biologica e Biodinamica

Pubblicazione fuori commercio

ISBN 978-88-903475-2-8



## **Associazione Italiana di Zootecnia Biologica e Biodinamica**

L'Associazione Italiana di Zootecnia Biologica e Biodinamica è un'associazione prettamente scientifica, apolitica, senza fini di lucro. E' nata a Milano nel 1999.

Gli Obiettivi dell'Associazione sono:

- a) tutelare la promozione e la valorizzazione della zootecnia biologica e della zootecnia biodinamica in ogni campo della sua produzione;
- b) rappresentare il settore della zootecnia biologica e della zootecnia biodinamica nei confronti delle istituzioni, delle amministrazioni delle organizzazioni economiche, politiche, sindacali e sociali, a livello locale, nazionale, comunitario ed internazionale;
- c) tutelare il consumatore e la professionalità dei produttori associati;
- d) stabilire rapporti con le autorità italiane e comunitarie preposte al settore sia della zootecnia che dell'agricoltura biologica e non, e di collaborare con Enti pubblici e privati, Scuole ed Università sui problemi della formazione e dell'insegnamento della zootecnia biologica e biodinamica e di materie affini per l'organizzazione, diretta o indiretta, di ricerche e studi, dibattiti e convegni su temi tecnico-scientifici, economici e sociali d'interesse nel settore;
- e) promuovere il coordinamento di iniziative sociali, legali, legislative ed associative per l'affermazione della zootecnia biologica e biodinamica, nonché per la tutela delle attività degli associati sul piano economico, giuridico-normativo, tecnico e sindacale.

I Quaderni ZooBioDi sono pubblicazioni curate dalla commissione scientifica dell'Associazione Italiana di Zootecnia Biologica e Biodinamica e costituiscono un'iniziativa editoriale finalizzata alla diffusione di materiale di ricerca e *review*, di specifico interesse per la zootecnia biologica.

Tutti i volumi de I Quaderni ZooBioDi sono consultabili e scaricabili *on line* dal sito [www.zoobiodi.it](http://www.zoobiodi.it).



## Con il patrocinio:

- Ministero per le Politiche Agricole, Alimentari e Forestali
- Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura CRA
- Università di Bologna *Alma Mater Studiorum* Facoltà di Medicina Veterinaria
- Associazione Nazionale Medici veterinari Italiani A.N.M.V.I.
- Società Italiana Scienze Veterinarie SISVet
- Società Italiana delle Scienze e delle tecniche Erboristiche S.I.S.T.E.



## Con la partecipazione di:

Associazione Fitoterapia "Mario Resta" di Todi PG



## Con il contributo di:

XXI Salone Internazionale del Naturale





## INDICE GENERALE

PREFAZIONE – M. Serafini.....	1
L' USO DELLE PIANTE MEDICINALI IN ZOOTECNIA, UNA REALTÀ IN CRESCITA - P. Pignattelli.....	2
INDAGINE CONOSCITIVA NELLA REGIONE LAZIO SULL'USO DELLE PIANTE MEDICINALI IN ZOOTECNIA - P. Del Serrone, M. Nicoletti, F. Biscardi, G. Palazzino, M. Serafini.....	8
IL PROBLEMA DEGLI INSETTI VETTORI DI MALATTIE - R. Bellini.....	17
UTILIZZO DI ESTRATTI NATURALI IN AMBITO AGRICOLO-ZOOTECNICO - A. Tava, T.M.P. Cattaneo .....	21
PIANTE MEDICINALI AROMATICHE COME ANTIVIRALI: ATTIVITÀ NEI CONFRONTI DI VIRUS DI INTERESSE VETERINARIO - A. Scagliarini, S. Prosperì .....	23
IMPIEGO DEL TIMOLO IN <i>APIS MELLIFERA</i> PER LA LOTTA ALLA VARROA - N.R. Brizioli, E. Marinelli, A. Giacomelli, F. Filippetti, G. Formato.....	28
IMPIEGO DELLA FITOTERAPIA NELL'ALLEVAMENTO DEL BOVINO DA LATTE: ESPERIENZE SPERIMENTALI PER IL TRATTAMENTO E LA PREVENZIONE DELLA MASTITE - G. Giacinti, C. Boselli, F. Filippetti, S. Amatiste, B. Ronchi, N. Brizioli.....	36
UTILIZZO DI OLI ESSENZIALI NELL'ALLEVAMENTO DELLE LATTIFERE COME TRATTAMENTO PREVENTIVO PER LA MASTITE - A.M. Ferrini, S. Amatiste, R. Rosati, M.C. Montel, P. Aureli.....	40
MALATTIE EMERGENTI DEGLI ANIMALI CONDIZIONATE DA FATTORI AMBIENTALI E CLIMATICI - R. N. Brizioli, F. Filippetti..	43
POTENZIALITÀ E LIMITI DELLE MEDICINE NON CONVENZIONALI (MNC) NELLA GESTIONE SANITARIA DEGLI IMPIANTI DI ACQUACOLTURA - E. Guandalini, V. Hull.....	44
PIANTE OFFICINALI IN ZOOTECNIA: FARMACI VEGETALI O ADDITIVI PER MANGIMI - G. Palazzino, G. Palazzino, F.R. Gallo, G. Multari, E. Federici .....	51



L'ESPERIENZA DELL'IZS DELL'ABRUZZO E DEL MOLISE "G. CAPORALE" NELLE ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA E CONTROLLO DELLE MALATTIE TRASMESSE DA VETTORI - R. Lelli, I. Pascucci, R. Bruno, S. Forcella, S. Iannetti, F. Sauro, P. Calistri..	57
NUOVE PROSPETTIVE DI UTILIZZO DEL NEEM CAKE COME LARVICIDA PER LA LOTTA A NUOVI INSETTI VETTORI IMPORTANTI PER LA SICUREZZA ZOOTECNICA IN ITALIA - S. Mariani, A. D'Andrea.....	62
LA FITOTERAPIA UTILIZZATA IN ZOOTECNIA E TECNICHE IDENTIFICATIVE - F.R. Gallo, G. Multari, G. Palazzino, E. Federici....	68
GESTIONE DELLE FERITE E CONTROLLO DELLE MIASI CON SOSTANZE NATURALI IN VETERINARIA - F. Carnevali, S. Andrew van der Esch.....	74
DIVERSI USI DI PRODOTTI A BASE DI NEEM ( <i>AZADIRACHTA INDICA</i> (A. JUSS) IN ZOOTECNIA: LEGGENDE E FATTI - S. Andrew van der Esch , F. Carnevali.....	79
IMPIEGHI ZOOTECNICI DELLE PIANTE OFFICINALI: NUOVE PROSPETTIVE PER L'AGRICOLTURA ITALIANA? - R. Contillo, P. Del Serrone.....	84
SITI DI SVILUPPO LARVALE DI <i>CULICOIDES</i> (DIPTERA, CERATOPOGONIDAE) IN SARDEGNA - C. Foxi, G. Delrio.....	89
INDICE DEGLI AUTORI.....	95



## **PREFAZIONE**

**Prof. Mauro Serafini**

*Facoltà di Farmacia, Sapienza, Università di Roma*

L'uso delle piante officinali in zootecnia è storicamente diffuso in Italia da tempo, ma scientificamente riconosciuto e studiato da poco.

D'altra parte, il recupero dell'uso delle piante officinali in terapia, anche per l'uomo, è acquisizione recente e oggetto di vaglio scientifico da pochissimo.

La necessità di sgombrare il terreno da incrostazioni che per anni ne hanno ostacolato la diffusione ha reso necessario affrontare problematiche quali il controllo di tutta la filiera della produzione, verificando le possibili contaminazioni e sofisticazioni.

In campo zootecnico, le recenti disposizioni normative che hanno reso più controllato l'uso di farmaci di sintesi nell'allevamento e nelle produzioni ad esso collegate, ha dato nuovo vigore all'utilizzo di prodotti naturali in questo settore.

E' quindi estremamente opportuno questo convegno, che vuol dare informazione, sistematicità scientifica ad un settore che può divenire traino per tutto il mercato agricolo italiano.

E' anche estremamente importante l'obbiettivo della "formazione", che diviene fondamentale affinché le conoscenze non vadano disperse, ma diventino semi per una crescita degli operatori del settore.



# L'USO DELLE PIANTE MEDICINALI IN ZOOTECNIA, UNA REALTA' IN CRESCITA

**Paolo Pignattelli**

*Presidente Associazione Italiana di Zootechnia Biologica e Biodinamica-Zoobiologi  
Dipartimento di Scienze Veterinarie, Sezione di Zootechnia Veterinaria, Milano  
Vicepresidente Associazione Scientifica Internazionale di Medicina Tradizionale,  
Complementare e Scienze Affini (OLOSMEDICA), Saronno VA*

## **RIASSUNTO**

*Vengono trattati gli aspetti più salienti della moderna Fitoterapia che sempre più si avvale delle tecnologie più avanzate dell'agricoltura (metodo biologico) delle produzioni alimentari e farmaceutiche. Vengono ripercorsi i principali anelli della filiera produttiva fino all'ottenimento e controllo del fitocomplesso e delle relative fitopreparazioni. Successivamente vengono elencate i principali campi di applicazione in zootechnia-veterinaria ed infine viene esposto ed analizzato lo stato dell'arte del settore e le prospettive di sviluppo.*

**Parole chiave.** Zootechnia, piante medicinali, fitoterapia, prospettive.

## **INTRODUZIONE**

Parlare dell'uso delle piante medicinali in zootechnia ed in medicina veterinaria alla fine del 2009 sembrerebbe fin troppo ovvio, ma in Italia non è proprio così, quello che in Europa è ormai consuetudine da noi è invece un'eccezione e dobbiamo essere veramente grati agli organizzatori dell'odierna giornata di studio sull'*importanza delle piante medicinali in zootechnia: mercato, prospettive, nuove applicazioni*, dell'opportunità che ci è offerta.

Com'è noto la Fitoterapia rientra nel grande gruppo delle medicine alternative o complementari o dolci o naturali (MNC) ed il loro interesse sta divenendo una realtà concreta e consolidata anche in campo zootecnico e veterinario (MNCV). Tuttavia, mentre assistiamo ad un aumento delle iniziative, pubbliche e private, per implementare le conoscenze, l'informazione, ma soprattutto l'applicazione della MNCV, si osserva in ambito universitario un modesto interesse al problema dal momento che la materia non è oggetto d'insegnamento ufficiale, salvo rare eccezioni, ed al tempo stesso le diverse Scuole che insegnano la MNCV non sono state ancora ufficialmente riconosciute. In ogni caso la Fitoterapia in veterinaria è seconda solo all'Omeopatia per interesse ed utilizzo.

La Fitoterapia, termine composto da "fito" (dal greco *phiton* = pianta) e "terapia" (dal greco *théōsapeia* = cura) equivale a "curarsi con le piante" e le sue origini si perdono nella notte dei tempi. Fu Ippocrate (460-370 a.C.) il primo a catalogare ben 234 specie di piante e a descriverne le rispettive proprietà terapeutiche. Circa cinquecento anni dopo, Dioscoride, medico e "farmacologo" greco, descrisse oltre 500 piante ed il suo contemporaneo Plinio il Vecchio citò un migliaio di piante medicamentose nella sua *Historia Naturalis*. Tuttavia spetta a Claudio Galeno (129-201 d.C.) il più famoso medico dell'antichità, il merito di aver descritto veri e propri formulari erboristici che





sono stati la base di tutta la medicina del Medioevo. Ancor oggi si usano i termini “ricetta o prescrizione galenica” e “medicamento o preparazione galenica”.

A partire dall’undicesimo secolo si registra un notevole arricchimento delle conoscenze sulle piante medicinali grazie all’aumento degli scambi commerciali e culturali in particolare con i paesi arabi, comunque, ai monaci si deve il merito d’aver conservato e tramandato l’antico sapere, inclusa la fitologia, la fitoterapia, le farmacie e l’erboristerie.

Il numero di piante medicinali conosciute supera le 1.500 all’inizio del Rinascimento e continua a crescere nei secoli successivi. Nell’Ottocento le specie vegetali conosciute erano salite a circa 30.000, oggi sono poco più di 125.000, ma sicuramente sono almeno il triplo, di queste oltre 5.000, fra specie e varietà, sono generalmente considerate medicinali. Contemporaneamente, sono migliorate le tecniche di semina, coltivazione, raccolta, conservazione, preparazione e trasformazione delle erbe a fini terapeutici, i cui principi sono in buona parte validi ancor oggi, naturalmente, eseguite con tecnologie ed apparecchiature molto diverse (Petrangeli C., 2003; Pignattelli P., 2007). Molte di tali sostanze sono state isolate, purificate, cristallizzate ed impiegate dalla moderna chimica farmaceutica allo stato di molecola pura per riprodurle e trasformarle artificialmente. Questa tendenza a separare le singole componenti dividendole in "costituenti attivi" e "costituenti inerti", esaltando il "principio della molecola pura", è dettata da motivazioni economiche, pratiche e di risposta ad una normativa sempre più severa e restrittiva, che tende a privilegiarle, rispetto all’impiego integrale delle piante officinali.

Tuttavia, un principio attivo isolato da una pianta non può sempre sostituire il complesso dei componenti della pianta stessa, perché le sostanze cosiddette "inerti": enzimi, amidi, cere, albumine, mucillagini, gomme, resine, pigmenti, oli essenziali, sali minerali, ecc. oltre ad espletare vari sinergismi possono modificare l’assorbimento, l’attività e persino la tossicità dei componenti "attivi" stessi. Le piante officinali intere o le loro preparazioni erboristiche danno effetti terapeutici diversi e spesso più complessi, di quelli ottenibili con l’uso dei soli principi attivi contenuti in quelle stesse piante. Attualmente l’identificazione di una droga si avvale anche di altre tecniche, in particolare le diverse tecniche cromatografiche che permettono di avere una sorta di *carta d’identità chimica* della droga (Fig.1).

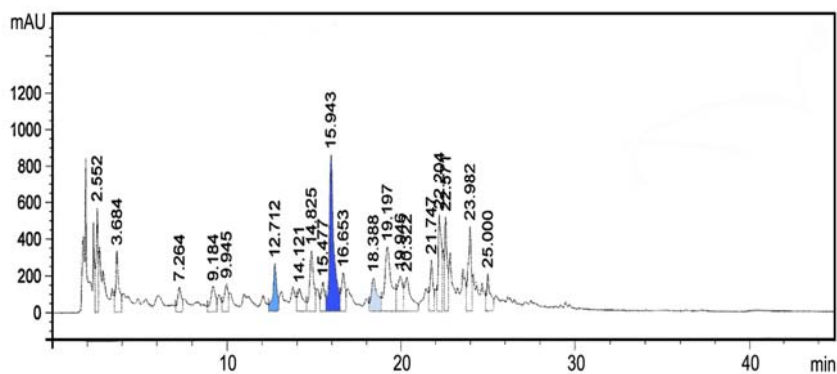


Fig. 1



Il *fitocomplesso* nella sua globalità, quindi, è il responsabile delle proprietà salutari di una pianta medicinale. La rivalutazione che recentemente sta interessando la fitoterapia è da attribuirsi alle reali attività medicamentose degli estratti ottenuti dalle piante officinali ed al continuo espandersi delle conoscenze scientifiche sui loro effetti nell'uomo e negli animali (Scozzoli M., 2007). Ricapitolando, in Fitoterapia vengono usate le piante tal quali o parti di esse (fiori, foglie, radici, corteccia, frutti, ecc.) e loro derivati, come, per esempio, gli oli essenziali, per ottenere rimedi che si distinguono nettamente, per la loro complessa composizione, da quelli ottenuti per sintesi. Infine va ricordato che circa il 25 % dei farmaci moderni deriva dal regno vegetale, come chinina, chinidina, digossina, morfina, scopolamina, tamoxifene, ecc. (Sannia A., 2003; Scozzoli M., 2008).

### **FITOCOMPLESSI, E FITOPREPARAZIONI**

Le fitopreparazioni sono le forme medicamentose con cui le piante officinali, loro parti e relativi derivati, vengono somministrate agli animali e all'uomo. In pratica le fitopreparazioni sono molteplici e richiedono per la loro preparazione tecniche di allestimento specialistiche, complesse e in costante evoluzione che coinvolgono l'agricoltura, l'alimentare e la farmaceutica. Dalla scelta e preparazioni del terreno, sua concimazione, diserbo, ecc. sempre con metodo biologico, alla scelta dei "semi" (selezione, purezza, peso, germinabilità, ecc.), dal monitoraggio dello sviluppo alla raccolta, che deve essere effettuata nel cosiddetto "*tempo balsamico*", dall'identificazione all'analisi qualitativa del principale/i principio/i attivo/i del fitocomplesso compresa la "sicurezza" (assenza di contaminanti: metalli pesanti, pesticidi, erbicidi, aflatossine, ecc.). Segue il processo produttivo che, a seconda della pianta o delle sue parti è caratterizzato da varie fasi (essiccamento, estrazione, ecc.) e via via dalle altre fasi di lavorazione, codificate dalle farmacopee, che variano notevolmente a seconda della forma farmaceutica che si vuole ottenere (polvere, estratto, liofilizzato, liquido, ecc.) e della forma commerciale (compressa, bustina, blister, liquido, spray, ecc.).

D'importanza basilare sono i controlli che vengono effettuati a tutti i livelli della catena produttiva mediante le più moderne tecniche ed apparecchiature di laboratorio, che consentono di ottenere fitocomplessi standardizzati, quali-quantitativamente, soprattutto a livello del/i principio/i attivo/i.

Fanno parte integrante di questo capitolo anche gli *oli essenziali* che in umana si preferisce trattarli in Aromaterapia. Si tratta d'estratti aromatici ricavati da fonti naturali (fiori, frutti, semi, radici, ecc.) per semplice spremitura o pressione, come nel caso della maggior parte degli oli agrumari (limone, arancio, bergamotto, ecc.) oppure mediante distillazione in corrente di vapore, come la lavanda, il timo, la santoreggia, l'origano, la cannella, la maggiorana, la camomilla, la melaleuca, il cajeput, ecc.

La moderna Fitoterapia deve rispondere alle norme che riguardano le produzioni agricole con metodo biologico (Reg. CEE 1078/99, 2092/91, Dir. CEE 1804/99, D.M. 4 agosto 2000) a quelle delle produzioni alimentari vegetali e quelle delle preparazioni farmaceutiche e relativi controlli ed infine alle norme di buona fabbricazione e di controllo qualità.



Le fitopreparazioni da singola pianta possono essere utilizzati negli animali d'interesse zootecnico e non, singolarmente, ma, ancor meglio, in miscele appositamente studiate per sfruttare *in toto* gli effetti sinergici dei diversi principi attivi.

### **APPLICAZIONI PRATICHE DELLA FITOTERAPIA IN ZOOTECCIA E VETERINARIA**

Le applicazioni in zootecnia ed in medicina veterinaria delle piante medicinali e dei loro derivati, oli essenziali compresi, sono molteplici e legate all'attività specifica (antinfiammatoria, antibatterica, antifungina, antiparassitaria, antinfiammatoria, diuretica, colagoga, ecc.) dei principi attivi in esse contenuti (fitocomplesso) e dai diversi sinergismi fra gli stessi (fitopreparazioni), (Aiello N. *et al.*, 1999; Bauer R., 1999. Camporese A., 1999). Per esempio, se prendiamo fra i vari componenti degli oli essenziali i fenoli e di cui è ricco anche l'Origano, questi si evidenziano per la loro azione antibatterica nei confronti dei Gram positivi, Gram negativi e l'attività antifungina. Un altro esempio molto interessante ci è offerto dalla Yucca, pianta dalle innumerevoli e sorprendenti possibilità d'impiego in medicina veterinaria ed in zootecnia, compresa l'acquacoltura. Le sue diverse preparazioni trovano impiego nei *pet*, cavallo incluso, e negli animali da reddito, allevamento intensivo incluso, e comprendono la cura di varie patologie (artriti, endoparassitosi, ascite nei broiler, ecc.), ma anche l'implementazione delle performance zootecniche quali-quantitative, dal miglioramento del metabolismo ruminale di bovini ed ovini alla riduzione dei cattivi odori (flautolenza inclusa) delle feci dei cani e dei gatti (Clayton H.M. *et al.*, 2002; Kaya S. *et al.*, 2003; Gaber M.M., 2006; Kaya S. *et al.*, 2006). Non è questa la sede per formulare un elenco di tutte le principali piante medicinali e delle possibili proprietà terapeutiche e profilattiche, ci limiteremo a sintetizzare (Tabella 1) le principali aree d'intervento in zootecnia ed in medicina veterinaria nei vari comparti zootecnici.

Ricapitolando, la Fitoterapia trova oggi larga applicazione anche nel nostro Paese, non solo negli animali da compagnia, ma anche negli animali d'interesse zootecnico (trattamento singolo e/o di massa) sia nella terapia e prevenzione di moltissime patologie, ecto ed endoparassitosi incluse, sia nel miglioramento delle performance zootecniche quantitative e qualitative. Oltre agli esempi ricordati possiamo affermare che, dai volatili ai conigli (Scozzoli M., 2002; Righi *et al.*, 2006; Ferrazzi V. *et al.*, 2006; Quarantelli A. *et al.*, 2006), dai grandi e piccoli ruminanti ai suini (Grossi A. *et al.*, 2003; Tedesco D. *et al.*, 2004) dai cavalli ai *pet*, ecc. praticamente non esiste un solo settore della medicina veterinaria in cui non possa trovare pratica applicazione la Fitoterapia (Pignattelli P., 2008).

### **OSSERVAZIONI E CONCLUSIONI**

La moderna medicina, sia umana sia veterinaria, è figlia dell'antica medicina derivante dall'uso delle erbe medicinali. Il progresso tecnologico ha reso molto più sicuro l'impiego delle erbe medicamentose e ne ha allargato il campo d'applicazione. Tuttavia, va ricordato che non mancano le critiche, anche autorevoli, sulla "sicurezza" non tanto dei principi attivi, se considerati singolarmente, ma degli altri costituenti: enzimi, amidi, cere, albumine, mucillagini, gomme, resine, pigmenti, oli essenziali, sali minerali, ecc. parte integrante del fitocomplesso in grado di sinergizzare con il principio "base", ma per la loro presenza, spesso elevata, sono difficili da identificare e da classificare la loro



reale attività. Per quanto attiene al campo d'applicazione, sia negli animali da compagnia, sia in quelli d'interesse zootecnico, non ci sono praticamente limiti, anche se sono utili soprattutto come antibatterici, antimicotici e disinfettanti con il vantaggio di una riduzione del rischio che si instauri il meccanismo della resistenza. La Fitoterapia consente, a parità di risultati, una riduzione dei costi rispetto alla medicina convenzionale e soprattutto una notevole riduzione dell'impatto ambientale e, se usate negli animali produttori di alimenti (carne, latte, uova, ecc.), una ridotta presenza, se non assenza, di residui nelle derrate stesse. Va anche ricordato che, pur essendo millenario l'uso delle erbe medicinali nella cura di malattie e sindromi varie dell'uomo e degli animali, non si tratta di una panacea per tutto e per tutti, come pure va sconsigliato il *fai da te* da parte dei proprietari e conduttori di animali, così come l'eccesso di ortodossia da parte dei veterinari. Il mercato italiano della MNCV è in costante aumento, ma fornire delle cifre, mancando un serio monitoraggio e relative statistiche di produzione e di vendita, è impossibile. Pertanto ci limiteremo ad ipotizzare lo stato dell'arte esprimendolo in percentuali. Fatto 100 il totale uso della MNCV si ritiene che l'Omeopatia si collochi fra il 70-80% rispetto alle altre, con qualche eccezione a seconda del comparto zootecnico interessato; tali percentuali aumentano del 5-10% nell'allevamento biologico. La stessa percentuale detiene l'Agopuntura nei cavalli, mentre la Fito-aromaterapia è impiegata per circa il 50% nell'allevamento avicolo, cunicolo e suino convenzionale, e supera il 70% in quello biologico (Pignattelli P., 2008). Da quanto esposto, anche se in maniera sommaria, è possibile prevedere un futuro molto roseo anche in zootecnia ed in medicina veterinaria dell'uso delle erbe medicinali. In conclusione la Fitoterapia, come tutta la MNCV, può rappresentare per il veterinario, per l'allevatore e per il proprietario d'animali una valida scelta e/o integrazione alla MCV.

#### **BIBLIOGRAFIA.**

**Aiello N.** & **Bezzi A.**, *La coltivazione delle Echinacee destinate alla Fitoterapia*. Erboristeria domani. Studio Edizioni, giugno 1999. **Bauer R.**, *La ricerca nel campo dell'immunomodulazione*, Erboristeria domani, Studio Edizioni, novembre 1999. **Camporese A.**, *Oli essenziali e malattie infettive*. Ed. Tecniche Nuove, 1999. **Clayton H.M.**, Almeida P.E., Prades M., Brown J., Tessier C. & Lanovaz J.L. *Double-Blind Study of the Effects of an Oral Supplement Intended to Support Joint Health in Horses with Tarsal Degenerative Joint Disease*. A.A.E.P. Proceedings, 2002, vol. 48, 314-317. **Ferrazzi V.**, Castellazzi A., Gallazzi D. & Grilli G., *Controllo dell'istomonosi in tacchini allevati all'aperto*. Atti V Convegno Nazionale dell'Associazione Italiana di Zootecnia Biologica e Biodinamica, 43-46, Arezzo, 31 marzo, 2006. **Gaber M.M.**, *The Effects of Plant-protein-based Diets Supplemented with Yucca on Growth, Digestibility and Chemical Composition of Nila Tilapia (Oreochromis niloticus) Fingerlings*. Journal of the World Aquaculture Society, 2006, 37, 3, 74-78. **Grossi A.**, Lacetera N. & Ronchi B., *Administration of Thuja occidentalis in homeopathic dilution in goats vaccinated against bluetongue virus: a preliminary study*. Journal of Animal and Feed Sciences, 2004, 13, Suppl. 1, 593-596. **Kaya S.**, Erdogan Z. & Erdogan S., *Effect of Different Dietary Levels of Yucca schidigera Powder on the Performance and Egg Yolk Cholesterol of Laying Quails*. Journal of Veterinary Medicine, 2003, 50, 14-18. **Kaya S.**, Keskin M. & Gul S., *Effects of Yucca schidigera Extract (Dk 35 Powder) on Awassi Lambs Performance*. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2006, 5, 1, 57-59. **Petrangeli C.**, *Medicina alternativa, applicazioni pratiche e risultati*, Atti 1° Convegno Internazionale di Zootecnia Biologica (ZooBioDi), Arezzo 27-28 marzo 2003. **Pignattelli P.**, *Medicina Non Convenzionale Veterinaria*, Edagricole-Sole 24 Ore,



Bologna, 2007. **Pignattelli P.**, *Le altre medicine non convenzionali*, Atti Corso Introduttivo alla Medicina Non Convenzionale Veterinaria. Ed. Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche – Brescia, 2007. **Pignattelli P.**, *Le diverse fitoterapie in medicina veterinaria: storia, lo stato dell'arte, le prospettive e normativa* Convegno su “Fitoterapia in Medicina Veterinaria”, Aula Magna, Facoltà di Medicina Veterinaria, 19 novembre 2008- Lodi. **Righi F.**, Bruni R., Santini S.E., Renzi M. & Quarantelli A. *La supplementazione delle galline ovaiole con silimarina influenza l'accumulo di lipidi nelle uova*. 1° Convegno nazionale ARNA. 1. 2006. **Sannia A.**, *Fitoterapia moderna, Teoria e Pratica*, Vol. I e II, SEP Editrice, Milano, 2003. **Scozzoli M.**, *La fitoterapia e le applicazioni nell'allevamento biologico*, Atti tavola rotonda su “Medicina alternativa in campo avicunicolo”. Forlì, 05, 10, 2002. **Scozzoli M.**, *Fitoterapia e sue applicazioni pratiche in Medicina Veterinaria*, Atti Corso Introduttivo alla Medicina Non Convenzionale Veterinaria. Ed. Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche – Brescia, 2007. **Scozzoli M.**, *Fitoterapia negli animali da reddito*. Convegno su “Fitoterapia in Medicina Veterinaria”, Aula Magna, Facoltà di Medicina Veterinaria, 19 novembre 2008- Lodi. **Tedesco D.** & Galletti S., *Proprietà epatoprotettive dell'estratto di *Sylibum marianum* in medicina veterinaria*. Congresso della Società Italiana di Scienze Veterinarie. vol. 58, 257, 2004. **Valnet J.**, *The Practice of Aromatherapy*. C.W. Daniels editor. 1982.

<p><b>BOVINI E OVICAPRINI</b> <i>Prevenzione e Terapia:</i></p> <p>Mastiti Leucocitosi nel latte Disintossicazione fegato Ragadi e lesioni del capezzolo Dermatomicosi Edema da parto Patologie del puerperio Diarree Patologie respiratorie Lesioni da Ectima contagioso Parassitosi esterne</p>	<p><b>EQUINI</b> <i>Prevenzione e Terapia:</i></p> <p>Patologie respiratorie Diarree Patologie della pelle Parassiti esterni</p>	<p><b>CONIGLIO</b> <i>Prevenzione e Terapia:</i></p> <p>Patologie infettive Diarree Patologie respiratorie Patologie della pelle Stimolazione del calore nella F.A. e F.N. Miglioramento della fertilità Parassitosi esterne</p>
	<p><b>SUINI</b> <i>Prevenzione e Terapia:</i></p> <p>Diarree Patologie respiratorie Patologie della pelle Eventi stressanti (svezzamento, messa a terra, trasporto, ecc.) Parassitosi esterne</p>	<p><b>AVICOLI</b> <i>Prevenzione e Terapia:</i></p> <p>Patologie infettive Patologie da Protozoi (Coccidiosi, Tricomoniasi e Istomoniasi) Diarree Patologie respiratorie Parassitosi esterne</p>

**Tab. 1-** Fitoterapia in Zootecnia e Medicina Veterinaria. Principali aree d'intervento



## INDAGINE CONOSCITIVA NELLA REGIONE LAZIO SULL'USO DELLE PIANTE MEDICINALI IN ZOOTECNIA

Paola Del Serrone<sup>1</sup>, Marcello Nicoletti<sup>2</sup>, F. Biscardi<sup>2</sup>, G. Palazzino<sup>3</sup>, Mauro Serafini<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro Prod. carni e Miglior. genetico (PCM), Dip. Biologia Animale, Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura (CRA), Monterotondo Roma

<sup>2</sup>Dip. di Fisiologia e Farmacologia, Univ. degli Studi "Sapienza", Roma

<sup>3</sup>Dip. del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

<sup>4</sup>Dip. Biologia vegetale, Università degli Studi "Sapienza", Roma

### **OBIETTIVO**

*Illustrare i risultati di un'indagine condotta nell'agro pontino (Regione Lazio) sull'interesse, la conoscenza ed il reale uso delle piante officinali/ fitoderivati da parte di Veterinari ed Allevatori.*

**Parole chiave:** Medicina Veterinaria non Convenzionale (MVnC), fitoterapici, fitoderivati, piante officinali.

### **L'Agricoltura nel terzo millennio**

La normativa sull'agricoltura eco-compatibile prende corpo nell'ambito delle politiche ambientali della UE. Con essa si sviluppa ed assume dignità legislativa una nuova forma di produzione agricola, detta in Italia biologica, in Gran Bretagna organica e altrove ecologica, nata da motivazioni alimentari ed etiche con obiettivi di miglioramento della vita umana e dell'ambiente, rispetto a coltivazioni di tipo industriale ed intensiva. Questo sistema agricolo prevede oltre alla lotta biologica, quella integrata e il divieto di coltivazione di piante transgeniche.

I prodotti biologici di origine animale hanno una storia più recente rispetto a quelli di origine vegetale. Il motivo di questo ritardo è riconducibile alla complessità ed alla maggiore durata del ciclo per i processi produttivi zootecnici. Ciò nonostante, il ritmo alla conversione degli allevamenti si è recentemente accelerato sotto la spinta della domanda dei consumatori che sono sempre più alla ricerca di prodotti di qualità e con maggiori garanzie dal punto di vista igienico-sanitario.

In Italia, dai dati disponibili sull'agricoltura biologica fino al 2001, si registra una crescita di questo settore in termini di superficie coltivata e numero di aziende, che consiste in un ampliamento della base produttiva e del numero delle imprese alimentari che utilizzano il prodotto biologico come materia prima nel processo di trasformazione industriale. Permane, invece, una differenziazione nella distribuzione degli operatori sul territorio nazionale: nel meridione si concentrano oltre i 2/3 dei produttori, nelle regioni del centro-Nord si localizzano i 2/3 dei trasformatori delle produzioni biologiche ed il 90% degli importatori (Biobank, 2001). Della superficie coltivata con metodi di produzione biologica quasi il 70% è destinata a colture tipicamente estensive,



principalmente localizzate nel meridione ove sono in prevalenza le colture foraggere avvicendate (32% della SAU biologica totale), prati e pascoli (19,5%) e cereali (18%). Per quanto riguarda la zootecnia biologica, invece, alla fine del 2001 le aziende zootecniche che avevano chiesto di aderire al sistema di certificazione nazionale erano 3.506, per la maggior parte aziende zootecniche miste (1621 unità, pari al 46% del totale), seguite da quelle da carne (1255) e da latte (630). La consistenza dei capi allevati si ripartisce in: 331.000 bovini (latte e carne), 328.000 ovi-caprini, 25.000 suini, 649.000 avicoli, 1.700 conigli e 48.000 arnie (Istituto Nazionale Economia Agraria, 2001).

### **Zootecnia e piante officinali**

La zootecnia biologica prevede esplicitamente l'impiego della fitoterapia per curare gli animali. In zootecnia, le piante officinali vengono usate principalmente nell'alimentazione degli animali come materie prime, o come additivi, e/o coadiuvanti tecnologici per mangimi, ma da tempo è noto il loro impiego anche a fini terapeutici (Salvi *et al.*, 2002; Sato and Myiata, 2000; Savoini *et al.*, 2000; Viegi e Pieroni, 2000a, 2000b; Viegi *et al.*, 2003). Negli ultimi decenni lo studio dei prodotti naturali si è intensificato fino a definire la struttura, l'attività biologica e la biodisponibilità delle sostanze naturali, aprendo la strada alla loro utilizzazione, validata sulla base delle evidenze scientifiche, a diversi settori quali quello nutraceutico, salutistico, fitoveterinario ed agricolo (Del Serrone e Galeffi, 2000; Niezen *et al.*, 2002; Del Serrone *et al.*, 2005a), influenzato quest'ultimo dall'evoluzione nell'allevamento.

Nel settore zootecnico, data la pressante richiesta di performance produttiva, l'allevamento intensivo e la selezione genetica spinta hanno causato profondi cambiamenti nelle filiere zootecniche e in particolare nelle diete somministrate agli animali, con una forte riduzione delle quote foraggere e una conseguente drastica diminuzione dell'apporto di principi attivi vegetali naturali (De Santis *et al.*, 2005b). La predilezione data all'aspetto nutrizionale ha progressivamente impoverito l'impiego integrante di numerose specie vegetali capaci di produrre un gran numero di molecole biologicamente attive con spiccata attività antimicrobica antiossidante ed immunostimolante fondamentali per il benessere e per la resistenza alle malattie dell'animale (Park *et al.*, 2000; Dorman, Deans., 2000; Cheng *et al.*, 2000; Rahua *et al.*, 2000; Tedesco, 2001; Liu *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2003; Martin-Nizard *et al.*, 2003; Diaz *et al.*, 2004). Inoltre, l'uso di erbe e/o estratti, intesi come fonte di metaboliti secondari con particolari attività biologiche, ha come obiettivo oltre il benessere animale, anche quello di produrre alimenti di origine animale privi di residui di composti chimici di sintesi in modo da evitare, per esempio, l'insorgenza dell'antibiotico resistenza (Del Serrone *et al.*, 2007).

In Italia, in particolare, è soprattutto negli allevamenti intensivi che ci sono delle vere e proprie emergenze sanitarie. Per esempio, fra le patologie infettive che colpiscono maggiormente i bovini, le infezioni della ghiandola mammaria e la conseguente mastite sono certamente fra le più frequenti e diffuse. Quando insorge la mastite non resta che un rapido intervento terapeutico con gli antibiotici usati localmente e/o per via sistemica per una durata di 2-4 giorni. Questo implica una sospensione della consegna del latte per un ulteriore periodo di 2-5 giorni e comunque la quantità di latte prodotta giornalmente dalla bovina raramente tornerà ai livelli produttivi antecedenti l'evento



patologico. Per questi e per altri motivi la mastite è una delle cause più importanti di riforma in un allevamento di vacche da latte. E' facile intuire come il costo di tale patologia sia elevatissimo.

Da stime fornite da alcune case farmaceutiche ogni anno in Italia risultano utilizzati per la terapia della mastite in lattazione 4 milioni e mezzo di tubetti antibiotici antimastitici specifici per il trattamento locale e 4.000.000 di tubetti per la terapia e la prevenzione in asciutta ai quali devono aggiungersi gli antibiotici usati per vie di somministrazione generali come l'intramuscolare o endovenosa (Bertocchi, 2007). L'uso degli antibiotici per la terapia della mastite presenta molti limiti ed altrettanti rischi. I limiti sono connessi alla diversa sensibilità verso le molecole antibiotiche delle numerose specie e ceppi batterici coinvolti in tale patologia e alla difficoltà che le preparazioni farmaceutiche hanno ad agire in un ambiente come la ghiandola mammaria, che presenta molti ostacoli (barriera emato-mammaria, composizione e acidità del latte, ecc.) alla diffusione ed all'azione dei principi attivi. I rischi sono anche collegati alla contaminazione di alimenti per l'uomo, allo sviluppo di resistenze batteriche, alla contaminazione ambientale, nonché ad effetti negativi sulla idoneità alla trasformazione del latte prodotto da bovine affette da mastite.

L'impiego di sostanze naturali di origine vegetale potrebbe, quindi, rappresentare una valida alternativa all'impiego degli allopatrici, considerando che numerose sostanze di origine vegetale hanno evidenziato una spiccata attività antimicrobica (Mellor, 2000; Del Serrone *et al.*, 2005a), come nel caso di molti composti fenolici

A tutt'oggi, peraltro, non esistono fitoterapici registrati in zootecnia. Il termine fitoterapico è la traduzione di Herbal Medicinal Products data dal Herbal Medicinal Products Working Party (HMPWP) (oggi sostituito dal Committee on Herbal Medicinal Product o HMPC) dell'EMA (European Medicines Agency), creato nel 1997 per l'esigenza di armonizzare e regolamentare a livello europeo l'immissione in commercio di prodotti medicinali a base di piante (Mason, 2000).

### **Il punto di vista dei medici veterinari e degli allevatori**

Attualmente, la profilassi nella zootecnia biologica, in accordo alla attuale normativa (Reg. CEE 2078/92 Reg. CEE 2092/91, Reg. CEE n°1804/1999, D.M. 4 agosto 2000, D.M. 29/3/2001), prevede l'uso preferenziale della Medicina Veterinaria non Convenzionale (MVnC). La MVnC si articola in diverse discipline: tra queste si annovera la Fitoterapia, cioè l'uso di sostanze naturali di origine vegetale a fine terapeutico. In ottemperanza a tale disposizione i fitoderivati ed i prodotti omeopatici sono da preferire ai medicinali allopatrici ottenuti per sintesi chimica, purché abbiano efficacia terapeutica. Tenuto conto delle circostanze che hanno richiesto la cura, qualora l'uso dei suddetti prodotti non sia verosimilmente efficace, o non si dimostri tale per debellare una malattia o un'infestazione, possono essere utilizzati medicinali allopatrici sotto la responsabilità di un veterinario.

L'applicazione della MVnC nella zootecnia biologica è attualmente una realtà consolidata nonostante i numerosi dubbi e vuoti normativi. Il suo campo di applicazione è molto vasto, comprendendo la profilassi e le cure di diverse patologie, nonché azioni di tipo eugenetico e prebiotico, anche se la MVnC non deve essere considerata una "panacea". La MVnC è praticata da veterinari esperti che rappresentano circa il 4,5% degli oltre 21.000 veterinari che praticano la professione. Per esperti si intendono i





veterinari che hanno seguito corsi di MVnC, esperti e non specialisti dal momento che in Italia manca il riconoscimento ufficiale delle Scuole della MVnC e l'insegnamento della stessa nelle Università.

Tuttavia, al là di qualsiasi normativa e di considerazioni etiche, la situazione è totalmente nelle mani degli operatori agronomici, dai coltivatori ai medici veterinari, la cui conoscenza e propensione nei riguardi dei fitoterapici rappresenta il fattore determinante per questo settore. Al fine di verificare l'attuale utilizzo dei fitoderivati in ambiente zootecnico è stata condotta una indagine a livello regionale per conoscere l'interesse, la conoscenza ed il reale uso dei fitoderivati da parte dei veterinari e degli allevatori. Lo studio è stato realizzato nella regione Lazio presso la LATINAVETE s.r.l, struttura di distribuzione di farmaci veterinari e prodotti per la zootecnia della provincia di Latina, e presso aziende dell'Agro Pontino (Fig. 1). A tal fine è stato creato un questionario da sottoporre ai medici veterinari e agli allevatori operanti in diverse aziende di tipo biologico e convenzionale, principalmente di allevamento bovino (carne e latte) e suino. Sono stati intervistati con tale procedura 130 veterinari iscritti all'ordine dei veterinari di Latina e 85 allevatori diretti. Un campione sufficientemente vasto rappresentativo, seppure geograficamente molto limitato. L'indagine realizzata è stata finalizzata a verificare se l'indicazione della direttiva CE n°1804/1999 su l'uso preferenziale della MVnC e in particolar modo della fitoterapia corrispondesse alla normale attitudine degli operatori del settore zootecnico, al fine primario di garantire un maggiore regime di salute e qualità al consumatore. Dai dati rilevati è risultato che la maggioranza degli intervistati prescrive o utilizza raramente i prodotti a base di fitoderivati (Fig. 2) e per lo più per uso preventivo piuttosto che curativo (Fig. 3). Le patologie più segnalate, e per le quali se ne richiede l'utilizzo, sono soprattutto quelle a carico dell'apparato respiratorio e della cute, seguite da quelle legate a problemi della fertilità, poi dalle patologie infiammatorie e gastroenteriche, raramente da problemi articolari e a carico del sistema immunitario (Fig. 4). Risulta evidente che i fitoderivati vengono somministrati principalmente ad animali di grossa taglia come bovini ed equini, sporadicamente a ovini e suini, e raramente agli avicunicoli (Fig. 5). Oltremodo interessante è la risposta al quesito "se favorevole o meno all'uso dei fitoderivati in zootecnia": è stato dato un parere positivo da parte della maggioranza dei veterinari e negativo da un buon 50% degli allevatori (Fig. 6). Questa differente opinione può essere spiegata dalla risposta data in merito ai costi dei prodotti attualmente in commercio: entrambe le categorie considerano il loro costo troppo elevato (Fig. 7) a detrimento del loro uso da parte degli allevatori. Per quanto riguarda il loro utilizzo anche nei sistemi di allevamento convenzionale, i veterinari hanno espresso un parere nettamente negativo diversamente da quanto sostenuto dagli allevatori che lo ritengono invece auspicabile (Fig. 8). L'elevata percentuale di risposte negative è giustificata dal riscontro di una scarsa riproducibilità terapeutica dei trattamenti a base di sostanze naturali vegetali. Riguardo l'opinione sugli eventuali effetti avversi dei fitoderivati, entrambe le categorie ritengono che questi prodotti ne siano privi, tranne in casi rari evidenziati per lo più dai veterinari (Fig. 9). Dall'indagine risulta, infine, che la principale fonte di conoscenza sui prodotti terapeutici a base di estratti vegetali, sia per gli allevatori sia per i veterinari, è l'informazione medico scientifica. Anche se la popolazione intervistata è confinata ad alcune zone di una provincia del Lazio, i dati raccolti sono un chiaro monito di quanto



sia auspicabile un controllo sull'attuazione delle direttive comunitarie, in vigore da diversi anni.

#### **CONSIDERAZIONI FINALI**

Le interviste effettuate hanno messo in evidenza che le scelte dei medici veterinari e degli allevatori ricadono tuttora più frequentemente sulla Medicina Convenzionale piuttosto che sulla MNnC. Le motivazioni di tale diffidenza sono risultate imputabili a diversi fattori. E' interessante confrontare i dati ottenuti con quelli di un'inchiesta condotta nella regione Toscana da parte del Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università di Pisa, per verificare la diffusione della MnC nella medicina veterinaria, sebbene la maggioranza di veterinari intervistati (62,6%) è occupata nella cura degli animali da affezione e solo il 29% nel settore della zootecnia (Guidi *et al.*, 2008). Probabilmente sulla base dei dati dell'indagine tre sono i fattori che determineranno il futuro della fitoterapia in zootecnia: la preparazione e l'informazione degli operatori del settore, la regolamentazione a livello nazionale e comunitario e soprattutto le scelte dei consumatori per un'alimentazione con maggiori effetti salutistici e di qualità. Le risposte riguardanti argomenti comuni confermano alcune tendenze delineate nella nostra inchiesta. Dai dati raccolti emerge innanzitutto che i medici veterinari consultati nell'indagine non sono adeguatamente aggiornati sull'utilizzo delle sostanze naturali: dispongono di informazioni esigue e derivanti da esperienze personali piuttosto che da percorsi formativi mirati. I costi elevati dei prodotti in commercio e la difficoltà del loro reperimento costituiscono, spesso, per gli allevatori, un deterrente al loro acquisto ed impiego. Nonostante i dati raccolti non mostrino sempre una tendenza positiva nel rapporto fitoderivato/guarigione, si può ritenere che ci siano le condizioni affinché non solo si sviluppi una informazione specifica ed approfondita, ma possano essere migliorate sensibilmente le percentuali di utilizzo ed i risultati raggiunti.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**Bertocchi L.**, (2007). Comunicazione personale Giornata di studio: Zootecnia e Piante Officinali, XIX salone Internazionale SANA a Bologna, 2007; **BioBank** (2001): Banca dati on-line, sito web: <http://www.biobank.it/it/BIObiobank.asp>; **Cheng Y. H.**, Goff J. P., Sell J. L., Gill S., Pawlak E., Elena M., Horst R. L. (2000). The use of *Solanum glaucumphyllum* to improve phosphorus utilization in broilers. *Journal of Animal Science*. 78 (1). 750; **D.M. 29/3/2001**. Modificazione dell'allegato 1 del decreto ministeriale 4 Agosto 2000, in materia di attuazione del regolamento (CE) n. 1804/99 sulle produzioni animali biologiche; **D.M.4/8/2000**. Modalità d'attuazione del regolamento (CE) n. 1804/99 sulle produzioni animali biologiche; **De Santis G.**, Del Serrone P., Saltalamacchia F., Tripaldi C., Palazzino G., Serafini M., Nicoletti M. (2005). Problemi veterinari in zootecnia. *Erboristeria Domani*. 297, 48-54; **Del Serrone P.**, Galeffi C. (2000). Sostanze naturali di origine vegetale: loro potenzialità d'uso per la difesa delle colture dagli stress. *Biologi Italiani*. 30 (6), 7-12; **Del Serrone P.**, Palazzino G., Tripaldi C., Serafini M., Nicoletti M. (2005a). Sostanze naturali di origine vegetale e fitoterapici per uso zootecnico. *Erboristeria Domani*. 297, 44-47; **Del Serrone P.**, Nicoletti M., Palazzino G., Serafini M. (2005b). Impronte vegetali. L'identificazione delle droghe vegetali mediante tecniche di biologia molecolare. *Erboristeria Domani*. 244, 3-10; **Del Serrone P.**, M. Nicoletti, G. Palazzino, M. Serafini (2007). Fitoterapia in stalla, possibile alternativa agli antibiotici. *L'Informatore Agrario*, 49-51; **Diaz A.M.** *et*



al. (2004). Phenylpropanoid glycosides from *Scrophularia scorodonia*: In vitro anti-inflammatory activity. *Life Science*. 74, 2515 – 2526; **Dorman** H. J., Deans S. G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88, 308-316; **F.U.I.** (2002). Farmacopea Ufficiale Italiana 11<sup>ema</sup> Edizione; **Guidi** G., Rossini C., Pisseri F., Cecchi F. (2008). Relazione sulla diffusione nella Medicina veterinaria. TelemedItalia, Organo d'informazione SIT, Anno IV, Edizione 7 luglio 2008; **Istituto Nazionale di Economia Agraria** (2001): *Annuario dell'agricoltura italiana*, INEA, Roma; **Lee** K.J. *et al.* (2003). Protective effect of acteoside on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Life Science*. 74 (8), 1051-1064; **Liu** M.J. *et al.* (2002). The effects of verbascoside on plasma lipid peroxidation level and erythrocyte membrane fluidity during immobilization in rabbits: a time course study. *Life Science*. 73 (7), 883 – 892; **Martin-Nizard** F. *et al.* (2003). Natural phenylpropanoids protect endothelial cells against oxidized LDL-induced cytotoxicity. *Planta Medica*. 69 (3), 207 – 211; **Mason** P. (2000). The regulation of herbal products in Europe, from diversity to harmonisation. *Pharmacology Journal*. 264, 347-352; **Mellor** S. (2000). Alternatives to antibiotics. *Feed Mix. Special 2000*, 6-8; **Niezen** J.H., Robertson H.A., Sidey A., Wilson S.R. (2002). The effect of pasture species on parasitism and performance of lambs grazing one of three grass-white clover pasture swards. *Veterinary Parasitology*. 105 (4), 303-315; **Park** K. M., Han Y. K., Park K. W. (2000). Effects of Herb-Mix supplementation on the growth performance and serum growth hormone in weaned pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 13, 791-794; **Rahua** J. P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kahkonen M., Kujala T., Pihlaia K., Vuorela H., Vuorela P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*. 56, 3-12; **Regolamento CEE n. 2092/91** (1991): Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee, NL198, 22 luglio; **Regolamento CEE 2078/92** (1992): Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee, NL215, 30 luglio; **Regolamento CEE n. 1804/1999** (1999): Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee, NL 222, 19 luglio; **Salvi**, A. *et al.* (2002). Protein protection by Antioxidantes: Development of a Convenient Assay and Structure-Activity Relationship of Natural Polyphenols. *Helvetica Chimica Acta*. 85 (3), 867 – 881; **Sato** T., Miyata G. (2000). The nutraceutical benefit. Part IV: Garlic. *Nutrition*. 16, 787-788; **Savoini** G., Mancini G., Agazzi A., Cheli F., Baldi A., Monfardini E., Sala V., Dell'Orto V. (2000). Effect of dietary supplementation with phytochemical substances, carbadox and colistin on performance and immune response in post-weaning pigs. *Journal of Animal Science*. 78 (1). 748; **Tedesco** D. (2001). Il potenziale ruolo di erbe ed estratti naturali utilizzati come additivi alimentari nelle produzioni animali. *Zootecnia e Nutrizione Animale*. 27 (3,4), 111-133; **Viegi** L. e Pieroni A. (2000a). The state of art of the ethnoveterinary studies in Italy: a review. *Proceedings of the 4ème Colloque Européen d'Ethnopharmacologie. Des sources de savoir aux médicaments du futur. Metz 11-13 May, 2000*. N° 40; **Viegi** L. e Pieroni A. (2000b). Una banca dati di piante usate per la medicina veterinaria popolare in Italia. In: *Atti 95° Congresso Società Botanica Italiana*, 2000. 101-120; **Viegi** L., Pieroni A., Guarrera P.M., Vangelisti R. (2003). A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*. 89, 221-244.



## TABELLE E GRAFICI



Fig. 1. Localizzazione delle aziende zootecniche dell'Agro Pontino (provincia di Latina, Lazio) dove è stata condotta l'indagine.

Fig. 2 - Utilizzo dei fitoderivati da parte dei medici veterinari e degli allevatori

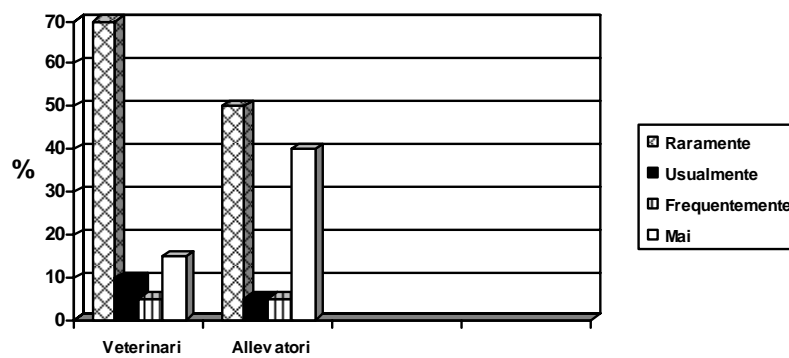
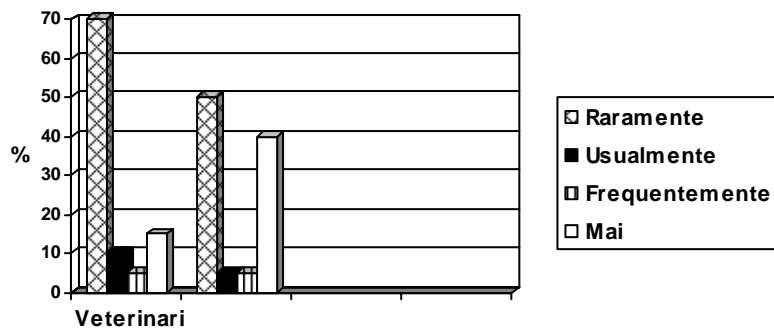
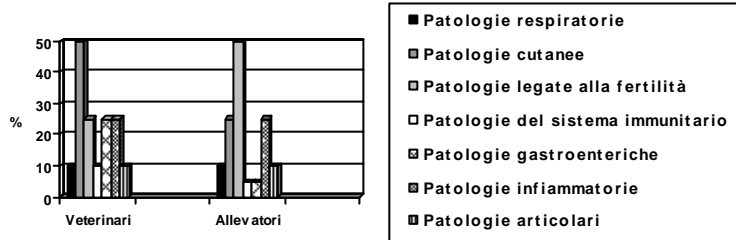


Fig. 3 - Uso terapeutico dei fitoderivati da parte dei medici veterinari e degli allevatori

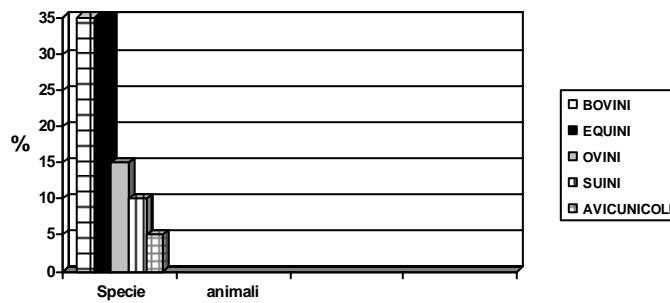




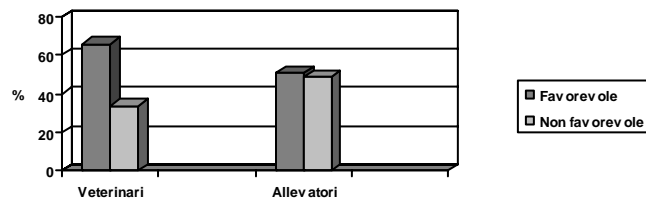
**Fig. 4 - Patologie maggiormente trattate con fitoderivati dai medici veterinari e dagli allevatori**



**Fig. 5 - Specie animali da reddito trattate con fitoderivati**



**Fig. 6 - Parere sull'uso dei fitoderivati in zootecnia biologica espresso da medici veterinari ed allevatori**

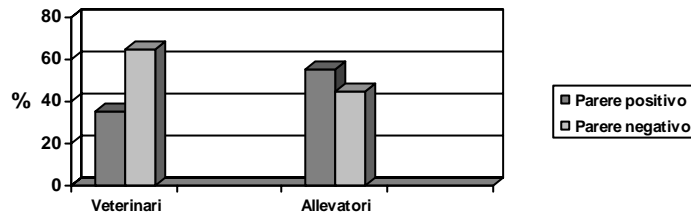




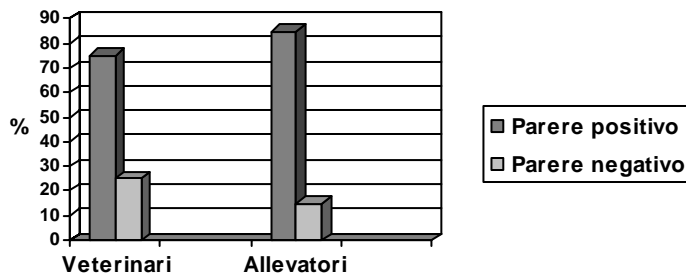
**Fig.7 - Parere sulla congruità dei costi dei fitoderivati in zootecnia**



**Fig. 8 - Parere sull'uso dei fitoderivati anche nella zootecnia convenzionale espresso da medici veterinari ed allevatori**



**Fig. 9 - Opinione sull'innocuità dei fitoderivati in zootecnia, ritenuti privi di effetti indesiderati, espressa da medici veterinari ed allevatori**





# IL PROBLEMA DEGLI INSETTI VETTORI DI MALATTIE

Romeo Bellini

*Centro Agricoltura Ambiente "G.Nicoli", Crevalcore (BO)*

## **RIASSUNTO**

*Il problema degli insetti vettori di malattie. Dopo circa 50 anni di "tregua", come d'improvviso il nostro Paese sembra tornato a rischio di malattie trasmesse da vettori. Il fenomeno della globalizzazione, probabilmente più dei cambiamenti climatici, sta determinando nuovi scenari in ambito sanitario. L'arma che possiamo impugnare con vigore in questa sfida è quella che ci fornisce la conoscenza scientifica dei fenomeni. Se è vero che non possiamo ancora prevedere il dove e il quando si scatenerà un'epidemia è però innegabile che le nostre capacità di valutare il rischio e di adottare misure di profilassi e intervento precoce sono in forte evoluzione. Il punto critico sta nella capacità di individuarle sul nascere. Quando la vaccinazione non è disponibile la lotta al vettore rimane la sola via disponibile per contenere malattie come la malaria e la dengue che mietono ancora oggi nel mondo milioni di vittime. La valutazione del rischio epidemico può essere condotta sulla base di accurate conoscenze bio-ecologiche degli attori in gioco. Il navigare a vista, come siamo inesorabilmente indirizzati a fare nel nostro Paese, non può dare garanzie di sicurezza sufficienti.*

**Parole chiave:** vettori, epidemie, controllo, rischio sanitario.

## **INTRODUZIONE**

Dopo circa 50 anni in cui il problema delle malattie trasmesse da vettori si è progressivamente eclissato dalla scena nazionale, perdurando alcune zoonosi come la Filariosi e la Leishmaniosi, come d'improvviso il nostro Paese sembra tornato a rischio di malattie trasmesse da vettori, in primis le zanzare. La piccola epidemia causata dal virus della Chikungunya in Romagna nel 2007, anche se già sotto sorveglianza e considerata come evento possibile dalle autorità sanitarie europee (ECDC, 2006) è da considerarsi un evento di importanza storica che segna uno spartiacque nell'evoluzione del rischio epidemico. L'arrivo, nel 1990 (Sabatini *et al.*, 1990) di una nuova specie di zanzara, *Aedes albopictus*, che si è rapidamente insediata e diffusa sulla penisola e si sta espandendo in Europa e nel mondo (Benedict *et al.*, 2007) è un evento classificabile come legato all'aumentato volume dei trasporti internazionali, nello specifico dei pneumatici usati, che poco ha a che fare con i cambiamenti climatici. Questa zanzara principalmente diffusa in aree tropicali, colonizza però nel suo areale originario anche zone a clima temperato, producendo uova resistenti alle basse temperature, in grado di svernare alle nostre latitudini. Purtroppo la competenza e capacità vettoriale di questa specie sono state confermate, per la prima volta al di fuori dell'areale originario, proprio nel nostro Paese. L'Italia è al momento il Paese europeo dove la Zanzara Tigre risulta maggiormente diffusa, raggiungendo densità fortemente nocive in grado di interferire nella qualità di vita e libera fruizione degli spazi verdi (ECDC, 2009). Altre specie di zanzara, sempre sfruttando le movimentazioni di merci, si potranno affacciare nel



Mediterraneo, la più temibile è *Aedes aegypti*, formidabile vettore di Dengue e Febbre gialla, malattie che affliggono vaste aree tropicali e sub-tropicali. Si tratta di una specie che già in passato aveva trovato il modo di diffondersi sfruttando le riserve d'acqua a bordo delle navi. A fine '800-inizi '900 gran parte delle zone abitate costiere del Mediterraneo risultavano colonizzate da questa specie. Nel 1927-'28 *Ae.aegypti* fu causa di una terribile epidemia di Dengue nell'area di Atene con oltre 1 milione di casi e 1000 morti censiti. I motivi per cui *Ae.aegypti* si è progressivamente eclissata sparando dall'area mediterranea negli anni 1940-'50, non sono mai stati chiariti e le ipotesi avanzate risultano deboli (Holstein, 1967). Recentemente la specie è però stata segnalata come stabilmente presente a Madeira in densità rilevanti (Almeida *et al.*, 2007) e in una zona costiera del mar Nero in Abkhazia (Yunicheva *et al.*, 2008), considerate aree libere dalla specie da decine di anni. Relativamente a questa specie, con esigenze classicamente tropicali, i cambiamenti climatici potrebbero giocare un ruolo rilevante aumentando le probabilità di un suo insediamento nel Mediterraneo meridionale. La somiglianza morfologica e comportamentale con *Ae.albopictus* rende più problematico il suo rilevamento precoce nelle aree già infestate da *Ae.albopictus*. Nella tarda estate 2008, un'altra epidemia si è diffusa nel nostro Paese, interessando una vasta area del Nord-Est, dovuta al virus West Nile (WN). Si tratta di un Flavivirus noto per circolare irregolarmente nella regione Palearctica e nel bacino del Mediterraneo. Ha come ospiti principali numerose specie di uccelli, migratori e stanziali, e come vettori zanzare del genere *Culex*. In Italia il vettore principale sembra essere la comune zanzara *Culex pipiens*, nelle due forme selvatica e antropizzata. Il virus WN ha recentemente sollevato grande allarme in Nord America dove, introdotto accidentalmente nella zona di New York nel 1999, ha originato un'epidemia esplosiva che in pochi anni si è estesa a tutti gli Stati Uniti, al Canada, al Messico e si sta espandendo verso sud. Nel Nord America, dall'inizio dell'epidemia i casi umani registrati sono circa 30.000, di cui 1.000 letali (Kramer *et al.*, 2007). Considerando che il rapporto tra casi sintomatici e asintomatici è circa 1:140 si può stimare che nell'arco di 10 anni siano state infettate circa 4-5 milioni di persone. L'epidemiologia di questo arbovirus è largamente legata agli uccelli, che funzionano da ospite di amplificazione virale e da diffusori geografici. In questa fase le zanzare vettrici sono le *Culex* ornitofile. Si ritiene che il virus si muova sulle rotte migratorie degli uccelli, che nelle soste vengono punti da zanzare in grado poi di trasmettere il virus ad altri animali residenti. Mentre in America il primo segnale della presenza del virus fu la mortalità aviaria, in Europa gli uccelli infettati non muoiono per motivi che non sono stati ben chiariti, ma che rendono la sorveglianza più complessa. Se il virus trova condizioni climatiche ed ecologiche favorevoli l'epidemia arriva ad interessare i mammiferi, in particolare il cavallo e l'uomo. I mammiferi sono considerati non idonei alla trasmissione del virus in quanto la viremia rimane bassa e non sufficiente ad infettare nuove zanzare. Recentemente è stato preparato un vaccino per i cavalli che è largamente impiegato con successo negli Stati Uniti e presumibilmente entrerà in uso anche nelle zone a rischio europee. Sul versante della sanità animale un'altra malattia di origine virale emergente è Rift Valley Fever (RVF) che interessa bovini, ovini, cammelli ed anche l'uomo. Il suo bacino di diffusione è il continente africano, ma negli ultimi anni si sono registrate epidemie anche in medio oriente, in genere legate a periodi di forti piogge o a progetti irrigui in grado di modificare gli equilibri ecologici locali. Infatti sono zanzare del genere *Aedes* a





trasmettere il virus essendosi anche confermata la trasmissione trans ovarica, per cui il virus può passare nelle uova di una zanzara infetta, persistervi per lungo tempo, ed infettare le larve e gli adulti che ne derivano che saranno quindi in grado di trasmetterlo al primo pasto di sangue. L'impatto economico di RFV sul comparto dell'allevamento animale è notevole sia per la morbidità, l'elevata mortalità, il tasso di aborti del 100% nel caso di infezione di bestiame gravido, le misure profilattiche di blocco della movimentazione del bestiame ed isolamento delle aree interessate. Anche in questo caso sono disponibili vaccini che però danno copertura parziale e non sono esenti da rischi. Altri insetti, oltre le zanzare, sono vettori di malattie rilevanti degli animali allevati, come è il caso del virus della Bluetongue (BT) trasmesso da diverse specie di *Culicoides*, con grande impatto sul comparto ovino. Questi sono piccolissimi ditteri ematofagi che compiono il ciclo larvale in substrati umidi e fangosi spesso disponibili presso le stalle medesime. Le loro minuscole dimensioni e il comportamento di volo fanno sì che possano essere trasportati a lunga distanza dalle correnti di aria in quota, diventando questa causa di trasporto passivo anche del virus. BT è un complesso di 24 sierotipi caratterizzati da patogenicità ed epidemiologia specifica. La messa a punto dei vaccini, strada obbligata per far fronte a questa malattia, risulta quindi assai complessa. BT è comparsa inizialmente in Italia nel 2000 in Sardegna e si è rapidamente diffuso nella penisola fino alle regioni settentrionali. In Italia sono stati rilevati diversi sierotipi (1-2-4-8-9-16) ed emanate disposizioni nazionali di restrizione della movimentazione animale. BT rientra nel novero delle malattie da notificare obbligatoriamente all'OIE. Oltre all'Italia alcuni sierotipi del virus hanno esteso negli ultimi anni il loro areale anche a Paesi come Germania, Belgio, Olanda che si ritenevano al di fuori dell'areale di rischio. Le cause di questa estensione sono poco chiare. Una malattia storica del bacino del Mediterraneo è la Leishmaniosi. L'agente patogeno è un protozoo veicolato da insetti del genere *Phlebotomus* che interessa principalmente il cane e il gatto con una certa incidenza anche a carico dell'uomo. Anche in questo caso l'areale della malattia sembra in espansione verso nord con focolai stabili rilevati recentemente in Piemonte e Veneto, regioni ritenute indenni.

## CONCLUSIONI

Da sempre i parassiti si sono adattati e spesso tratto vantaggio dalle società umane e dalle modifiche ambientali che l'uomo introduceva con le sue attività sviluppando patologie a volte acute, più spesso croniche. I tempi moderni si distinguono per la velocità dei cambiamenti e l'universalità delle ricadute dei fenomeni. Non c'è angolo della terra che possa essere considerato isolato. In poche ore di aereo si attraversa l'oceano. Centinaia di specie vegetali e animali vengono introdotte inavvertitamente in nuove aree geografiche attraverso i nostri mezzi di trasporto. Le regioni biogeografiche, così come le abbiamo conosciute e definite, sono destinate inesorabilmente ad omogeneizzarsi in un grande *melting pot*. Viviamo ormai stabilmente dentro emergenze sanitarie che funzionano da palestra di addestramento dei sistemi di sorveglianza e di verifica delle capacità organizzative di contrasto. L'unica arma che possiamo impugnare con vigore in questa sfida è quella che ci fornisce la conoscenza scientifica dei fenomeni. Se è vero che non possiamo ancora prevedere il dove e il quando si scatenerà un'epidemia è però innegabile che le nostre capacità di valutare il rischio e di adottare misure di profilassi e pronto intervento sono in forte evoluzione.



L'esempio dell'evento epidemico della Chikungunya in fondo dimostra anche che abbiamo strumenti efficaci per contrastare le malattie da vettori. In altri casi invece le nostre capacità sono ancora insufficienti. La lotta al vettore rimane in molti casi la sola via disponibile per contenere malattie come la malaria e la dengue che mietono ancora oggi nel mondo milioni di vittime. I programmi lanciati su larga scala hanno raggiunto gli obiettivi solo nelle aree temperate e nelle zone ricche, ma si sono dimostrati insufficienti nella gran parte delle aree tropicali povere. Gli insetticidi dopo aver vissuto la loro epopea sono oggi considerati come un "male necessario", oggetto di forte attenzione sanitaria e sottoposti al vaglio della tossicologia ambientale. Il numero dei principi attivi sul mercato è in declino, ma nonostante le misure cautelative abbiamo ancora evidenze di effetti collaterali subdoli. E rimane senza risposta il complesso fenomeno della multi-esposizione a microdosi di tossici ambientali di varia origine antropica. Oggi gli insetticidi di sintesi sono unanimemente annoverati come uno degli strumenti a disposizione per la lotta agli insetti nocivi nell'ambito della lotta integrata. Il loro peso è probabilmente destinato a diminuire progressivamente, eroso dalle nuove biotecnologie, dalla fitoterapia, dalla genetica, dall'elettronica. Per la lotta alla malaria in Africa lo strumento d'elezione corrente sono le zanzariere impregnate di insetticida, uno strano connubio di protezione antica e tecnologia moderna. Le quantità di insetticida che si impiegano con questa metodica sono assai inferiori a quelle che si usavano nella classica lotta residuale. La valutazione del rischio epidemico può essere condotta sulla base di accurate conoscenze bio-ecologiche degli attori in gioco. Il navigare a vista, come siamo inesorabilmente indirizzati a fare nel nostro Paese, non può dare garanzie di sicurezza sufficienti.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**Almeida**, A.P., Gonçalves, Y.M., Novo, M.T., Sousa, C.A., Melim, M., Gracio, A.J.,. 2007. Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the autonomous region of Madeira, Portugal. *EuroSurveill*.12(46):pii=3311,availableonline:<http://www.eurosurveillance.org/View/Article.aspx?ArticleId=3311>; **Benedict**, M.Q., Levine, R.S., Hawley, W.A., Lounibos, L.P.. 2007. Spread of the Tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne Zoonotic Diseases* 7: 76-85; **ECDC**. 2006. Meeting Report. Consultation on Chikungunya risk assessment for EuStockholm, 30March2006,[http://ecdc.europa.eu/documents/pdf/Final\\_chik\\_meeting\\_report.pdf](http://ecdc.europa.eu/documents/pdf/Final_chik_meeting_report.pdf); **ECDC**. 2009. Technical report. Development of *Aedes albopictus* risk maps. Stockholm,May2009.[http://ecdc.europa.eu/en/files/pdf/Publications/0905\\_TER\\_Development\\_of\\_Aedes\\_albopictus\\_risk\\_maps.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/files/pdf/Publications/0905_TER_Development_of_Aedes_albopictus_risk_maps.pdf); **Holstein**, M.. 1967. Dynamics of *Aedes aegypti* distribution, density and seasonal prevalence in the Mediterranean area. *Bull. Wld Hlth Org.* 36: 541-543; **Kramer**, L.D., Styer, L.M., Ebel, G.D.. 2008. Global perspective on the epidemiology of West Nile Virus. *Annu. Rev. Entomol.* 53: 4.1-4.21 doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.093258; **Sabatini**, A., Raineri, V., Trovato, G., Coluzzi, M., 1990. *Aedes albopictus* in Italia e possibile diffusione della specie nell'area mediterranea. *Parassitologia* 32: 301-304; **Yunicheva**, Y.V., Ryabova, T.E., Markovich, N.Y., Bezzhonova, O.V., Ganushkina, L.A., Semenov, V.B., Tarkhov, G.A., Vasilenko, L.E., Guzeeva, T.M., Shevereva, T.V., Sergiev, V.P.. 2008. First data on the presence of breeding populations of the *Aedes aegypti* L. mosquito in Greater Sochi and various cities in Abkhazia. Rep. Sochi Plague control Dept. Moscow.



## UTILIZZO DI ESTRATTI NATURALI IN AMBITO AGRICOLO-ZOOTECNICO

Aldo Tava e Tiziana Maria Piera Cattaneo

*CRA-FLC Centro di Ricerca per Le Produzioni Foraggere e Lattiere Casearie, Lodi*

Alla luce delle nuove normative che limitano l'uso di sostanze chimiche di sintesi in agricoltura e zootecnia, si sta sempre più diffondendo l'utilizzo di sostanze naturali quali agenti fitoterapici e di biocontrollo. La somministrazione di estratti naturali ad azione terapeutica in animali in produzione zootecnica ha mostrato un miglioramento generale del benessere animale, nonché delle produzioni derivate (1-3). L'approccio prevede anche un'indagine approfondita riguardo al contenuto e alla natura di sostanze ad attività biologica presenti nelle varie specie vegetali per il corretto uso in campo agricolo e zootecnico (4).

Un esempio è dato dallo studio del contenuto in tannini in specie foraggere destinate all'alimentazione animale (5) ed al possibile utilizzo di sostanze naturali quali agenti antimicrobici e di biocontrollo in campo agricolo (6).

Le relazioni tra alimentazione zootecnica, benessere animale e qualità/quantità delle produzioni sono state studiate in vista delle caratteristiche di trasformabilità del latte (7-8). Attenzione particolare è stata anche dedicata alla verifica del mantenimento delle proprietà funzionali del latte qualora si utilizzino sostanze adsorbenti nella dieta (9).

Verrà presentato lo stato dell'arte completo delle ultime esperienze realizzate nel settore specifico di ricerca.

### BIBLIOGRAFIA

**1. Tedesco, D.** Tava, A., Galletti, S. Tameni, M., Varisco, O., Costa, A. and Steidler, S. Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2004, 57, 2239-2247.; **2. Tava, A.** Tedesco, D., Sciannimanico, D. and Corine, C. Effects of rosemary extract supplementation of diet on fatty acid composition of rabbit muscle and liver. *Abstract! 53<sup>rd</sup> Annual Meeting of the European Association for Animal Production*, Cairo, Egypt, 2002 p. 66.; **3. Tava, A.** Biologically active compounds of forage species: their characterisation in plants in relation to quality of production. Volume issued from the ANFITMiPAF Project "Forage quality and animal welfare: antinutritional and bioactive compounds of species from natural pasturelands and appraisal of animal phytotherapy" Support of the Ministry of Agricultural and Forestry Policies (D.M. 361/730/01). *Bullettino S. Ed.*, Sassari, Italy, 2005, 3-17.; **4. Tava, A.** Metaboliti secondari in piante di interesse agrario: caratterizzazione e attività biologica. *Italian Journal of Agronomy*, 2007, A. 439-448.; **5. Tava, A., De Benedetto, M.G., Tedesco, D., Di Miceli G., Piluzza, G.** Proanthocyanidins from *Hedysarum*, *Lotus* and *Onobrychis* spp. growing in Sardinia and Sicily and their antioxidant activity. *Phytochemistry*, XX Int. Grassland Congress, Dublin, Ireland, 2005, p. 271.; **6. D'Addabbo, T., Avaro, P. and Tava, A.** The potential of *Medicago* spp. for sustainable managements of root-knot and cyst nematodes. *European Journal of Plant Pathology*. in press.; **7. Toppino P.M., Degano L.** Introduction. In *Bullettino of IZFA 366/2001*. Influence of feed on major components of milk. (2001), 4-8. **8. Migliorati L., Pirlo G., Cattaneo T.M.P.** - Effects of nonstructural



carbohydrates on milk production and composition in early and midlactating cows. *Zoot. Nutr. Antm.* (1998), 24 (S), 175-184. **9. Migliorati**, L., Abeni. F., Cattaneo, T.MJP., Tomielli, C., Pirlo, G. Effects of adsorbents in dairy cow diet on milk quality and cheese-making. *Ital.JJimm.Sci.* 6 supplemento 1. (2007), 460-462.



# PIANTE MEDICINALI AROMATICHE COME ANTIVIRALI: ATTIVITA' NEI CONFRONTI DI VIRUS DI INTERESSE VETERINARIO

Alessandra Scagliarini , Santino Prosperi

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale  
Alma Mater Studiorum, Università di Bologna*

## **RIASSUNTO**

*La medicina tradizionale è oggetto di un rinnovato interesse e in veterinaria ciò si è tradotto nello sviluppo dell'etnoveterinaria, un nuovo campo che pone attenzione anche al recupero dell'etnobotanica. Le piante medicinali ed aromatiche (MAPs) sono la forma più antica di medicazione usata sia dagli animali che dall'uomo. Le MAPs sono usate da sempre nelle pratiche veterinarie tradizionali e anche in Italia esistono dei database che raccolgono informazioni sull'attività delle piante medicinali secondo la medicina tradizionale. Recenti studi, effettuati dal nostro gruppo di ricerca, hanno dimostrato l'attività antivirale di diverse MAPs nei confronti di virus a RNA e a DNA responsabili di patologie animali. I risultati delle nostre ricerche confermano che le piante possono rappresentare una fonte di nuove molecole antivirali, che potrebbe portare in futuro allo sviluppo di terapie innovative.*

**Parole chiave:** etnoveterinaria, piante medicinali, virus, antivirali.

## **INTRODUZIONE**

La Community Animal Health Policy (CAHP) 2007-2013, si è proposta di trovare soluzioni alternative, socialmente ed economicamente sostenibili, agli abbattimenti di massa che sono conseguiti alle più recenti epidemie in Europa. Lo sviluppo di vaccini, di nuovi metodi diagnostici e di farmaci innovativi è considerato strategico per fornire, in tempi brevi, mezzi efficaci per il controllo delle malattie infettive degli animali. Gli antivirali possono essere considerati validi mezzi per il controllo delle malattie infettive degli animali quando la vaccinazione non sia realizzabile, come nel caso di scoppio improvviso di focolai epidemici o di attacchi bioterroristici, o per proteggere animali in prossimità di focolai epidemici andando a coadiuvare le operazioni di vaccinazione di emergenza. La scoperta degli antivirali è relativamente recente ed il loro utilizzo si limita alla patologia umana con poche applicazioni pratiche in veterinaria. Attualmente, ci sono più di 30 composti ad azione antivirale formalmente approvati per la terapia di infezioni dell'uomo, mentre non sono ancora disponibili farmaci antivirali per uso veterinario. La ricerca in questo settore potrebbe avere diverse ricadute positive nel campo della salute animale, ma ad oggi gli studi di efficacia nei confronti di virus animali sono stati principalmente finalizzati allo sviluppo di terapie nei confronti di virus umani filogeneticamente correlati. L'utilizzo di farmaci ad azione antivirale in medicina veterinaria potrebbe contribuire a ridurre l'impatto economico delle malattie limitando, nel contempo, la disseminazione dei patogeni nell'ambiente e, di conseguenza, il rischio sanitario per altri animali e per l'uomo. Le ricerche nel campo dell'etnoveterinaria costituiscono oggi oggetto di dibattito a livello Europeo ed extra



europeo alla luce delle recenti emergenze sanitarie legate al rischio per i consumatori di microorganismi farmaco resistenti. In questo senso i fitofarmaci possono contribuire a migliorare la salute degli animali e la qualità dei loro prodotti in quanto gli estratti vegetali sono in genere costituiti da miscele di diversi composti attivi con differenti meccanismi di azione che possono limitare lo sviluppo della resistenza da parte dei patogeni (McGaw e Eloff 2008). Le piante sono sempre state utilizzate dall'industria farmaceutica per l'isolamento di composti attivi, e circa il 40% dei farmaci moderni contengono principi d'origine naturale, sia utilizzando la sostanza naturale estratta dalle piante, che una sua versione sintetica. Le piante hanno una capacità pressoché illimitata di sintetizzare composti aromatici, la maggior parte dei quali sono metaboliti secondari, e possono essere suddivisi in diversi gruppi a seconda delle loro caratteristiche biochimiche. Un gruppo molto ampio di molecole è costituito dai fenoli e polifenoli, un altro gruppo è quello degli alcaloidi ed infine quello dei terpenoidi e degli olii essenziali molte di queste hanno già dimostrato di possedere proprietà antimicrobiche ed in particolare la capacità di inibire la replicazione dei virus.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'efficacia e caratterizzare l'attività inibente di diversi estratti naturali nei confronti di alcuni virus di interesse veterinario.

## **MATERIALE E METODI**

**Virus** - L'attività antivirale è stata valutata nei confronti di prototipi di virus a RNA e a DNA, in modo da poter raccogliere dati che possano essere trasferiti a un numero più ampio di agenti virali. Questo è possibile in quanto omologie strutturali e funzionali a livello genomico consentono di raggruppare le famiglie virali in "super famiglie" che discendono da progenitori comuni o che hanno seguito pattern evolutivi simili (Domingo 2000). A questo scopo il virus del cimurro del cane (CDV) e il betanodavirus, responsabile della encefaloretinopatia del pesce, sono stati considerati come prototipi di virus a RNA rispettivamente a polarità negativa e positiva. L'herpes virus bovino tipo 1 (BHV-1) agente eziologico dell'IBR/IPV e il virus orf responsabile dell'ectima contagioso degli ovi-caprini sono stati utilizzati come prototipi di virus a DNA. BHV-1 è correlato all'herpesvirus umano (HHV-3) replica nel nucleo e dà luogo a latenza, mentre il virus orf, causa di infezioni negli animali e nell'uomo, è già utilizzato come modello di studio per altri poxvirus (smallpoxvirus e monkeypoxvirus). Per i saggi sull'attività antivirale, i virus sono stati titolati e la loro concentrazione è stata espressa in TCID<sub>50</sub>/ml, corrispondente alla dose infettante il 50% della coltura cellulare.

**Estratti naturali** - Gli estratti naturali utilizzati in questo studio sono stati forniti da INDENA s.p.a. Tutte le piante utilizzate hanno una documentata attività antimicrobica secondo la medicina tradizionale. Sono stati testati estratti di piante presenti in Italia come: *Vaccinium myrtillus* (Fam. *Ericaceae*), *Myrthus communis* (Fam. *Myrtaceae*) e *Aesculus hippocastanum* (Fam. *Sapindaceae*). Inoltre sono stati saggiati gli estratti di *Hippophae rhamnoides* (Fam. *Eleagnaceae*) proveniente dalla Russia, *Harungana madagascariensis* (Fam. *Clusiaceae*), *Combretum micranthum* (Fam. *Combretaceae*), *Cinnamosma macrocarpa* e *Cinnamosma madagascariensis* (Fam. *Canellaceae*) tutti provenienti dal Madagascar.

**Test di citotossicità** - In via preliminare sono stati realizzati i test di citotossicità allo scopo di identificare la concentrazione di ciascun composto in grado di inibire la



crescita cellulare del 50% (CC50). I composti sono stati quindi diluiti in terreno di coltura e saggiati in piastre da 96 pozzetti. Ogni diluizione di composto è stata testata in duplicato per un periodo di incubazione di 72 ore. Al termine dell'incubazione la citotossicità è stata valutata con test MTT (Hussain 1993).

**Test antivirali** - Gli estratti sono stati testati a diverse diluizioni a partire dalla CC50 per valutarne l'attività antivirale intra che extra cellulare. In tutti i test *in vitro* sono stati utilizzati la ribavirina [1-(β-D-ribofuranosyl)-1,2,4-triazole-3-carboxamide] e il cidofovir (S)-1-[3-hydroxy-2-(phosphonomethoxy)propyl]cytosine (HPMPC, CDV, Vistide®), come controlli positivi, per la loro attività rispettivamente nei confronti dei virus a RNA e a DNA. La metodica utilizzata per i saggi antivirali ha seguito il protocollo pubblicato da Scagliarini e collaboratori (2006). L'attività antivirale è stata espressa come la concentrazione di composto richiesta per ridurre del 50% l'effetto virale (IC<sub>50</sub>). Infine è stato calcolato l'indice di selettività (IS) dato dal rapporto tra il valore medio di CC50 e il valore medio di IC50.

## RISULTATI E CONCLUSIONI

La medicina tradizionale è oggetto di un rinnovato interesse e recentemente l'UNESCO con la Convention "Safeguarding of the intangible cultural heritage" (2003) ha riconosciuto la medicina tradizionale, l'etnobotanica e l'etnoveterinaria, come un aspetto della nostra cultura che deve essere protetto. Le ricerche nel campo dell'etnobotanica e dell'etnoveterinaria hanno dimostrato la ricchezza delle conoscenze sulle proprietà terapeutiche delle piante nei confronti delle malattie degli animali. Tra le maggiori applicazioni in campo veterinario, si evidenziano quelle antimicrobiche ed antiparassitarie. Esistono oggi diversi database delle piante medicinali utilizzate in medicina veterinaria tradizionale in diverse parti del mondo (Viegi et al. 2003; Pieroni et al., 2006). Nonostante le ampie conoscenze in questo campo, mancano in molti casi le evidenze scientifiche sull'efficacia terapeutica e dati riproducibili che rendano possibile il trasferimento tecnologico in questo settore. La ricerca scientifica sulle attività antimicrobiche delle piante medicinali è anche necessaria a fornire i dati richiesti in ambito regolatorio per un utilizzo più ampio e controllato dei farmaci naturali in campo veterinario. Ci sono numerosi lavori scientifici che dimostrano le proprietà antibatteriche degli estratti vegetali mentre sono ancora relativamente scarsi i dati sulla loro attività antivirale. Recentemente, Chattopadhyay e Naik (2007) hanno pubblicato una review sugli antivirali di origine vegetale presentando i risultati relativi ad agenti virali di interesse umano. Il nostro lavoro si è posto come obiettivo quello di saggiare gli estratti vegetali nei confronti di agenti virali di interesse veterinario. In particolare, è stata dimostrata l'efficacia antivirale dell'estratto da foglie di *Hippophae rhamnoides*, una pianta largamente utilizzata in medicina tradizionale (Guliyev et al., 2004). L'estratto ha dimostrato di possedere un'attività intracellulare inibendo la replicazione del CDV con una CC50 di 52.55±3.4µg/ml, una IC50 di 16±3.5µg/ml ed un indice di selettività di 3,28. L'IS dimostra che l'estratto naturale è più selettivo rispetto alla RBV che, sullo stesso substrato cellulare e nei confronti del medesimo agente virale, ha un di IS di 1,079. L'estratto di *Vaccinium myrtillus* ha dimostrato un'attività antivirale intracellulare nei confronti del Parapoxvirus orfv, in particolare sono risultate attive le antocianidine estratte dai frutti con un valore di CC50 pari a 195 µg/ml, una IC50 di 50 µg/ml e un indice di selettività di 3.9. Il frutto del mirtillo è ricco in polifenoli come i



flavonoidi dei quali le antocianidine sono il gruppo più rappresentato. Le antocianidine possiedono proprietà antibatteriche e batteriostatiche, ma sono attive anche nei confronti di alcuni protozoi come *Giardia* e *Cryptosporidium* (Anthony et al., 2007). L'estratto da foglie di *Myrthus communis* è risultato attivo, a livello intracellulare, nei confronti del CDV con una CC50 di  $100.5 \pm 7.4 \mu\text{g/ml}$ , una IC50 di  $35,35 \pm 5,8 \mu\text{g/ml}$  ed un indice di selettività di 2,84, dimostrandosi più selettivo della RBV. Il mirto si dimostra quindi molto promettente come antimicrobico in quanto gli estratti da foglie contengono floroglucanoli, come il mirtucummulone, che si sono già dimostrati attivi come antibatterici naturali capaci di inibire anche la crescita di ceppi antibiotico-resistenti (Appendino et al., 2002; Appendino et al., 2006). L'estratto di corteccia di *Harungana madagascariensis* è risultato attivo, a livello intracellulare, nei confronti di betanodavirus con una CC50 di  $50 \mu\text{g/ml}$ , una IC50 di  $11,6 \pm 3,7 \mu\text{g/ml}$  ed un indice di selettività superiore alla RBV e pari a 4,3. *Harungana madagascariensis* è una pianta molto utilizzata in medicina tradizionale per il trattamento di patologie renali, gastrointestinali e per le sue proprietà antipiretiche, recentemente però è stata dimostrata anche la sua attività antibatterica (Moulari et al 2007; Okoli et al., 2002) ed antimalarica (Iwaleva et al., 2008). Gli estratti da foglie di *Combretum micranthum* sono risultati attivi a livello intracellulare verso betanodavirus con una CC50 di  $75 \mu\text{g/ml}$ , una IC50 di  $22,9 \mu\text{g/ml}$  ed un IS di 3,2 superiore a quello della RBV. *Combretum micranthum* è una pianta molto utilizzata in medicina tradizionale tra le popolazioni dell'Africa occidentantale che la utilizzano per il trattamento di diverse patologie (Reynolds 1989). Gli estratti da foglie di combreto si sono dimostrati attivi anche come antivirali capaci di inibire la replicazione di herpes virus tipo 1 e 2 (Ferrea et al., 1993). L'estratto di corteccia di *Cinnamosma madagascariensis* e dell'olio essenziale di *Cinnamosma macrocarpa* sono risultati attivi nei confronti di betanodavirus con CC50 rispettivamente di  $25 \mu\text{g/ml}$  e  $175 \pm 35,35 \mu\text{g/ml}$  e IC50 di  $8 \mu\text{g/ml}$  e  $50 \pm 2,82 \mu\text{g/ml}$  anche in questo caso gli estratti naturali si sono dimostrati più selettivi della RBV. Per quanto riguarda l'olio essenziale di *Cinnamosma macrocarpa* è stato possibile studiare l'attività delle diverse frazioni ottenute in TLC questo ha permesso di identificare come composto attivo l'alpha-terpineolo confermando le proprietà antibatteriche ed antivirali già note per i composti appartenenti alla famiglia dei terpeni (Chattopadhyay e Naik 2007). Infine, la proantocianidina A2, estratta dalla corteccia di ippocastano, si è dimostrata attiva e selettiva (IS 2,24) verso il CDV con una CC50 di  $200 \mu\text{g/ml}$  e una IC50 di  $89,8 \pm 4 \mu\text{g/ml}$  e verso il BHV-1 con una CC50 di  $150 \mu\text{g/ml}$  ed una IC50 di  $61,13 \pm 10 \mu\text{g/ml}$  (IS 2,4). Gli approfondimenti sul meccanismo d'azione di questo composto nei confronti di CDV, hanno dimostrato un'attività specifica nelle prime 16 ore post infezione facendo ipotizzare un'azione specifica nelle fasi del ciclo replicativo in cui è attiva la RNA polimerasi/RNA dipendente (RpRd). La proantocianidina A2 è un polifenolo attivo nei confronti di diversi agenti virali di interesse umano come HSV2 (Cheng et al 2002) e i risultati del nostro studio contribuiscono ad ampliare le conoscenze sullo spettro di azione di questa promettente molecola naturale. In conclusione, le ricerche da noi effettuate contribuiscono ad ampliare le conoscenze sulle proprietà antimicrobiche di alcuni estratti naturali già noti in etnoveterinaria, a conferma del grande patrimonio di conoscenza rappresentato ancora oggi dalla medicina veterinaria tradizionale.





## BIBLIOGRAFIA

- Appendino G**, Bianchi F, Minassi A, Sterner O, Ballero M, Gibbons S.(2002). Oligomeric acylphloroglucinols from myrtle (*Myrtus communis*). *J Nat Prod.* Mar;65(3):334-8. **Appendino G**, Maxia L, Bettoni P, Locatelli M, Valdivia C, Ballero M, Stavri M, Gibbons S, Sterner O. 2006. Antibacterial galloylated alkylphloroglucinol glucosides from myrtle (*Myrtus communis*). *J Nat Prod.* Feb;69(2):251-4. **Anthony JP**, Fyfe L, Stewart D, McDougall GJ, Smith HV. The effect of blueberry extracts on *Giardia duodenalis* viability and spontaneous excystation of *Cryptosporidium parvum* oocysts, in vitro. *Methods.* 2007 Aug;42(4):339-48. **Chattopadhyay D**, Naik TN *Mini Rev Med Chem.* 2007. Antivirals of ethnomedicinal origin: structure-activity relationship and scope. Mar;7(3):275-301. **Cheng HY**, Lin CC, Lin TC. Antiviral properties of prodelphinidin B-23'-O-gallate from green tea leaf. *Antivir Chem Chemother.* 2002 Jul;13(4):223-9. **De Clerq E**. Highlights in the development of new antiviral agents. *Mini Rev Med Chem.* 2002 Apr;2(2):163-75. **Domingo E.**, Webster R.G., Holland J.J. (2000). *Origin and evolution of viruses.* Academic Press, San Diego, CA. **Ferrea G**, Canessa A, Sampietro F, Cruciani M, Romussi G, Bassetti D. (1993). In vitro activity of a *Combretum micranthum* extract against herpes simplex virus types 1 and 2. *Antiviral Res.* 21(4):317-25. **Guliyev VB**, Gul M, Yildirim A. (2004). *Hippophae rhamnoides L.*: chromatographic methods to determine chemical composition, use in traditional medicine and pharmacological effects. *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* Dec 5;812(1-2):291-307. **Hussain RF**, Nouri AM, Oliver RT (1993). A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay. *J. Immunol. Methods.* 160(1), 89-96. **Iwalewa EO**, Omisore NO, Adewunmi CO, Gbolade AA, Ademowo OG, Nneji C, AgboolaOI, Daniyan OM. (2008). Anti-protozoan activities of *Harungana madagascariensis* stem bark extract on trichomonads and malaria. *J Ethnopharmacol.* 22;117(3):507-11. **McGaw LJ**, Eloff JN.(2008). Ethnoveterinary use of southern African plants and scientific evaluation of their medicinal properties. *J Ethnopharmacol.* 28;119(3):559-74. **Moulari B**, Pellequer Y, Chaumont JP, Guillaume YC, Millet J.(2007). In vitro antimicrobial activity of the leaf extract of *Harungana madagascariensis* Lam. Ex Poir. (Hypericaceae) against strains causing otitis externa in dogs and cats. *Acta Vet Hung Mar;55(1):97-105.* **Okoli AS**, Okeke MI, Iroegbu CU, Ebo PU. (2002). Antibacterial activity of *Harungana madagascariensis* leaf extracts. *Phytother Res.* 16(2):174-9. **Pieroni A.**, Giusti M.E., de Pasquale C., Lenzarini C., Censorii E., Reyes Gonzales-Tejero., Sanchez-Rojas C.P., Ramiro-Gutierrez J.M., Skoula M., Johnson C., Sarpaki A., Della A., Paraskeva-Hadjichambi D., Hadjichambis A., Hmamouchi M., El-Jorhi S., El-Demerdash M., El-Zayat M., Al-Shahaby O., Houmani Z., Scherazed M. (2006). Circum-Mediterranean cultural heritage and medicinal plant uses in traditional animal healthcare:a field survey in eight selected areas within the RUBIA project. *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, 2:16. **Scagliarini A**, Vaccari F, Gallina L, Dal Pozzo F, Prosperi S, (2006). In vitro evaluation of antiviral activity of ribavirin against canine distemper virus *Veterinary Research Communications Suppl Vet Res Commun Suppl 1:269-72.* **Viegi L.**, Pieroni L., Guarrera P.M., Vangelisti R. (2003): A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *J. Ethnopharmacol.*,89, 221-244.



## IMPIEGO DEL TIMOLO IN *APIS MELLIFERA* PER LA LOTTA ALLA *VARROA*

Nazareno Renzo Brizioli<sup>1</sup>, E. Marinelli<sup>2</sup>, Alessandra Giacomelli<sup>1</sup>, Francesco  
Filippetti<sup>1</sup>, Giovanni Formato<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

<sup>2</sup> C.R.A.-PAV – Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Roma

### RIASSUNTO

*Il controllo numerico di Varroa destructor rappresenta una tecnica irrinunciabile per qualsiasi apicoltore. Un mancato o errato contenimento della popolazione di questi acari comporta inevitabilmente la comparsa di patologie sempre più gravi, fino a portare a morte le colonie di api. Nel presente articolo vengono mostrati i risultati di due prove di campo in cui è stata valutata l'efficacia del timolo in diversi formulati abbinati o meno alla tecnica apistica di ingabbiamento della regina. L'adozione di una lotta integrata (Integrated Pest Management - IPM) alla varroa, data dall'impiego del timolo abbinato all'ingabbiamento della regina, risulta essere una tecnica in grado di potenziare l'efficacia acaridica di questo olio essenziale.*

**Parole chiave:** timolo, IPM, *Varroa destructor*.

### INTRODUZIONE

Il controllo di *Varroa destructor* rimane, dopo oltre venti anni dal suo ingresso nel nostro Paese, uno dei problemi più importanti per l'apicoltura italiana. È necessario monitorare costantemente il livello di infestazione di questo parassita, intervenire precocemente rispettando i dosaggi previsti dai protocolli, al fine di evitare che il numero di varroe sia troppo elevato tanto da attivare pericolose virosi e portare a morte le famiglie. L'impossibilità di eradicare questi acari dai nostri apiari impone quindi la necessità di adottare una serie di interventi terapeutici che hanno il compito, nel corso delle diverse stagioni, di contenere l'infestazione entro limiti compatibili con lo sviluppo e la produttività delle colonie. Negli ultimi anni la ricerca si è fortemente orientata verso l'individuazione di metodi di lotta caratterizzati dall'impiego di sostanze acaricide a basso impatto ambientale, in particolare oli essenziali. A questi, si è cercato di abbinare altre tecniche apistiche (ad esempio, un blocco di covata mediante ingabbiamento della regina) orientate ad aumentarne la loro efficacia (Integrated Pest Management – IPM). Negli ambienti caldi del sud Europa il timolo è uno dei principi attivi di maggior interesse per i trattamenti estivi. Anche nel Lazio numerose sperimentazioni hanno avvalorato l'efficacia dei formulati a base di timolo per il controllo della varroa (Baggio et al 2004; Marinelli et al 2001). L'efficacia acaridica del timolo è nota da lungo tempo ed è una sostanza il cui impiego è consentito dal Reg CE 1804/99 sull'apicoltura biologica ed è anche incluso nell'allegato II del Reg CE N. 2377/90, cioè tra i medicinali veterinari per i quali non è previsto un limite massimo di residui (MRL) negli alimenti di origine animale. Nel presente lavoro Sono state messe a confronto per la loro attività acaridica, diverse strategie di lotta alla varroa che prevedono l'utilizzo di timolo (sia in cristalli che in formulati presenti in commercio



quali l'*Apilife VAR* e l'*Apiguard*), abbinato o meno ad ingabbiamento della regina.

## MATERIALI E METODI

**La prima sperimentazione**, finalizzata a mettere a confronto l'efficacia acaricida del timolo senza ingabbiamento, è stata condotta durante i mesi di agosto-settembre 2007 presso l'apiario situato all'interno della Tenuta Presidenziale di Castelporziano (Roma). Le prove hanno interessato tre gruppi di 22 colonie, di consistenza omogenea, poste in arnie Dadant-Blatt a 10 favi dotate di fondo diagnostico antivarroa. Gli interventi sono stati eseguiti dopo l'ultima smielatura su colonie prive di melari. Nel corso della prova le colonie sono state valutate sia nei riguardi della popolosità che della presenza di covata opercolata. Il calendario dei trattamenti è riportato nella tabella 1.

	Trattamento			Controllo	
	7/08	14/08	21/08	28/08	11/09
<b>APILIFE VAR</b>	SI	SI	SI	INGABB. REGINE + A.O.	A.O. + LIBER. REGINE
<b>APIGUARD</b>	SI	-	SI	INGABB. REGINE + A.O.	A.O. + LIBER. REGINE
<b>TIMOLO IN CRISTALLI</b>	SI	SI	SI	INGABB. REGINE + A.O.	A.O. + LIBER. REGINE

**Tab. 1** – Calendario delle operazioni effettuate nel corso della prova estiva 2007.

I tre gruppi di colonie sono stati trattati rispettivamente con:

- *Apilife VAR*: tre interventi effettuati a distanza di una settimana ponendo le due metà di una tavoletta sui favi del nido lungo una diagonale.
- *Apiguard*: due trattamenti effettuati a distanza di circa 14 giorni ponendo le capsule sopra i favi del nido in posizione centrale.
- *Timolo in cristalli disciolti a bagnomaria*, incorporati a un supporto di OASIS e distribuiti con tre trattamenti a distanza di una settimana che comportano, per ciascun intervento la somministrazione di 10 g di timolo per arnia (foto 1).



**Foto 1** - Spugnette di timolo disciolto in alcool a bagnomaria



Alla fine dei trattamenti si è proceduto alla verifica della varroa residua negli alveari mediante ingabbiamento della regina e trattamenti con acido ossalico gocciolato. La mortalità delle varroe è stata verificata settimanalmente tramite l'esame e la conta nei fogli adesivi posti nei cassette diagnostici. L'efficacia del trattamento è stata calcolata applicando la seguente formula:

$$\text{efficacia} = \frac{\text{numero di varroe cadute in seguito al trattamento}}{\text{numero totale di varroe cadute (trattamento + controllo)}} \times 100$$

I singoli valori sono stati sottoposti ad analisi della varianza e le medie sono state confrontate mediante il *test di Student-Newman-Keuls (SNK test)*. Nel corso della sperimentazione sono state registrate le temperature dell'aria e le precipitazioni mediante una centralina elettronica posta nelle immediate vicinanze.

**La seconda sperimentazione**, finalizzata a verificare l'efficacia acaricida di un prodotto a base di timolo (Apiguard – foto 2), abbinato o meno ad ingabbiamento della regina mediante gabbietta Var-control® (foto 3), è stata invece realizzata nei mesi agosto-settembre 2008, in due diversi apiari della provincia di Latina (LT), ciascuno costituito da 24 famiglie suddivise in 3 diversi gruppi di trattamento.



**Foto 2** - Apertura di Apiguard® (timolo in gel)



**Foto 3** - Gabbietta VAR – CONTROL®

I tre gruppi di alveari sono stati sottoposti ai seguenti trattamenti:

**Gruppo 1:** trattamento con timolo in gel (Apiguard®) e contemporaneo blocco di covata mediante ingabbiamento delle regine per 20 giorni; durante tutto il periodo di ingabbiamento sono stati effettuati due trattamenti con Apiguard®, a distanza di 10 giorni l'uno dall'altro;

**Gruppo 2:** trattamento con timolo in gel (Apiguard®) senza ingabbiamento;

**Gruppo 3:** in questo gruppo è stato effettuato il solo ingabbiamento delle regine, per 20 giorni.



## RISULTATI E CONCLUSIONI

Le temperature registrate nel corso della sperimentazione si sono mantenute intorno alle medie del periodo senza grossi picchi durante il periodo di tre settimane nel quale sono stati compresi i trattamenti (Figura1).

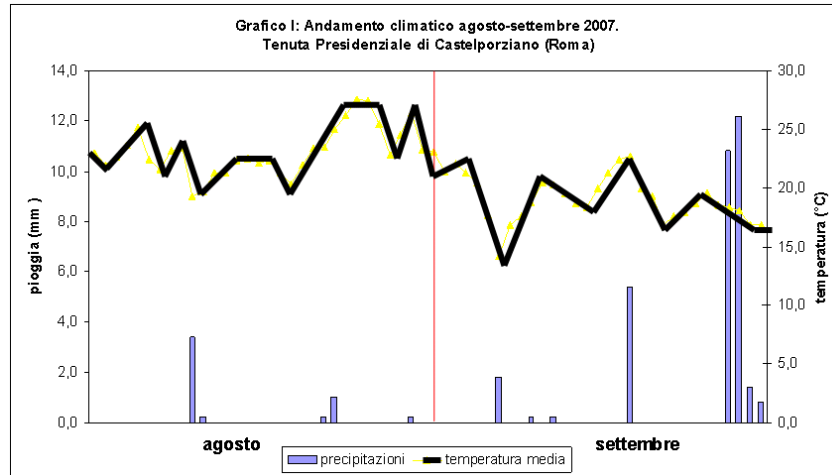


Fig.1

Nei gruppi in prova negli apiari di Castel Porziano, le varroe presenti all'interno delle colonie sono state piuttosto numerose con medie che hanno superato i 2000 acari adulti (tabella 2).

Nei riguardi dell'efficacia acaricida l'*Apilife VAR* si è attestato su livelli di efficacia molto elevati, pari al 91,4% dimostrando di garantire una protezione efficace nei confronti della varroa.

I risultati relativi all'attività acaricida sono così riportati graficamente (Figura 2).

Anche l'*Apiguard* ha fatto registrare dei risultati molto soddisfacenti con un'efficacia media che è stata del 93,1% rispetto a tutte le altre formulazioni è stato il trattamento che si è dimostrato più costante nel garantire un'adeguata efficacia acaricida (dev.st. 4,2).

Il *timolo in cristalli disciolto a bagnomaria* e impregnata nelle tavolette di OASIS ha fatto registrare un'efficacia media pari all'86% ma ha anche evidenziato una preoccupante irregolarità d'efficacia come evidenziato dall'alto valore di dev.st (tabella 2). Come peraltro atteso tutti i trattamenti a base di timolo hanno evidenziato una totale tollerabilità da parte delle colonie che non hanno manifestato alcun genere di problema. Negli apiari di Latina, la temperatura ambientale è rimasta quasi sempre nell'intervallo ideale perché il timolo manifestasse al meglio la sua azione acaricida. La temperatura media, infatti, è stata di poco inferiore ai 24°C, mentre la massima ha superato solo una volta, di molto poco, i 35°C (35,4°C il 7 settembre) ed in 7 notti è scesa tra i 13 ed i 14°C.

I risultati dell'attività acaricida media nei tre diversi gruppi sono riportati in figura 3. Nel gruppo 1, sottoposto ad ingabbiamento della regina per 20 giorni e contemporaneo



trattamento con Apiguard®, l'attività acaricida media riscontrata è stata pari al 96,4%; nel gruppo 2, sottoposto al solo trattamento con Apigurd ®, l'attività acaricida media riscontrata è stata pari al 77,2%; nel gruppo 3, in cui è stato effettuato esclusivamente un ingabbiamento della regina per 20 giorni, l'attività acaricida media riscontrata è stata pari al 47,7%.

Trattamento con <i>APILIFE VAR</i> (identificazione alveari)	Varroe morte per il trattamento	Varroe sopravvissute	Efficacia acaricida%	DEV.ST
1	210	20	91,30	
3	3938	0	100,00	
5	539	68	88,80	
2	1006	3	99,70	
6	2665	190	93,35	
7	231	6	97,47	
8	1647	114	93,53	
A	4457	610	87,96	
9	440	181	70,85	
<b>MEDIA</b>	<b>1681,44</b>	<b>132,44</b>	<b>91,44*</b>	<b>8,8</b>
Trattamento con <i>APIGUARD</i> (identificazione alveari)	Varroe morte per il trattamento	Varroe sopravvissute	Efficacia acaricida%	DEV.ST
11	2636	266	90,83	
12	193	14	93,24	
15	1957	99	95,18	
17	5048	723	87,47	
18	225	3	98,68	
<b>MEDIA</b>	<b>2011,80</b>	<b>221,00</b>	<b>93,08*</b>	<b>4,2</b>
Trattamento con <i>TIMOLO IN CRISTALLI</i> (identificazione alveari)	Varroe morte per il trattamento	Varroe sopravvissute	Efficacia acaricida%	DEV.ST
20	1608	8	99,50	
C	206	173	54,35	
21	1118	206	84,44	
22	5499	190	96,66	
23	3363	4	99,88	
24	2284	276	89,22	
25	3815	522	87,96	
26	1909	606	75,90	
<b>MEDIA</b>	<b>2475,25</b>	<b>248,13</b>	<b>85,99*</b>	<b>15,1</b>

Tab. 2 – Risultati dei diversi trattamenti acaricidi. \*i valori non differiscono per P=0,05

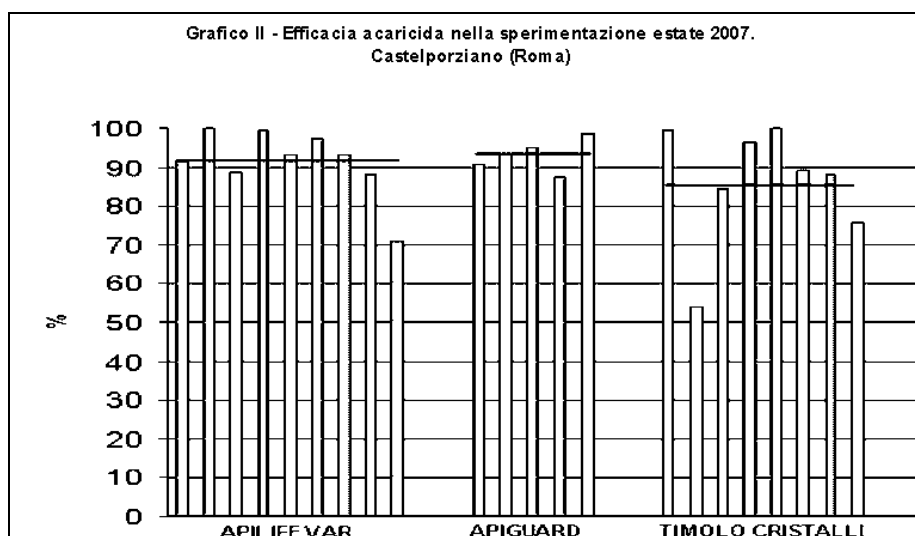


Fig.2

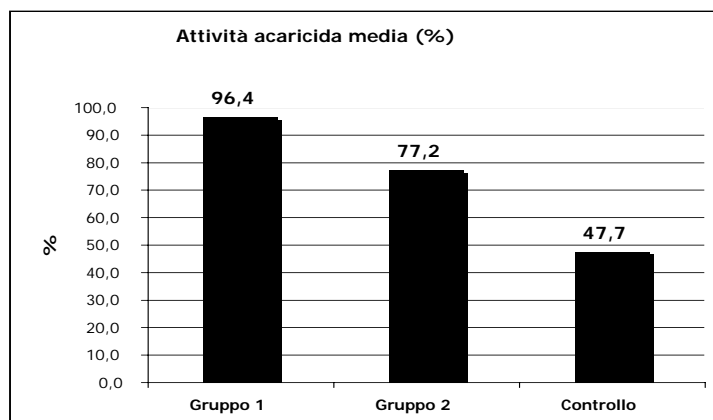


Fig.3 - Attività acaricida media

In conclusione, nelle aree apistiche litoranee dell'Italia centrale, il timolo rappresenta senz'altro un principio attivo valido per il contenimento della varroa, in considerazione della sua elevata efficacia acaricida e del suo basso impatto ambientale, oltre che per l'assenza di problemi di residui nei prodotti dell'alveare. Abbinare la pratica dell'ingabbiamento della regina alla somministrazione di tale principio attivo, è strategia vincente per potenziarne ulteriore l'attività acaricida.



## BIBLIOGRAFIA

- 1. Arculeo, P.;** Vitale, F.; Caracappa, S. (1993). Efficacia dei trattamenti con acido formico e fluvalinate contro *Varroa jacobsoni* Oud. *Apicoltore Moderno* 84(5), p.185-192. **2. Baggio A.;** Arculeo P., Nanetti A., Marinelli E., Mutinelli F. (2004) - Field Trials with Different Thymol-based Products for the Control of Varroosis. *American Bee Journal*, may 2004, 395-400. **3. Barbattini, R.;** Greatti, M.; D'Agaro, M.; Sabatini, A. G.; Colombo, R.; Marcazzan, G. L. (1994). Utilizzo dell'acido formico nella lotta contro *Varroa jacobsoni*: verifica dell'efficacia e dei residui nel miele. *Ape Nostra Amica* 16(4), p.4-9. **4. Bolli, H. K.;** Bogdanov, S.; Imdorf, A.; Fluri, P. (1993). Action of formic acid on *Varroa jacobsoni* Oud. and the honey bee (*Apis mellifera* L.) / Zur Wirkungsweise von Ameisensäure bei *Varroa jacobsoni* Oud. und der Honigbiene (*Apis mellifera* L.) *Apidologie* 24(1), p.51-57. **5. Calderone N. W.;** Nasr, Medhat E. (1999). Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate *Journal of Economic Entomology*; Jun, Vol. 92 Issue 3, p526. **6. Calis, J.;** Beetsma, J.; Boot, W. J.; Eijnde, J. van den; Ruijter, A. (1993) De Control of the varroa mite by treatment of sealed honeybee brood with formic acid *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society* No. 4, p.217-225. **7. Capolongo, F.;** Baggio, A.; Piro, R.; Schivo, A.; Mutinelli, F.; Sabatini, A. G.; Colombo, R.; Marcazzan, G. L.; Massi, S.; Nanetti, A. (1996). Trattamento della varroasi con acido formico: accumulo nel miele e influenza sulle sue caratteristiche. *Ape Nostra Amica* 18(6), p.4-11. **8. Eguaras, M.;** Del Hoyo, M. Palacio, M. A. Ruffinengo, S. Bedascarrasbure, E. L. (2001). A New Product with Formic Acid for *Varroa jacobsoni* Oud. Control in Argentina. I. Efficacy. *Journal of Veterinary Medicine Series B*; Feb2001, Vol. 48 Issue 1, p11-14. **9. Elzen, P.J.;** Westervelt, D.; Lucas, R. (2004). Formic acid treatment for control of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) under southern United States conditions. *Journal of economic entomology*, Oct., v. 97, no. 5, p. 1509-1512. **10. Espinosa-Montano, L. G.;** Guzman-Novoa, E. (2007). Effectiveness of two natural miticides, formic acid and thymol, for control of the mite *Varroa destructor* in honey bees (*Apis mellifera* L.) in Villa Guerrero, Mexico. *Veterinaria Mexico* 38(1), 2007 p.9-19. **11. Formato G.;** Vari G., Saccare S., Giacomelli A., Marinelli E. (2007) – Impiego del timolo nel controllo della varroatosi. In “Attività di sperimentazione in apicoltura nella Regione Lazio, anni 2005-2006” pg 19-23. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana. **12. Fries, I.** (1991). Treatment of sealed honey bee brood with formic acid for control of *Varroa jacobsoni*. *American bee journal*, May 1991. v. 131 (5), p. 313-314. **13. Greatti, M.;** Barbattini, R.; D'Agaro, M. (1993). Trattamento della varroasi. L'acido formico nella lotta contro *Varroa jacobsoni* Oud. *Obiettivi e Documenti Veterinari* 14(6), 1993 p.37-43. **14. Marinelli E.;** De Pace F.M., Ricci L., Persano Oddo L. (2001) Impiego di diversi formulati a base di timolo per il trattamento estivo antivarroa in un ambiente mediterraneo. *L'Ape nostra Amica*, XXIII, n.5: 6-10. **15. Marinelli E.** (2007) – Utilizzo di formulati a base di timolo e degli acidi organici per il controllo della *Varroa* nel Lazio – Esperienze nel biennio 2005-06. In “Attività di sperimentazione in apicoltura nella Regione Lazio, anni 2005-2006” pg 7-13. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana. **16. Marinelli E.;** De Santis L., De Pace F.M., Dell'Aira E., Saccare S., Nisi F., Ricci L., Formato G.





(2007) - Impiego del timolo e dell'acido formico per il controllo della varroatosi nel Lazio. Apitalia n.1, speciali di Apitalia inserto centrale I-IV. **17. Murilhas, A.** (2004). Field testing of formic acid (in Mitegone wafers) under autumnal Mediterranean conditions. 9th Expert Meeting of the European Group for Integrated Varroa Control, pp.1-10. European Group for Integrated Varroa Control. Udine, Italia. **18. Mutinelli, F.**; Cremasco, S.; Irsara, A. (1993). L'impiego dell'acido formico nella lotta alla varroasi. Applicazione pratiche. Selezione Veterinaria 34(2), 1993p.97-102. **19. Moosbeckhofer, R.**; Pechhacker, H.; Kohlich, A. (1997). Test of different methods of long term formic acid treatments against Varroa jacobsoni / Apidologie 28(3/4), 1997p.195-196. **20. Piro, R.**; Capolongo, F.; Baggio, A.; Mutinelli, F.; Schivo, A.; Sabatini, A. G.; Colombo, R.; Marcazzan, G. L.; Massi, S.; Nanetti, A. (1997). Acido formico nel controllo della varroasi. Influenza sulle caratteristiche del miele. Obiettivi e Documenti Veterinari 18(6), 1997p.65-72. **21. Satta, A.**; Garau, V.L.; Melis, M.; Cabras, P.; Floris, I.; Eguaras, M. (2005). Formic acid-based treatments for control of Varroa destructor in a Mediterranean area. Journal of economic entomology, 2005 Apr., v. 98, no. 2, p. 267-273. **22. Stanghellini, M. S.**; Raybold, P. (2004). Evaluation of selected biopesticides for the late fall control of varroa mites in a northern temperate climate. American Bee Journal 144(6), 2004 p.475-480.



# IMPIEGO DELLA FITOTERAPIA NELL'ALLEVAMENTO DEL BOVINO DA LATTE: ESPERIENZE SPERIMENTALI PER IL TRATTAMENTO E LA PREVENZIONE DELLA MASTITI

Giuseppina Giacinti<sup>1</sup>, Carlo Boselli<sup>1</sup>, Francesco Filippetti<sup>1</sup>, Simonetta Amatiste<sup>1</sup>,  
Bruno Ronchi<sup>2</sup>, Nazareno Brizioli<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

<sup>2</sup>Dipartimento di Produzioni Animali, Università della Tuscia, Viterbo

<sup>3</sup>Associazione di Fitoterapia "Mario Resta" di Todi

## RIASSUNTO

*E' stato condotto uno studio per valutare l'efficacia di rimedi fitoterapici nel trattamento della mastite subclinica in bovine di razza Frisona in lattazione, secondo il seguente schema sperimentale: gruppo trattato con fitoderivato (n=12), gruppo trattato con placebo (n=12), gruppo di controllo (n=12). Al gruppo trattato con fitoderivato sono stati somministrati oralmente 5 g di estratto fluido standardizzato di Spirea ulmaria e 6 g di estratto standardizzato di Astragalus membranaceus BUNGE, una volta al giorno per 15 giorni. A 14, 28 e 56 giorni sono stati prelevati da ciascun quarto di ogni soggetto campioni di latte, ed analizzati per la ricerca ed identificazione di germi mastidogeni e il conteggio delle cellule somatiche. E' stata misurata la produzione di latte ed i parametri di mungibilità mediante lo strumento Lactocorder. I risultati hanno mostrato una riduzione della percentuale dei quarti infetti, nel gruppo trattato con fitoderivato, risultato efficace contro gli Stafilococchi Coagulasi Negativi.*

**Parole chiave:** fitoterapia, mastite, bovini.

## INTRODUZIONE

La fitoterapia è stata largamente utilizzata in passato per il trattamento di numerose patologie di allevamento (Bullitta et al., 2007) e rappresenta ancora oggi uno strumento indispensabile nella gestione di allevamenti a carattere estensivo in paesi in via di sviluppo (Nanyingi et al., 2008). L'impiego massiccio degli antibiotici nell'allevamento del bovino da latte, sia a scopo preventivo, sia a scopo terapeutico, è ritenuta pratica sempre meno sostenibile in quanto, oltre a rappresentare una importante voce di costo, è responsabile di possibili rischi per la salute umana. Negli ultimi decenni si è sviluppato un crescente interesse del mondo scientifico intorno alla fitoterapia e ad altre pratiche mediche definite complementari o non convenzionali.

Numerose esperienze sperimentali hanno evidenziato l'efficacia di diversi rimedi fitoterapici per il trattamento di varie forme di mastite della vacca da latte (Abaineh e Sintayehu, 2001; Concha et al., 2001; Ayyappa Das et al., 2009). Molte ricerche hanno riguardato applicazioni in allevamenti di bovini condotti secondo il metodo biologico, ove è particolarmente urgente la necessità di sostituire validamente l'uso degli antibiotici di origine chimica (Vaarst e Bennedsgaard, 2001). I dati sperimentali ottenuti



non risultano tuttavia facilmente confrontabili, a causa soprattutto dell'ampia variabilità dei protocolli utilizzati.

Il presente studio è stato rivolto a valutare l'efficacia di rimedi fitoterapici nel trattamento della mastite subclinica in bovine in lattazione allevate con sistema convenzionale.

#### **MATERIALI E METODI**

Sono state selezionate 36 bovine di razza Frisone Italiana appartenenti ad un allevamento sito nella provincia di Roma. Tutti i soggetti scelti presentavano un contenuto in cellule somatiche (CS) > 200.000 in almeno un quarto in due controlli consecutivi intervallati di 15 gg e nessun segno di mastite clinica (Bradley e Green, 2005). Le bovine sono state suddivise in tre gruppi sperimentali, omogenei per ordine di parto e per fase di lattazione: (PH) gruppo trattato con fitoderivato (n=12), (P) gruppo trattato con placebo (n=12), (C) gruppo di controllo (n=12). Al gruppo PH sono stati somministrati oralmente come complesso, mediante una siringa dosatrice, 5 g di estratto fluido standardizzato di *Spirea ulmaria* e 6 g di estratto standardizzato di *Astragalus membranaceus* BUNGE, una volta al giorno per 15 giorni. È stato rispettato un periodo precauzionale di sospensione di 18 giorni per il latte prodotto da animali del gruppo PH (15 gg. di trattamento, più tre gg. *post*-trattamento). In corrispondenza dell'inizio del trattamento e successivamente a 14, 28 e 56 giorni sono stati prelevati da ciascun quarto di ogni soggetto campioni di latte, che sono stati successivamente analizzati per la ricerca ed identificazione di germi mastidogeni, secondo le procedure raccomandate dal *National Mastitis Council* (1987), e per il conteggio delle CS mediante strumentazione optofluorometrica (Fossomatic 5000). Ad ogni prelievo è stata misurata la produzione di latte ed i parametri di mungibilità mediante lo strumento Lactocorder (WMB AG, CH Galbach). I dati ottenuti nel corso della sperimentazione sono stati sottoposti ad analisi della varianza per mezzo del pacchetto statistico MedCalc (2006).

#### **RISULTATI E CONCLUSIONI**

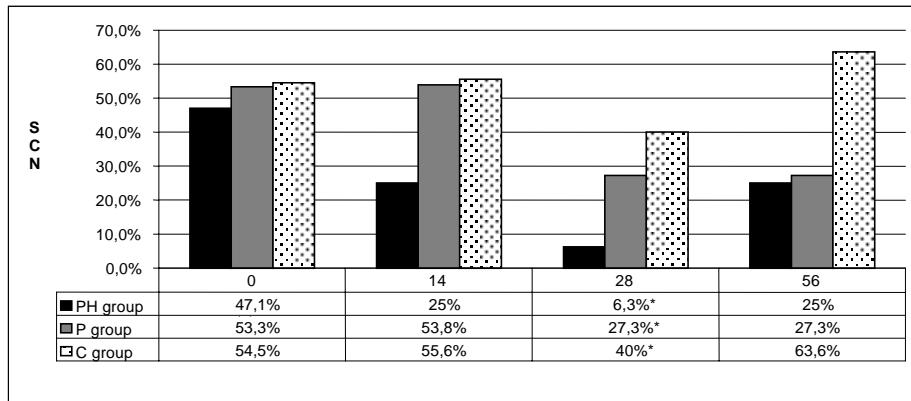
Durante il periodo di prova, nessun soggetto ha mostrato forme cliniche di mastite. Dall'esame microbiologico dei singoli quarti, è emersa una maggiore prevalenza di streptococchi ambientali (55,4%), principalmente *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae*. Il 38,8% è risultato positivo a Stafilococchi coagulasi negativi (SCN), mentre *Staphylococcus aureus* è stato isolato nel 4,3% dei quarti. Relativamente bassa è stata la presenza di microrganismi Gram negativi (1,4%), in particolare *Escherichia coli*. All'inizio della prova, nel gruppo PH 17 quarti (32,7%) sono risultati positivi all'esame microbiologico, nel gruppo P 15 quarti (41,7%) mentre nel gruppo C 11 quarti (34,4%). La percentuale dei quarti infetti è risultata abbastanza variabile durante la sperimentazione, facendo osservare a 56 giorni dal trattamento una riduzione significativa nel gruppo PH rispetto al gruppo P (tabella 1).

Considerando le diverse specie batteriche responsabili d'infezione intramammaria, al 28°giorno dal trattamento si è osservata una riduzione significativa di Stafilococchi Coagulasi Negativi (SCN) nel gruppo PH rispetto ai gruppi P e C (figura 1). Nessuna variazione e differenza significativa è stata riscontrata nel corso della prova sulle infezioni causate da streptococchi ambientali.



	Gruppo PH	Gruppo P	Gruppo C
Giorno 0	32.7	41.7	35.4
Giorno 14	23.1	36.1	25.0
Giorno 28	28.6	30.6	13.9
Giorno 56	16.7(*)	37.5(*)	30.6

**Tab.1** - percentuale dei quarti infetti nel corso della prova. (\*) P<0.05



**Fig. 1** - percentuale di quarti infetti a SCN nel corso della prova (gg.)

Dall'esame del contenuto in cellule somatiche di campioni provenienti da quarti infetti non è emersa nessuna differenza significativa tra i gruppi (tabella 2); occorre tuttavia evidenziare che nel gruppo PH è stata riscontrata una graduale e costante riduzione del contenuto cellulare.

	Gruppo PH (CSx1.000/ml)	Gruppo P (CSx1.000/ml)	Gruppo C (CSx1.000/ml)
Giorno 0	2.030 ± 1.159	430 ± 131	3.944 ± 2.254
Giorno 14	1.185 ± 513	640 ± 415	862 ± 676
Giorno 28	482 ± 117	2.038 ± 1.483	1.837 ± 1.495
Giorno 56	426 ± 198	942 ± 468	1.567 ± 1.484

**Tab. 2** - valore medio ±DS delle CS dei quarti infetti nel corso della prova

La produzione di latte ed alcuni parametri di mungibilità, quali il flusso medio di latte sono risultati migliori, seppur in modo non significativo, nel gruppo PH rispetto al gruppo P e C.

I risultati ottenuti da questo studio indicano un effetto positivo del complesso di rimedi fitoderivati costituito da *Spirea u.* ed *Astragalus m.* nel trattamento delle forme di mastite subclinica in soggetti in lattazione. Il trattamento ha mostrato proprietà terapeutiche elettive nei confronti delle mastiti subcliniche causate da SCN. La scarsità di risultati ottenuti contro gli streptococchi ambientali è probabilmente dovuta alla



presenza di animali con mastite subcliniche di tipo cronico, per le quali risulta poco efficace anche il trattamento con molecole antibiotiche naturali o di sintesi (Jones et al. 1998).

La fitoterapia può rappresentare uno strumento utile per il controllo di alcune forme di mastite subclinica, che sono responsabili di considerevoli perdite di efficienza produttiva nei sistemi zootecnici. Tale strumento non deve essere assolutamente inteso come sostitutivo dei comuni presidi preventivi. Si ritiene che sia necessario sviluppare ulteriormente le conoscenze scientifiche su diversi aspetti della fitoterapia, quali ad esempio: la precisa definizione dei principi attivi e la loro standardizzazione, comparazione tra prove *in vitro* ed *in vivo*, la metabolizzazione da parte dell'animale dei principi attivi ed il corretto approccio terapeutico, la definizione dei tempi di sospensione.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**Abaineh D.**, Sintayehu A., 2001. Treatment trial of subclinical mastitis with the herb *Persicaria senegalense* (Polygonaceae). Trop. Anim. Health Prod., 33: 511-519. **Ayyappa Das M.P.**, Dhanabalan R., Doss A., 2009. In vitro antibacterial activity of two medical plants against bovine udder isolated bacterial pathogens from dairy herds. Ethnobotanical Leaflets, 13: 152-158. **Bradley A.J.**, Green M., 2005. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. Vet in Practice., 27: 310-315. **Bullitta S.**, Piluzza G., Viegi L., 2007. Plant resources used for traditional ethnoveterinary phytotherapy in Sardinia (Italy). Genet. Resour. Crop Evol., 54: 1447-1464. **Concha H.S.**, Johannisson A., Meglia G., Waller K.P., 2001. Effect of subcutaneous injection of ginseng on cows with subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis. J. Vet. Med., 48: 519-528. **Jones G.M.**, Swisher J.M., 2009. Environmental Streptococcal and Coliform Mastitis. Virginia Cooperative Extension, Publ. 404-234: 1-6. **Nanyingi M.O.**, Mbaria J.M., Lanyasunya A.L., Wagate C.G., Koros K.B., Kaburia H.F., Munenge R.W., Ogara W.O., 2008. Ethnopharmacological survey of Bamburu district, Kenya. Journal of Ethnobiology and ethnomedicine, 4: 14-26. **National Mastitis Council**, 1987. Laboratory and field handbook on bovine mastitis, Madison, WI, USA. **Vaarst M.**, Bennedsgaard T.B., 2001. Reduced medication in organic farming with emphasis on organic dairy production. Acta Vet. Scand., Suppl. 95: 51-57.



## **UTILIZZO DI OLI ESSENZIALI NELL'ALLEVAMENTO DELLE LATTIFERE COME TRATTAMENTO PREVENTIVO PER LA MASTITE**

**Anna Maria Ferrini<sup>1</sup>, Simonetta Amatiste<sup>2</sup>, Remo Rosati<sup>2</sup>, Marie-Christine Montel<sup>3</sup>, Paolo Aureli<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Ist. Superiore di Sanità, Dip. di Sanità Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Roma*

<sup>2</sup>*Ist. Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana, Roma*

<sup>3</sup>*INRA URF 545, Unité Recherches Fromagères, France*

### **INTRODUZIONE**

Tra le malattie infettive degli animali da reddito, la mastite infettiva delle lattifere rappresenta una delle più importanti malattie a causa delle perdite economiche che comporta, dell'impatto sulla salute ed il benessere degli animali e sulla qualità del latte prodotto.

A tutt'oggi, il trattamento di elezione per questa patologia è basato sulla terapia antibiotica. E' riconosciuto che il volume di antibiotici utilizzati in questo comparto contribuisce in maniera significativa al problema dell'antibiotico-resistenza, problema di sanità pubblica estremamente importante che riguarda sia l'uomo che l'animale (1). Nell'uomo, microrganismi resistenti a causa dell'uso non-umano di antibiotici possono provocare infezioni specifiche, aumentare la frequenza di fallimenti dei trattamenti antibiotici e aumentare la gravità delle infezioni. L'emergenza di microrganismi antibiotico-resistenti negli allevamenti rappresenta a sua volta, tra l'altro, anche una fonte di disseminazione e di contaminazione degli alimenti e quindi, un ulteriore fattore di rischio per l'uomo. L'uso prudente degli antibiotici è la raccomandazione che a livello comunitario è stata fatta per cercare di contenere il problema dell'antibiotico resistenza (2). Tra le strategie di contenimento per limitare l'antibiotico resistenza, l'utilizzo di sostanze ad azione antimicrobica di origine non antibiotica, sembra rappresentare una soluzione promettente per contenere l'emergenza di ceppi antibiotico resistenti. A questo argomento è stata dedicata una particolare attenzione nell'ambito del progetto europeo Truefood, valutando la potenziale efficacia del terpinen-4-olo nella prevenzione e nel trattamento delle mastiti delle bovine.

### **MATERIALI E METODI**

- 452 ceppi di microrganismi patogeni/opportunisti e indicatori/commensali raccolti durante sorveglianza attiva e passiva e provenienti da: IZS di Roma e Brescia, INRA (Francia), Dairy Research Institute of Ioannina (Grecia), München Technical University (Germania), University of Ljubljana (Slovenia) nonché starter commerciali (Tab.1);
- Minimum Inhibitory Concentration (3);
- Attività battericida (4);



- Post-dipping formulato in ISS (European patent application n° No. 08425431.7 - titolo: Disinfection and antimastitis use of terpinen-4-ol formula in milk producing animals );
- Determinazione del residuo HS-GC/MS-SIM;
- SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) analysis;
- Analisi sensoriale di latte ( 5 ) e formaggi ( 6 ).

genere/specie	N° ceppi	indicatore/ commensale	patogeno/ opportunist
<i>S.aureus</i>	138		+
<i>Staphylococcus spp</i>	51	+	
<i>S.agalactiae</i>	30		+
<i>S.uberis</i>	23		+
<i>Streptococcus spp</i>	44	+	
<i>Ent. faecalis</i>	29	+	+
<i>Enterococcus spp</i>	20	+	
<i>E.coli</i>	29	+	+
<i>Enterobacteriaceae</i>	25	+	
<i>Lactobacillus spp</i>	40	+	
<i>Lactococcus spp</i>	13	+	
<i>Leuconostoc spp</i>	10	+	
Totale ceppi	452	220	232

**Tab. 1:** Microorganismi inclusi nello studio

## RISULTATI

La determinazione dei valori di MICs (Minimum Inhibitory Concentration) di 7 antibiotici (penicillina G, oxacillina, cefazolina, SMZ/TMP, tetraciclina, enrofloxacin e kanamycina) su 244 ceppi (138 *S.aureus*, 30 *S.agalactiae*, 23 *S.uberis*, 29 *E.coli*, 24 *E.faecalis*) isolati da animali sani e malati ha individuato una diffusa resistenza nei ceppi testati con una percentuale 3.5% di ceppi resistenti fino a 5 antibiotici.

Gli stessi ceppi testati per la loro sensibilità al terpinen-4-ol sono risultati tutti sensibili nel range 0.12-0.25 (% v/v), compresi i ceppi antibiotico resistenti.

La valutazione dell'attività battericida del terpinen-4-ol ha dimostrato la sua efficacia determinando in 30 min di esposizione la riduzione di 4-5 Log nella vitalità dei microrganismi test utilizzati (*S. aureus*, *Streptococcus spp.*, *E.coli*, *Enterococcus*, *S.marcescens*, *Aeromonas viridans* e *S.agalactiae*) con efficacia ancora maggiore per esposizioni più lunghe.

Prove sperimentali di efficacia sull'animale sono state condotte applicando una preparazione di post-dipping (di nuova formulazione e a base di terpinen-4-olo) su 2 gruppi di 10 vacche da latte. Il trattamento è stato eseguito 2 volte al giorno per un periodo di 12 settimane. Ulteriori sperimentazioni sono ancora in corso per la valutazione dell'efficacia "in campo" ai fini della prevenzione delle mastiti batteriche.



Le analisi con HS-GC/MS-SIM eseguite sul latte raccolto dai due gruppi di vacche (animali trattati e controlli) non hanno evidenziato la presenza di residui di terpinen-4-ol nel latte (limite di rilevazione 0.2 mcg/L) escludendo effetti sulla flora del latte, così come sugli starter eventualmente utilizzati nella produzione di prodotti derivati.

Di fatto, i risultati dell'analisi SSCP hanno confermato la presenza di profili batterici identici nei gruppi di animali trattati e nel gruppo di controllo.

Anche l'analisi sensoriale condotta sui campioni di latte raccolti dalle mucche trattate e non, ha confermato l'assenza di differenze tra i campioni di latte raccolti dai 2 gruppi di vacche e sui prodotti trasformati da questi prodotti. Questi risultati concorrono tutti a sostenere un'eccellente attività antibatterica del terpinen-4-olo rispetto ai principali agenti mastitogeni (compresi i ceppi antibiotico resistenti) e l'assenza di effetti negativi da trattamento sulla flora batterica, sostenendo l'eligibilità del terpinen-4-ol come agente antimastitogeno.

### CONCLUSIONI

I risultati conseguiti sono assai soddisfacenti; in particolare quelli delle prove *in vivo* in cui è stato possibile dimostrare l'assenza di una qualunque influenza del terpene sulla qualità sensoriale del latte e sulla sua flora tecnologicamente utile. Questo risultato è particolarmente promettente per il settore della produzione del latte che ha il massimo interesse a conservare la diversità microbiologica che caratterizza le produzioni tipiche ma che al contempo deve confrontarsi con le regole stringenti dei criteri microbiologici espressi nel pacchetto Igiene. Il lavoro ha ricevuto finanziamenti da TRUEFOOD - "Traditional United Europe Food" è un progetto integrato finanziato dalla Commissione Europea nel 6° Programma Quadro per Ricerca e Sviluppo Tecnologico - Contratto n. FOOD-CT-2006-016264.

### RINGRAZIAMENTI

Gli autori desiderano ringraziare: M.G. Ammendolia, V. Mannoni, G. Riccardi, F. Superti, S. Fuselli, R. Morlino (ISS); G. Giacinti, A. Tammaro (IZS Lazio e Toscana); B.Oliva, E. Pontieri (Università de L'Aquila); G.Varisco (IZS Lombardia ed Emilia Romagna); I. Verdier-Metz, Celine Delbes P. Pradel (INRA- Francia); John Samelis (Dairy Research Institute of Ioannina - Grecia); Irena Rogelj (University of Ljubljana - Slovenia); Klaus Neuhaus (München Technical University - Germania).

### BIBLIOGRAFIA

**Mølbak** K. 2004. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans--the public health consequences. *J. Vet. Med. Infect Dis Vet Public Health* Oct-Nov; 51(8-9):364-369; **Joint** FAO/WHO/OIE Expert Meeting on Critically Important Antimicrobials . 2007; **NCCLS**. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. M31-.A2 vol 22 n.5, 2002; **EN** 1656:2000 Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants used in veterinary field. Test method and requirements); **AFNOR**, Sensory analysis. Methodology. Triangle test, Standard NF V 09-013, Agence française de normalisation, Paris, France,1983; **AFNOR**, Sensory analysis. Methodology. Triangle test, Standard NF V 09-016, Agence française de normalisation, Paris, France -1983.





## **MALATTIE EMERGENTI DEGLI ANIMALI CONDIZIONATE DA FATTORI AMBIENTALI E CLIMATICI**

**Nazareno Renzo Brizioli, Francesco Filippetti**

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma*

Nel corso degli ultimi decenni sono comparse, talvolta ricomparse, malattie importanti delle diverse specie animali, di cui alcune zoonomiche, favorite da cambiamenti dell'ecosistema.

Tra questi vanno considerati gli interventi dell'uomo di deforestazione, alterazione del corso dei fiumi, inquinamento ambientale, traslocazione forzata di specie viventi a causa di eventi bellici.

Questi interventi hanno determinato profonde alterazioni nei rapporti tra allevamenti ed ambiente con possibili emergenze di patologie dapprima poco conosciute o limitate a specifici ecosistemi e la loro diffusione anche a causa della moltiplicazione di antropodi vettori, favorita dal riscaldamento globale.



# POTENZIALITÀ E LIMITI DELLE MEDICINE NON CONVENZIONALI (MNC) NELLA GESTIONE SANITARIA DEGLI IMPIANTI DI ACQUACOLTURA

Emilio Guandalini<sup>1</sup>, Vincent Hull<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità - Dip. Sanità Pubblica Vet. e Sicurezza Alimentare, Roma

<sup>2</sup>Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura-Centro di Ricerca per la produzione delle carni e il miglioramento genetico, Monterotondo, Roma

## RIASSUNTO

*Le patologie ittiche possono essere, ancora oggi, le principali cause di danni alle produzioni e quindi all'economia di un impianto d'acquacoltura. Sono oltre 200 le patologie che rivestono importanza sanitaria per gli allevamenti ittici nel mondo. Nel 2004, la Commissione ha stimato che le perdite dovute alle malattie ittiche, per i paesi dell'Unione Europea, siano state dell'ordine del 15-20% sulla produzione totale, corrispondente ad una perdita economica di 500 milioni di euro, su un valore complessivo di 2,5 miliardi di euro. Gli interventi terapeutici e di profilassi, con farmaci tradizionali e vaccini autorizzati, non risultano sempre sufficienti ed efficaci. Inoltre, c'è una crescente attenzione alle problematiche di impatto ambientale per l'impiego di sostanze attive che entrano nell'ecosistema acquatico e per la sicurezza degli alimenti, relativamente alla potenziale presenza di residui chimici nei tessuti degli organismi allevati. Per queste motivazioni, appare utile considerare nuovi approcci per la gestione delle problematiche sanitarie di questo comparto, andando a ricercare sostanze naturali con principi attivi estratti da piante, alghe, batteri, lieviti, ed anche prendendo spunto da studi ed esperienze delle altre medicine cosiddette non convenzionali (MNC).*

**Parole chiave:** acquacoltura, patologie ittiche, medicine non convenzionali.

## IL QUADRO PRODUTTIVO

Nel 2008, la produzione mondiale della pesca e d'acquacoltura (pesci, molluschi e crostacei) ha raggiunto i 141,6 milioni di tonnellate, con un leggero incremento (+0,9%) rispetto al 2007. Ma mentre la pesca è più o meno stabile intorno ai 90 milioni di tonnellate, l'acquacoltura è cresciuta del 2,5% toccando i 51,6 milioni di tonnellate (Fao, 2009).

L'acquacoltura segna un costante sviluppo produttivo: nell'ultima decade la produzione è raddoppiata passando da 24,4 milioni di t nel 1995, ai quasi 52 milioni di t del 2008, con una crescita stimabile in circa il 6% per anno e contribuendo per il 36% del volume totale delle produzioni ittiche sbarcate, per un valore calcolato in 78 miliardi di US\$. L'acquacoltura è l'unico segmento zootecnico che negli ultimi anni ha mostrato tali performance di sviluppo. Sempre secondo la FAO, si stima che circa il 43% del pesce attualmente inviato al consumo umano è di allevamento. Questo dato riveste una notevole importanza, tenuto conto che entro il 2030, in relazione alla crescita della popolazione mondiale, saranno necessari ulteriori 40 milioni di tonnellate di organismi



acquatici per poter mantenere gli attuali consumi medi pro capite stimati in 16 kg/anno. Solo l'acquacoltura sembra possedere il potenziale necessario per incrementare e raggiungere certi livelli di produzione.

Bilancia mondiale	2006	2007	2008 stima	var. % 08/07
	Milioni di tonnellate			
<b>Produzione</b>	137,2	140,4	141,6	0,9
Pesca	89,9	90,1	90,0	-0,1
Acquacoltura	47,3	50,3	51,6	2,5
Esportazioni mondiali in valore (miliardi di US\$)	85,9	92,8	99,5	6,9
Esportazioni mondiali in volume (peso vivo)	53,8	52,9	52,6	-0,6
<b>Utilizzazione</b>				
Per alimentazione umana	110,2	112,8	113,9	1,0
Per produzione di alimenti	20,9	20,8	20,6	-1,0
Altri usi	6,1	6,8	7,1	4,4
<b>Domanda e fabbisogno alimentare</b>				
Consumo pro capite di pesce (kg/anno)	16,7	16,9	16,9	-0,2
da pesca (kg/anno)	9,0	8,9	8,5	-4,3
da acquacoltura (kg/anno)	7,4	7,8	8,1	3,3

**Tab. 1** - Produzione ittica mondiale (Fao, 2009)

#### Quadro sanitario internazionale

Una delle più note malattie che ha causato enormi danni economici è la White Spot Disease, un agente virale che colpisce i gamberi peneidi. Segnalata inizialmente nel 1991 nell'area di Taiwan, si è diffusa praticamente in tutti gli allevamenti di crostacei di tutto il mondo. La perdita economica determinata solo da questa patologia è stata stimata a 3 miliardi di dollari/anno (Hill, 2001). In Indonesia, nel 2003, la Koi Herpes Virus (KHV), una malattia virale delle carpe, ha causato perdite per 5,5 milioni di dollari. In Thailandia, tra il 1998 e il 2002, le perdite negli allevamenti di tilapia, causate da un piccolo crostaceo parassita (*Alitropus typus*), sono state valutate intorno a 468 milioni di dollari.

In tutte le aree del mondo sono state riconosciute più di 200 le patologie che rivestono importanza sanitaria per gli allevamenti ittici. Negli ultimi due decenni, gli scambi commerciali di animali vivi (uova, avannotti e pesci vivi) da aree geograficamente molto distanti hanno avuto un incremento enorme, trasportando così anche agenti infettivi nuovi in aree prima indenni. Per questo motivo, le più importanti agenzie internazionali, come la FAO e l'OIE, stanno sollecitando tutti gli Stati a promuovere strategie per contenere il rischio sanitario negli allevamenti in tutte le regioni del mondo. Per perseguire questo obiettivo l'OIE ha predisposto una lista delle principali patologie ittiche di particolare importanza, per le ricadute socio economiche, a livello internazionale (OIE, 2008).



Specie	t
Spigole	9.800
Orate	9.600
Cefali	3.000
Anguille	1.600
Trote	39.400
Pesci gatto	600
Carpe	600
Storioni	1.350
Altri pesci*	6.500
<b>Totale pesci</b>	<b>72.450</b>
Mitili**	125.000
Vongole veraci	45.000
<b>Totale molluschi</b>	<b>170.000</b>
<b>Totale acquacoltura</b>	<b>242.450</b>

**Tab. 2** - Produzione acquacoltura in Italia 2008 (API, 2009; Ismea, 2009)

\*Insieme di ombrina, sarago, salmerino, luccio. \*\*Inclusi i mitili da banchi naturali.

Anche la Comunità europea mostra attenzione alle problematiche sanitarie dell'acquacoltura europea. In sintonia con l'OIE, ha predisposto con la Direttiva 2008/88/CE una serie di raccomandazioni e linee guida per evitare la diffusione dei patogeni, stilando specifici elenchi di patologie e di specie ittiche sensibili.

#### **Farmaci e disinfettanti autorizzati per l'acquacoltura in Italia**

Negli allevamenti, dove generalmente è alto il carico di pesce per volume d'acqua (35-50 kg/m<sup>3</sup>), le condizioni di stress degli animali aumentano, favorendo lo sviluppo di infezioni. Per combattere le numerose patologie si è ricorsi all'impiego di vaccini, di farmaci veterinari e di varie sostanze disinfettanti. I farmaci veterinari, i principi attivi ed altre sostanze ad azione disinfettante possono essere impiegati sugli animali acquatici solo se:

a) valutati positivamente dall'EMA e quindi inseriti negli allegati del Regolamento CE n. 2377/90;

b) registrati ed autorizzati all'uso specifico per pesci (AIC) dal Ministero della Salute.

Le principali disposizioni legislative che regolamentano l'uso del farmaco veterinario sono: D. Lgs. 6 aprile 2006, n.193; D. Lgs. 16 marzo 2006, n.158; Reg. (CE) n. 726/2004 del 31 marzo 2004; Reg.(CE) n. 2377/90 del 26 giugno 1990.

In base alle leggi sopra citate, i farmaci registrati in Italia per l'impiego specificatamente in acquacoltura al momento risultano: 1) **clortetraciclina**; 2) **ossitetraciclina**; 3) **amoxicillina**; 4) **flumequina**; 5) **sulfadiazina + trimetoprim**; 6) **bronopol**. I primi cinque principi sono molecole inserite nell'Allegato I del Regolamento 2377/90, quindi con definiti *livelli massimi di residui* (MRL). Il bronopol è inserito in Allegato II (senza MRL), e al momento è l'unico composto autorizzato dell'ampia classe dei disinfettanti che può essere impiegato direttamente nell'ambiente



acquatico in presenza di pesci (Tab. 3), (Guandalini, 2003-2006). I vaccini registrati sono per la prevenzione della Bocca rossa (*Yersinia ruckeri*) e della Vibriosi (*Vibrio anguillarum*, *V.salmonicida*). Alcuni Istituti Zooprofilattici (IZS) sono autorizzati alla produzione ed all'impiego di vaccini stabulogeni contro la streptococcosi.

Farmaco	MRL	Patologie	Pesci
Clortetraciclina	100 µg/kg	Foruncolosi ( <i>Aeromonas salmonicida</i> )	Salmonidi
Ossitetraciclina	(muscolo + pelle)	Pseudotubercolosi ( <i>Photobacterium damsela</i> ssp. <i>piscicida</i> )	Pesci marini
		Vibriosi ( <i>Vibrio anguillarum</i> , <i>V.oralii</i> ); Bocca rossa ( <i>Yersinia ruckeri</i> )	Salmonidi
		Infezioni da <i>A. hydrophila</i> ; <i>Edwardsiella tarda</i> ; <i>Flexibacter</i> sp.	Anguilla, ciprinidi
Amoxicillina triidrato	50 µg/kg (muscolo + pelle)	Foruncolosi ( <i>Aeromonas</i> sp); Pseudotubercolosi	Salmonidi
		( <i>Photobacterium damsela</i> ssp. <i>piscicida</i> ); Streptococcosi ( <i>Streptococcus</i> sp; <i>Lactococcus garvie</i> )	Pesci marini
Flumequina	600 µg/kg (muscolo + pelle)	Foruncolosi ( <i>Aeromonas</i> sp; <i>A. hydrophila</i> ); Vibriosi ( <i>V. anguillarum</i> ; <i>V. oralii</i> ); Bocca rossa ( <i>Y. ruckeri</i> ).	Salmonidi
Sulfadiazina + Trimetoprim	100 µg/kg (muscolo + pelle)	Foruncolosi ( <i>Aeromonas</i> sp); Vibriosi ( <i>V.anguillarum</i> ; <i>V.salmonicida</i> ); Bocca rossa ( <i>Y.ruckeri</i> ).	Salmonidi
Bronopol	Nessuno (All. II)	Micosi ( <i>Saprolegnia</i> spp.); Infezioni batteriche aspecifiche	Salmonidi

**Tab. 3** - Farmaci registrati in Italia per l'acquacoltura

Come si può rilevare dalla tab.3, il numero dei principi attivi è contenuto ed alcuni mostrano una limitata efficacia su diversi patogeni prima sensibili a quella sostanza. Un sol composto ad azione disinfettante e antimicotica per uova e avannotti di salmonidi.

### **I limiti dell'intervento terapeutico classico**

In una prima fase, a livello internazionale questo tipo di intervento ha fatto registrare una complessiva riduzione delle infezioni, facendo sperare in una tranquilla gestione delle problematiche sanitarie. Nel tempo invece sono affiorati una serie di limiti:



a) l'eccessivo o non controllato uso di antimicrobici ha determinato lo sviluppo dell'antibiotico resistenza in alcune specie di patogeni con potenziali rischi di passaggio della resistenza all'uomo;

b) l'impatto ambientale su altre comunità acquatiche e la permanenza nell'ambiente di sostanze attive. Per questi motivi si è cercato di elaborare nuovi vaccini ed altri principi immunostimolanti per limitare quanto possibile l'uso del farmaco veterinario.

Inoltre, sono state predisposte linee guida sulle buone pratiche di allevamento e un codice di condotta responsabile, per un approccio basato più sulla prevenzione che sulla terapia.

Nonostante questi progressi, molte patologie hanno continuato a manifestarsi ed il ricorso a molecole farmacologicamente attive è spesso risultato indispensabile, anche in relazione alla diffusione di nuovi agenti eziologici.

### **Il potenziale delle sostanze naturali e delle medicine non tradizionali in acquacoltura**

Negli ultimi anni, alla luce delle problematiche e dei limiti precedentemente descritti, è cresciuta l'attenzione verso il potenziale espresso dalle sostanze naturali. Al momento non sono molti i principi naturali utilizzati in piscicoltura, ma solo perché gli studi e le ricerche in questo campo sono molto giovani.

Uno dei primi approcci *naturali* è passato attraverso l'impiego di sostanze ad azione immunostimolante come i glucani (Engstad et al., 1992), glucani+vitamina C (Verlhac et al., 1996), lipopolisaccaridi (Dalmo et al., 1995). Queste sostanze impiegate come additivi nei mangimi sembrano stimolare il sistema immunitario, determinando nel complesso una maggiore attivazione di macrofagi e di lisozima.

I probiotici (selezionati organismi microbici) agiscono migliorando i meccanismi enzimatici della digestione, facilitano l'assorbimento del cibo, inibiscono i microrganismi patogeni e accrescono la risposta immunitaria (12). *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus spp.*, *Carnobacterium inihbens*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas spp.*, *Lactobacillus spp.*, sono le specie di batteri più comunemente usati come probiotici. *Saccharomyces cerevisiae* tra i funghi. Generalmente si impiegano le spore o ceppi attenuati o componenti purificate di questi microrganismi.

Anche gli estratti di diverse piante sono stati saggiati. L'estratto di zenzero (*Zingiber officinale*) ha mostrato evidente attività immunostimolante su trote trattate (*Oncorhynchus mykiss*), mentre non si è osservata alcun tipo di effetto utilizzando il vischio (*Viscum album*) e l'ortica (*Urtica dioica*). Questi ultimi invece ben conosciuti proprio per la loro attività immunostimolante nell'uomo colpito da alcune importanti patologie (Karatas et al., 2003).

Una miscela purificata e sterilizzata di estratti da foglie fresche di neem (*Azadirachta indica*), basilico (*Ocimum sanctum*) e curcuma (*Curcuma longa*) ha mostrato una interessante attività su *Carassius auratus* infettato sperimentalmente da *Aeromonas hydrophila*. La miscela, somministrata intramuscolo, ha agito diminuendo la % di mortalità e di infezione (R.Harikrishnan et al., 2009).

Alcune specie di lieviti (*Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*) somministrati a trote sempre come integratori nel mangime hanno influenzato l'attività dei leucociti del sangue (Siwicki et al., 1994).

Anche dalle alghe possono dare importanti contributi. *Tetraselmis suecica* è una microalga che, somministrata attraverso il mangime, riduce la mortalità causata da



*V.anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, *A.salmonicida* . Questa attività è stata confermata anche su colture cellulari in laboratorio.

Infine, non si può non rammentare che la Cina, leader mondiale nelle produzioni d'acquacoltura dolce, soprattutto di carpe, ha gestito da più di 2 mila anni (da tanto risale l'allevamento della carpa in Cina) le patologie degli animali acquatici utilizzando principalmente composti estratti da erbe e piante. Difficile pensare siano stati solo interventi palliativi.

Valutazione valida anche per le medicine indiane e la medicina Thai. La letteratura scientifica degli ultimi anni si sta arricchendo di questi studi, molti dei quali svolti da ricercatori di istituzioni pubbliche di queste nazioni.

## CONCLUSIONI

Le perdite economiche determinate dalle patologie ittiche sono ragguardevoli sia in termini di volumi che di valore economico, come riportato all'inizio.

Oggi, i farmaci veterinari a disposizione per l'acquacoltura mostrano molti limiti: disponibilità, efficacia, impatto, residui, resistenza. Inoltre, non ci sono terapie valide per una serie di importanti patologie ittiche presenti nella maricoltura italiana (ma anche di altri paesi mediterranei), come la Nodaviriosi (Encefalopatia Retinopatia Virale), la Tubercolosi (*Mycobacterium marinum*), l'Infezione Enterica (*Enteromyxum leei*), la Linfocisti (Iridovirus), la Winter disease, le infezioni parassitarie da protozoi, elminti, ectoparassiti.

Senza principi attivi anche alcune importanti patologie dei pesci allevati in d'acqua dolce: la Necrosi Ematopoietica Infettiva (IHN-Rhabdovirus), la Malattia Proliferativa Renale (PKD-*Tetracapsuloides bryosalmonae*).

La streptococcosi (*Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *S. agalactiae*), che ha causato importanti perdite negli anni passati, è ora contrastata da vaccini stabulogeni prodotti da alcuni IZS. In Italia è registrata una sola sostanza disinfettante presente in Allegato II. Al momento non risulta registrato alcun anestetico, né antiparassitario.

Tale situazione, consente di ipotizzare una diversa strategia nella ricerca scientifica per l'individuazione di nuovi principi presenti negli organismi vegetali o provenienti dall'attività della flora batterica e fungina. Sostanze che stanno offrendo interessanti risultati.

Ovviamente, anche gli elementi attivi provenienti dalle sostanze naturali per impiego in acquacoltura devono rientrare nei basilari principi della farmacopea classica: efficacia, sicurezza e qualità. Inoltre, la ricerca di questo tipo di sostanze dovrebbe tenere in considerazione la reperibilità dei prodotti base (piante, alghe) e i costi finali non dovrebbero risultare eccessivi per le aziende ittiche, soprattutto in confronto con quelli tradizionali.

Infine, l'impiego di sostanze naturali alternative a quelle tradizionali per contrastare le eventuali patologie assume crescente importanza in relazione allo sviluppo di allevamenti ittici che producono applicando i principi dell'agricoltura biologica (Ismea, 2007).

## BIBLIOGRAFIA

**Food and Agriculture Organisation of the United Nations.** *State of World Fisheries and Aquaculture 2008*, Rome, 2009. [www.fao.org](http://www.fao.org); API (2009). API-Informa. Giugno



2009; **Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (ISMEA)**. *Il settore ittico in Italia recenti*. Check-up 2008. ISMEA, 2009; **Hill** BJ. National and International impacts of white spot disease of shrimp. *Proceedings of the 10th International Conference of the European Association of Fish Pathologists*. Dublin 9-14 Sep 2001; 2001; **Office International des Epizooties (OIE)**. *International Aquatic Animal Health Code*; 2008; **Guandalini** E. *Farmaci e disinfettanti utilizzabili in acquacoltura in Italia e nei paesi UE (Reg.CE n.2377/90)*. Pg. 1-54. Ed. API, 2003; **Guandalini** E, Esposito AM, Lucchetti D, Fabrizi L, Coni E. L'impiego di eritromicina in acquacoltura: tempi di deplezione e di sospensione per le trote, p.52, *Atti XIII° Convegno Nazionale Società Italiana Patologia Ittica*, Abano Terme (PD), 26-28 ottobre 2006; **Kim** DH, Austin B. Innate immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotics. *Fish & Shellfish Immunology* 2006;21: 513-524; **Engstad**, R.E., Robertson, B., Frivold, E., 1992. *Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood*. *Fish and Shellfish Immunology* 2,287-297; **Verlhac**, V., Gabaudan, J., Obach, A., Schuep, W., Hole, R., 1996. Influence of dietary glucan and vitamin C on non specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 143, 123-133; **Dalmo**, R.A., Seljelid, R., 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran beta-glucan on Atlantic Salmon, *S. salar*, macrophages in vitro. *Journal of Fish Disease* 18, 175-185; **Karatas**, S., Arda, N., Candan, A., 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 99-106; **Harikrishnan**, R., Balasundaram, C., Moon, Y-G., Kim, M-C., Kim, J-S., Heo, M-S., 2009. Use of herbal concoction in the therapy of goldfish (*Carassius auratus*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Bull Vet Inst Pulawy* 53, 27-39; **Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (ISMEA)**. *Il settore ittico in Italia e nel mondo: le tendenze recenti*. Filiera Pesca e Acquacoltura, 341-390, ISMEA 2007.





## **PIANTE OFFICINALI IN ZOOTECNIA: FARMACI VEGETALI O ADDITIVI PER MANGIMI**

**Giovanna Palazzino, Francesca Romana Gallo, Giuseppina Multari, Elena Federici**

*Medicine complementari, naturali e tradizionali, Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### **RIASSUNTO**

Piante officinali in zootecnia: farmaci vegetali o additivi per mangimi. – *Le piante officinali utilizzate in zootecnia possono essere considerate fitoterapici e quindi farmaci vegetali ad uso veterinario se sono somministrate all'animale allo scopo di ripristinare, correggere o modificare le funzioni fisiologiche oppure additivi per i mangimi animali aggiunti essenzialmente per migliorarne le caratteristiche organolettiche. Per questo la vendita di piante officinali e loro derivati in prodotti destinati alla zootecnia è regolamentata dalla disciplina farmaceutica se tali sostanze sono materie prime di medicinali veterinari secondo il D.Lvo 6 Aprile 2006 n. 193, mentre dovrà essere approvata come additivo nei mangimi animali secondo il Regolamento CE n. 1831/2003. Verranno presi in esame i requisiti per ottenere un'autorizzazione alla vendita secondo l'una o l'altra normativa.*

**Parole chiave:** allevamento biologico, piante officinali, farmaci veterinari vegetali, additivi per mangimi.

### **INTRODUZIONE**

Le norme dettate per le produzioni animali in agricoltura biologica, riguardanti l'aspetto sanitario e in particolare la profilassi e le cure veterinarie, fanno esplicito riferimento all'uso preferenziale di prodotti fitoterapici e/o omeopatici secondo quanto disposto dal Reg. CE n. 1804/99 (Consiglio d'Europa, 1999), recepito a livello nazionale con il D. M. n. 91436 del 4 agosto 2000 emanato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, e successive modifiche.

I prodotti fitoterapici e omeopatici di cui viene consigliato l'uso per le cura di animali ammalati o feriti sono prodotti a base di piante officinali, inizialmente definite dalla Legge 6 gennaio 1931 n. 99 (Italia, 1931), ove per "piante officinali si intendono le piante medicinali, aromatiche e da profumo" d'interesse dell'officina farmaceutica annessa o no all'esercizio della farmacia d'un tempo. Oggi però sembrerebbe più opportuno fare una distinzione in funzione della destinazione di impiego dei prodotti di derivazione vegetale in piante medicinali vere e proprie come quelle destinate esclusivamente al settore farmaceutico e/o terapeutico e piante officinali propriamente dette come quelle destinate al settore alimentare e cosmetico.

### **FITOTERAPICI: FARMACI VEGETALI VETERINARI**

Una definizione puntuale di piante medicinali ci viene dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO): sono quelle piante le cui radici, foglie, semi o corteccia



posseggono un'attività terapeutica, tonica, purgativa o altra azione farmacologica quando somministrate agli animali superiori .

Da questa definizione quindi le piante o loro derivati usati nella preparazione di fitoterapici ad uso veterinario ricadono nella disciplina dei medicinali veterinari regolamentata dal D. Lvo 6 Aprile 2006 n.193. All'Art.1 il detto decreto definisce:

a) Medicinale veterinario:

1) ogni sostanza o associazione di sostanze presentate come aventi proprietà curative e profilattiche delle malattie animali;

2) ogni sostanza o associazione di sostanze che può essere usata sull'animale o somministrata all'animale allo scopo di ripristinare, correggere o modificare le funzioni fisiologiche mediante un'azione farmacologica, immunologica o metabolica oppure di stabilire una diagnosi medica,

b) Sostanza (attiva): ogni materia (prima) indipendentemente dall'origine; tale origine può essere:

1) umana, come sangue e suoi derivati

2) animale, come microrganismi, animali interi, parti di organi, secrezioni animali, tossine, sostanze ottenute per estrazione

3) vegetale, come microrganismi, piante, parti di piante, secrezioni vegetali, sostanze ottenute per estrazione dalle piante

4) chimica, come elementi, materie chimiche naturali e prodotti chimici di trasformazione e di sintesi

f) Medicinale veterinario omeopatico: ogni medicinale veterinario ottenuto da sostanze denominate materiali di partenza omeopatici secondo un processo di fabbricazione omeopatica come descritto dalla Farmacopea Europea o, in assenza di tale descrizione, dalle farmacopee attualmente utilizzate ufficialmente dagli Stati membri. Un Medicinale veterinario omeopatico può contenere più materiali di partenza;

Un medicinale veterinario a base di sostanza vegetale come fitoterapico e/o omeopatico necessita, quindi, di un'autorizzazione per l'immissione al commercio rilasciata dopo attenta valutazione, caso per caso, delle prove analitiche chimico-farmaceutiche (Quality aspects), farmaco-tossicologiche (Preclinical tests) e cliniche (Clinical aspects), da allegare obbligatoriamente alla domanda di registrazione in un dossier redatto come descritto nell'Allegato I del D.Lvo n. 193/2006. Tale disciplina si applica anche a tutti quei prodotti preconfezionati che per l'insieme delle loro caratteristiche rientrano nella definizione di medicinale veterinario, anche se definiti come prodotti diversi e disciplinati da altre normative (ad esempio alimenti, additivi alimentari o integratori alimentari). All'Art. 14 dello stesso D.Lvo n. 193 è prevista una procedura semplificata di registrazione su base bibliografica che può applicarsi anche ai medicinali vegetali d'uso consolidato in veterinaria, similmente a quanto disposto all'Art. 21 del D. L.vo 26 aprile 2006 n. 219 per i medicinali vegetali tradizionali ad uso umano, quando può essere dimostrato che la sostanza attiva vegetale con cui è preparato il medicinale veterinario è impiegata da almeno 10 anni nella Comunità Europea. La sostanza vegetale d'uso veterinario consolidato deve comunque presentare una qualità certificata da metodi analitici di controllo, stabilità e purezza secondo quanto richiesto nella Parte 2 dell'Allegato I, oltre ad avere una riconosciuta efficacia ed un livello accettabile di sicurezza secondo le condizioni di cui allo stesso, dimostrate con un'appropriata



letteratura scientifica di riferimento. La sostanza vegetale d'uso consolidato in veterinaria può essere tuttavia autorizzata come medicinale per gli animali da produzione alimentare solo se è stabilito per essa il limite massimo di residui consentito nei prodotti alimentari derivati, secondo quanto disposto dal Reg. CE n. 2377/90.

Con questo Regolamento il Consiglio dell'Unione Europea definisce una procedura comunitaria per la determinazione dei Limiti Massimi di Residui (LMR) di medicinali veterinari negli alimenti di origine animale: la concentrazione massima di residui consentita in detti alimenti deve essere autorizzata dalla Commissione Europea, assistita dal Comitato per i prodotti medicinali per uso veterinario (CVMP) dell'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA). Il LMR "viene stabilito sulla base del tipo e del quantitativo del residuo considerato esente da rischi tossicologici per la salute umana secondo il criterio della Dose Giornaliera Accettabile (DGA) o sulla base di una DGA temporanea che utilizzi un fattore di sicurezza supplementare". La DGA viene definita come una stima della dose di sostanza che ingerita quotidianamente per tutta la vita da una persona non determina un rischio per la salute, dose ottenuta attraverso numerosi studi in vitro e in vivo su animali (WHO, 1987). La valutazione dei dati di sicurezza per le sostanze usate nei medicinali veterinari, allegati alle domande per la fissazione dei LMR, da parte del CVMP dell'EMA ha portato alla suddivisione delle stesse negli Allegati I, II, III e IV del Reg. CE n. 2377/90 aggiornato al 16.08.2008 (Consiglio d'Europa, 1990 e 2008). L'Allegato I riunisce le sostanze farmacologicamente attive impiegate nei medicinali veterinari per le quali sono definitivamente fissati i limiti massimi di residui (LMR) accettabili negli alimenti derivati dagli animali trattati. L'Allegato II è l'elenco delle sostanze per le quali non necessita stabilire un LMR per la protezione della salute pubblica, ma che tuttavia non sono da considerare come genericamente sicure, come precisa lo stesso Comitato CVMP (an entry in Annex II is not equivalent to the status "generally recognised as safe") in un suo documento (EMA, 2005). L'Allegato III riunisce le sostanze per le quali sono stati fissati dei LMR provvisori. L'Allegato IV elenca le sostanze farmacologicamente attive per le quali non possono essere fissati LMR sia per mancanza di dati tossicologici sui residui sia perché la presenza di questi può comportare comunque un rischio per la salute pubblica, per cui ne è vietato l'uso medicinale su tutte le specie animali da produzione alimentare.

Il Comitato CVMP ha riunito diverse sostanze vegetali nell'Allegato II: alcune specie botaniche generalmente riconosciute tossiche, come *Adonis vernalis*, *Atropa belladonna*, *Tuja occidentalis*, sono qui riportate perché sono sostanze da impiegarsi esclusivamente in medicinali veterinari omeopatici preparati secondo le farmacopee omeopatiche e quindi a concentrazioni nel prodotto non superiori a una parte su 10000 o nei limiti specifici riportati nelle disposizioni tabellate; altre sostanze vegetali sono limitate ad una sola via di somministrazione (topica). Dall'Allegato IV risultano tra le sostanze vietate nei medicinali per animali da produzione alimentare anche piante e derivati del genere *Aristolochia*, perché il Comitato CVMP ha ritenuto opportuno considerare i residui di queste specie vegetali un pericolo per la salute dei consumatori (EMA, 1997).



### **FITODERIVATI: ADDITIVI PER MANGIMI**

Le piante officinali che vengono usate dalla tradizione per il benessere dell'organismo animale o le piante che vengono utilizzate come additivi nei mangimi animali non rientrano nella disciplina farmaceutica sopra riportata. Qui si tratterà di piante diverse da quelle utilizzate come foraggio o utilizzate come materie prime per la preparazione dei mangimi elencate nell'Allegato II parte C.1 del Reg. CEE n. 1804/99 su la zootecnia biologica (Consiglio d'Europa, 1999).

Un ingrediente vegetale può essere, infatti, introdotto come additivo nei mangimi animali per migliorarne le caratteristiche, ad esempio per renderli più appetibili e digeribili. Quando un vegetale, piante frantumata o suo derivato, deve essere utilizzato come additivo alimentare animale deve essere approvato a livello europeo secondo il Reg. CE n. 1831/2003 che istituisce una procedura comunitaria per l'autorizzazione all'immissione sul mercato e all'utilizzazione degli additivi destinati all'alimentazione animale e introduce norme per il controllo e l'etichettatura degli stessi. Secondo tale procedura un additivo per mangimi può essere approvato se: a) non ha influenza sfavorevole sulla salute umana o animale o sull'ambiente; b) non è presentato in modo tale da trarre in inganno l'utilizzatore; c) non danneggia il consumatore influenzando negativamente sulle caratteristiche specifiche dei prodotti di origine animale o traendolo in inganno riguardo tali caratteristiche. L'additivo per mangimi può: a) influenzare le loro caratteristiche; b) influenzare favorevolmente le caratteristiche dei prodotti di origine animale; c) influenzare favorevolmente il colore dei pesci e uccelli ornamentali; d) soddisfare le esigenze nutrizionali degli animali; e) avere un effetto positivo sulle conseguenze ambientali della produzione animale; f) influenzare favorevolmente la produzione, le prestazioni o il benessere degli animali influenzando, in particolare, sulla flora digeribilità o sulla digeribilità degli alimenti per animali; g) avere un effetto coccidiostatico o istomonostatico. I requisiti su esposti devono essere dimostrati da studi effettuati e da qualsiasi altro materiale disponibile da allegare alla domanda di autorizzazione. Tale domanda deve essere corredata anche da una descrizione del metodo di produzione, fabbricazione e utilizzazione prevista per l'additivo da valutare, nonché da una descrizione del metodo d'analisi nel mangime e anche, eventualmente, del metodo d'analisi per la determinazione del livello di residui dell'additivo o suoi metaboliti presenti negli alimenti derivati. In base alle caratteristiche elencate sono definite cinque diverse categorie di additivi per mangimi: 1) additivi tecnologici; 2) additivi organolettici; 3) additivi nutrizionali; 4) additivi zootecnici; 5) coccidiostatici e istomonostatici. L'organismo preposto a valutare l'efficacia e la sicurezza degli additivi per mangimi, tenendo conto sia della salute dell'uomo e degli animali, sia dell'ambiente, è riconosciuto nell'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), istituita dal Reg. CE n. 178/2002 (Consiglio d'Europa, 2002). Per ogni additivo per mangimi da autorizzare viene redatto un parere scientifico da parte del Gruppo FEEDAP, gruppo di esperti scientifici sugli additivi e i prodotti o le sostanze usati nell'alimentazione animale presso l'EFSA, mentre il laboratorio comunitario di riferimento verifica i metodi analitici, allegati dalle aziende alla domanda di autorizzazione, per rilevare la presenza dello stesso additivo nei mangimi e dei suoi possibili residui negli alimenti (Articolo 7, Reg. CE n. 1831/2003). Quando il parere è favorevole, la Commissione Europea predisporre un progetto di regolamento per l'autorizzazione dell'additivo per mangimi e aggiorna con proprio decreto il "Registro



comunitario degli additivi per mangimi”, istituito con lo stesso Reg. CE n. 1831/2003. La prima edizione di questo Registro è del novembre 2005, l’ultima, la 51<sup>a</sup>, risale appena al maggio 2009, pubblicato a scopi esclusivamente informativi perché non sostituisce gli atti giuridici comunitari di autorizzazione degli additivi che avvengono attraverso appositi Regolamenti, come viene precisato dalla Commissione Europea nelle note esplicative del 26.11.2006 (European Commission, 2006).

Nel Registro comunitario (European Commission, 2009) sono riportate circa 600 piante e loro derivati, che, già presenti sul mercato, sono stati autorizzati e classificati esclusivamente come additivi organolettici (Categoria 2) aromatizzanti (gruppo funzionale b) dopo presentazione di una richiesta di autorizzazione in conformità all’Articolo 7 suddetto. Nel formulare i primi pareri sui dossier allegati alle domande di autorizzazione per gli additivi vegetali, il gruppo FEEDAP nel 2005 ha ravvisato la necessità di effettuare uno studio per la valutazione del rischio sull’uso di piante e loro derivati come additivi nei mangimi (Franz et al., 2005). In tale studio sono state elaborate alcune monografie modello che riuniscono le più recenti informazioni scientifiche in relazione all’uso, alla fitochimica, alla farmacologia, all’attività antimicrobica, all’efficacia e sicurezza d’uso per 42 piante selezionate tra quelle utilizzate come additivi organolettici nell’alimentazione animale. I risultati di questo studio possono essere preliminari allo sviluppo di linee guida da parte dell’EFSA e della Commissione Europea per l’autorizzazione di prodotti fitoderivati all’uso di additivi nell’alimentazione animale. In particolare viene ritenuto un prerequisito irrinunciabile la qualità di questi prodotti per quanto attiene i metodi analitici di controllo, la stabilità e la loro purezza, a garanzia della loro sicurezza ed efficacia d’uso.

## CONCLUSIONI

Dall’esame delle normative che regolano la commercializzazione delle piante officinali e fitoderivati in zootecnia sia come medicinali veterinari sia come additivi per mangimi destinati agli animali per produzioni alimentari, requisiti imprescindibili per la salute del consumatore risultano essere:

- assicurazione della qualità dei prodotti e delle materie prime vegetali
- determinazione del livello dei residui della sostanza vegetale o dei suoi metaboliti negli alimenti derivati dagli animali trattati nel rispetto dei limiti massimi consentiti secondo il Regolamento CE 2377/90.

## BIBLIOGRAFIA

**Consiglio d’Europa**, 1990 e 2008. Regolamento CEE n. 2377/90 del 26 giugno 1990 che definisce una procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui medicinali veterinari negli alimenti di origine animale.

Versione consolidata 058.002 del 16.08.2008, <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1990R2377:20080816:IT:PDF>.

**Consiglio d’Europa**, 1999. Regolamento CEE n.1804/99 del 19 luglio 1999 che completa, per le produzioni animali, il regolamento CE n 2092/91 relativo al metodo di produzione biologica di prodotti agricoli e all’indicazione di tale metodo sui prodotti agricoli e sulle derrate alimentari. G. U. delle Comunità Europee L 222 del 24.8.1999, p 16.

**Consiglio d’Europa**, 2003. Regolamento CE n. 1831/2003 del 22 settembre 2003 sugli additivi destinati all’alimentazione animale. G. U. delle Comunità Europee L 268 del



18.10.2003, pp 29-43. **Consiglio d'Europa**, 2002. Regolamento CE n. 178/2002 del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità per la sicurezza alimentare. G. U. delle Comunità europee L 31 del 1.2.2002, pp 1-24. **EMEA**, 2005. MRL assessment in the context of Council Regulation (EEC) N. 2377/90. Committee for Medicinal Products for Veterinary use, European Medicines Agency, EMEA/CVMP/765/99-Rev.14. **EMEA**, 1997. Committee for Veterinary Medicinal Product. Aristolochia. Summary report. Veterinary Medicines Evaluation, European Medicines Agency, EMEA/MRL/271/97-FINAL. **European Commission**, 2006. Regulation (EC) No 1831/2003. Registro comunitario degli additivi destinati all'alimentazione animale - Note esplicative- 29/11/2006. [http://ec.europa.eu/comm/food/food/animalnutrition/feedadditives/registeradditives\\_en.htm](http://ec.europa.eu/comm/food/food/animalnutrition/feedadditives/registeradditives_en.htm). **European Commission**, 2009 Regulation (EC) No 1831/2003. Community Register of Feed Additives. Rev. 48. Appendixes 3& 4, Annex: List of Additives – 23.04.2009. [http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/registeradditives\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/animalnutrition/feedadditives/registeradditives_en.htm). **Franz Ch.**, Bauer R., Carle R., Tedesco D., Tubaro A., Zitterl-Eglseer K., 2005. Study on the assessment of plants/herbs, plant/herb extract and their naturally or synthetically produced components as “additives” for use in animal production. CFT/EFSA/FEEDAP/2005/01. [http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-178620753812\\_1178634407879.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-178620753812_1178634407879.htm). **Italia**, 1931. Legge 6 gennaio 1931 n. 99. Disciplina della coltivazione, raccolta e commercio delle piante officinali. G. U. del 19 febbraio 1931 n. 41. **Italia**, 2006. Decreto Legislativo 6 aprile 2006 n. 193. Attuazione della Direttiva 2004/28/CE recante un codice comunitario sui medicinali veterinari. G. U. del 26 maggio 2006 n. 121: Supplemento ordinario n. 127. **WHO**, 1987. Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. IPCS Environmental Health Criteria 70, World Health Organisation, Geneva. **WHO**, World Health Organisation, [http://www.who.int/topics/plants\\_medicinal/en/](http://www.who.int/topics/plants_medicinal/en/)



## **L'ESPERIENZA DELL'IZS DELL'ABRUZZO E DEL MOLISE "G. CAPORALE" NELLE ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA E CONTROLLO DELLE MALATTIE TRASMESSE DA VETTORI**

**Rossella Lelli, Ilaria Pascucci, Rossana Bruno, Simona Forcella, Simona Iannetti,  
Francesca Sauro, Paolo Calistri**

*Istituto Zooprofilattico Sper. dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale", Teramo*

### **RIASSUNTO**

*Nel presente lavoro vengono descritte le caratteristiche delle emergenze sanitarie causate dalle patologie trasmesse da vettori in relazione ai disequilibri dell'ecosistema causati da cambiamenti climatici ed ambientali nonché le esperienze dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale con i suoi centri di referenza nazionali e come centro di collaborazione dell'organizzazione mondiale per la sanità animale (OIE) nello studio, sorveglianza e prevenzione delle malattie trasmesse da vettori. In particolare sono descritte le esperienze maturate riguardo l'attivazione e la gestione di piani di sorveglianza nazionali, la progettazione, gestione e coordinamento di reti di sorveglianza nazionali ed internazionali, le attività di collaborazione e di assistenza tecnica attivate a livello internazionale, nonché l'impegno sostenuto nello sviluppo di metodologie di formazione a distanza (e-Learning) sulle principali malattie animali e zoonosi emergenti.*

### **INTRODUZIONE**

Tra i problemi che affliggono l'umanità nella sua interezza e che richiedono una soluzione condivisa a livello globale vi è sicuramente la diffusione di patologie che emergono o ri-emergono dall'interfaccia tra uomo, animali e l'ambiente in cui essi vivono. Il nostro pianeta di fronte a tali sfide globali che ne mettono a repentaglio la sopravvivenza stessa, non può che essere considerato che come un unico ecosistema il cui studio necessita un approccio innovativo e lungimirante.

Tale ecosistema sotto la pressione di alcuni fattori concomitanti tra i quali i mutamenti climatici, l'aumento demografico, l'incremento dell'urbanizzazione, i cambiamenti nell'uso del suolo, l'incremento dei movimenti dell'uomo e degli animali, la dislocazione di specie selvatiche alloctone e la sempre più diseguale distribuzione della ricchezza, è sottoposto continuamente ad un notevole stress che ne influenza le capacità di adattamento a condizioni in continua evoluzione.

Questa situazione instabile rappresenta spesso il substrato favorevole all'instaurarsi di nuove interazioni tra ospiti, agenti patogeni e loro eventuali vettori in grado di causare l'emergenza di nuove infezioni o la ri-emergenza di malattie già da tempo conosciute. Secondo quanto emerge da un rapporto FAO-WHO-OIE, infatti, è possibile classificare come zoonosi il 75% delle malattie emergenti degli ultimi 20 anni, alcune di queste



patologie, a dispetto della loro origine animale (HIV, SARS, influenza di origine suina H1N1), si sono evolute come malattie essenzialmente dell'uomo.

In questo contesto le malattie trasmesse da vettori, grazie alla complessità dei loro cicli biologici, ricoprono sicuramente un ruolo di primo ordine. L'epidemiologia di tali patologie presenta, infatti, intime relazioni con tutti gli elementi dell'ecosistema, siano essi biotici che abiotici. A dispetto degli enormi progressi compiuti dalla ricerca scientifica, molti aspetti di tali relazioni eco-epidemiologiche rimangono, però, ancora poco conosciuti e, in molti casi, sono essi stessi che, in maniera del tutto imprevedibile, favoriscono l'emergenza e la diffusione di tali agenti patogeni.

Numerosi sono gli esempi sia in sanità pubblica sia in sanità animale di emergenze causate da malattie trasmesse da vettori, tra queste ve ne sono alcune un tempo considerate ad esclusivo appannaggio di specifici areali geografici quali la West Nile disease (WND), la Chikungunya, la Bluetongue (BT) e la Rift Valley fever (RVF), ma che recentemente hanno raggiunto ed ampiamente colonizzato aree geografiche anche molto lontane da quelle di origine ed altre, come alcune zoonosi trasmesse da zecche quali Crimean Congo hemorrhagic fever (CCHF), Tick Borne Encephalitis, che registrano ogni anno un costante incremento del numero di casi.

Le malattie esotiche trasmesse da vettori hanno in molti casi un elevato potere di diffusione (malattie transfrontaliere), tale da essere considerate a costante rischio di introduzione nelle aree temperate ed in particolare nell'area mediterranea la quale per motivi geografici, socio-economici ed ecologici si presenta particolarmente vulnerabile. Oltre a ciò è da sottolineare che nel caso delle malattie trasmesse da vettori le misure di controllo diretto sono inefficaci a contenere le perdite e la diffusione dell'infezione e che, quindi, la progettazione e messa in atto di efficaci azioni di sorveglianza e controllo necessitano di un approccio che sia innovativo, multidisciplinare e condiviso a livello nazionale ed internazionale delle autorità politiche e sanitarie.

In tale contesto si inserisce l'attività dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" (IZS A&M) che con il Centro di Referenza Nazionale per lo studio e l'accertamento delle malattie esotiche degli animali (CESME) ed il Centro di Referenza Nazionale per l'epidemiologia, la programmazione, l'informazione veterinaria e per l'analisi del rischio (COVEPI), è da anni impegnato nello studio, nello sviluppo e l'utilizzo di tecniche diagnostiche, nella programmazione di strategie per la sorveglianza ed il controllo delle malattie esotiche trasmesse da vettori.

L'IZS A&M è inoltre centro di collaborazione dell'organizzazione mondiale per la sanità animale (OIE) per l'epidemiologia, la sicurezza alimentare, la formazione veterinaria e il benessere degli animali.

L'esperienza maturata dall'IZS A&M nel campo delle malattie trasmesse da vettori ha coperto diversi settori dalla gestione delle emergenze, alla progettazione, gestione e coordinamento di piani e reti di sorveglianza nazionali ed internazionali, a queste attività vanno ad aggiungersi l'attività di ricerca, le attività di collaborazione e di assistenza tecnica attivate con diversi Paesi extra-Europei e l'impegno nello sviluppo di metodologie di formazione a distanza (e-Learning) per tali Paesi sulle principali malattie animali e zoonosi emergenti.

A seguito vengono esaminate nello specifico alcune esperienze dell'IZS A&M:





La West Nile disease (WND) è una zoonosi virale trasmessa da vettori il cui agente eziologico è un Flavivirus (West Nile virus, WNV), mantenuto in natura da un ciclo primario di trasmissione zanzara-uccello-zanzara, nel quale possono entrare accidentalmente (ospiti a fondo cieco) l'uomo e il cavallo, uniche specie a manifestare la sintomatologia. In Europa la distribuzione geografica della patologia si sovrappone a molte delle zone palustri presenti nella parte meridionale, dove hanno sede i siti di nidificazione di alcuni uccelli migratori che svernano in aree di endemia nell'Africa sub-sahariana, mentre l'insorgenza focolai presenta un trend stagionale i cui picchi si verificano in coincidenza con la stagione di massima attività ed abbondanza dei vettori. Il WNV è un eccellente esempio di agente patogeno capace di superare le barriere geografiche in maniera del tutto imprevedibile così come testimoniato dalla recente epidemia che ha coinvolto tutto il continente americano, area tradizionalmente fuori dalle aree di endemia o di preventivabile introduzione del virus. In Italia, la malattia fu diagnosticata per la prima volta in Toscana (Padule di Fucecchio), nella tarda estate del 1998, quando alcuni cavalli presentarono sintomatologia clinica di tipo neurologico, non si registrarono, invece, casi clinici nell'uomo. A seguito del focolaio del '98 per individuare precocemente la possibile circolazione del WNV il Ministero della Salute decise di istituire un piano di sorveglianza nazionale da attuare annualmente. Il piano di sorveglianza progettato, coordinato e gestito dal CESME prevede che in 15 aree di studio individuate sul territorio nazionale e considerate a rischio di introduzione del WNV si effettuino alcune specifiche attività di sorveglianza: l'esecuzione di test sierologici su una rete di polli sentinella che permetta di svelare l'eventuale circolazione virale, la sorveglianza entomologica per conoscere quali siano le specie di zanzare potenziali vettori presenti nelle aree di studio, la sorveglianza sulle cause di mortalità negli uccelli selvatici e l'esecuzione di test sierologici da effettuarsi prima e dopo l'estate in un campione di cavalli presenti nelle aree di studio in modo da evidenziare un'eventuale pregressa circolazione virale. I risultati ottenuti con il piano di sorveglianza fino al 2008 lasciavano ipotizzare che il WNV avesse circolato in Italia; ogni anno, infatti, sono state registrate positività sierologiche nei cavalli e nei polli sentinella. Tale ipotesi è stata confermata nell'agosto del 2008, quando, a distanza di 10 anni dal primo focolaio, la WND è ricomparsa in Italia in un'area del delta del Po a cavallo tra 3 differenti regioni (Emilia Romagna, Veneto e Lombardia), a differenza di quanto successo 10 anni prima in Toscana, durante quest'ultimo focolaio sono stati registrati alcuni casi clinici anche nell'uomo. Per controllare e determinare l'estensione della zona infetta, sono state attuate, con l'Ordinanza del 5 novembre 2008, misure straordinarie di sorveglianza su cavalli, volatili selvatici e domestici, su bovini sentinella individuati nell'ambito del piano nazionale di sorveglianza della Bluetongue nonché misure straordinarie di sorveglianza sui vettori. Tutte le attività sono state coordinate dall'IZS A&M dove sono stati effettuati anche gran parte dei test di laboratorio. Tra questi anche i test molecolari e le successive analisi filogenetiche sui virus isolati in Italia nel 1998 e nel 2008 che hanno evidenziato un elevato grado di omologia genetica tra i due virus, a loro volta simili al gruppo di quelli circolanti da circa un decennio nel bacino del Mediterraneo e in alcuni paesi africani (sub-cluster, Mediterraneo/Kenya). Tale elemento ha rafforzato l'ipotesi secondo la quale l'origine di entrambi i focolai italiani sarebbe da attribuire all'introduzione del WNV dall'Africa sub-sahariana mediante le migrazioni di uccelli.



L'introduzione della Bluetongue (BT) in Europa rappresenta un caso esemplificativo di come il Mediterraneo possa essere considerato una via privilegiata di introduzione di virus esotici trasmessi da vettori in aree indenni. Dall'estate del 2000 quando, probabilmente a causa di forti venti spiranti dal Nord Africa, *Culicoides* infetti con il virus della BT sierotipo 2 (BTV2) arrivarono in Italia (Sardegna), Francia (Corsica) e Spagna (Isole Baleari), si è assistito, a dispetto delle misure di controllo e sorveglianza messe in atto, ad una progressiva introduzione di nuovi sierotipi della BT ed ad un costante ampliamento dell'areale di diffusione della malattia che con il BTV8 ha raggiunto il Nord Europa arrivando a latitudini un tempo considerate impensabili (Gran Bretagna e Norvegia). Dal 2000 il CESME ha progettato, coordinato e gestito tutte le attività di sorveglianza e controllo della BT ed in particolare il sistema di sorveglianza. Tale sistema è articolato su due diversi piani di sorveglianza con specifici obiettivi ed attività da svolgere su tutto il territorio nazionale; sorveglianza sierologica da effettuare su una rete di bovini sentinella al fine di individuare o escludere la circolazione del virus e per verificare la copertura immunitaria nella popolazione vaccinata e sorveglianza entomologica per definire la distribuzione geografica e la dinamica stagionale dei vettori della BT e valutare il ruolo epidemiologico delle diverse specie di *Culicoides*. Tale sistema, capillarmente diffuso su tutto il territorio nazionale, ha permesso di raccogliere una gran mole di informazioni che viene continuamente analizzata ed utilizzata per la costruzione di mappe di rischio basate sull'utilizzo di sistemi GIS.

A seguito dell'espansione dell'infezione da BTV dai paesi del Mediterraneo all'intero territorio europeo, l'Unione Europea ha avuto la necessità di garantire un maggiore e più efficace scambio di informazioni tra gli Stati Membri e la Commissione Europea. A tale scopo la Commissione mediante la Decisione CE N°367 del 2007 ha affidato l'incarico all'IZS A&M, in qualità di centro di collaborazione OIE, di sviluppare e gestire un sistema GIS chiamato EU BTNET basato sul web per gestire la raccolta, l'inserimento e l'analisi dei dati di sorveglianza della BT negli Stati Membri dell'Unione.

Nell'ultimo decennio l'IZS A&M si è impegnato attivamente in progetti di cooperazione in diversi ambiti con i paesi dell'area balcanica, supportandoli, tra l'altro, nel processo di raggiungimento degli standard di sorveglianza. In tale contesto si inseriscono due progetti che prevedevano la realizzazione di una rete di sorveglianza regionale per le malattie trasmesse da vettori di interesse veterinario (BT) e di sanità pubblica (WND, CCHF) East-BTNET e East-BTNET2 realizzati dall'IZS A&M promossi dalla Regione Abruzzo, finanziati dal Ministero degli affari esteri italiano.

L'IZS A&M inoltre partecipa a diversi network internazionali gestiti da altri istituti come il network Arbo-zoonet finanziato dall'Unione Europea e coordinato dall'Istituto Pasteur con lo scopo di promuovere lo sviluppo, di condividere conoscenze sulla diagnosi, sorveglianza e controllo di alcune patologie virali trasmesse da vettori quali WND, RVF e CCHF.

Numerosissime sono i progetti di ricerca sulle malattie trasmesse da vettori nei quali l'IZS A&M è coinvolto; tra questi vi è il progetto EDEN (Emerging Diseases in a changing European Environment) un progetto europeo basato su un network di 49 partners provenienti da 24 paesi europei e dell'area mediterranea che si pone l'obiettivo di descrivere le caratteristiche ecologiche di alcuni ecosistemi europei maggiormente esposti ai cambiamenti ambientali in relazione al rischio di introduzione e diffusione di



alcune malattie emergenti trasmesse da vettori (WND, RVF, malattie trasmesse da zecche, Leishmaniosi, malattie trasmesse da roditori e Malaria) selezionate sulla base della stretta correlazione con i cambiamenti ambientali e climatici che ne favoriscono la diffusione. L'IZS A&M che fa parte del gruppo di studio sulla WND ha svolto direttamente tutte le attività previste nel Padule di Fucecchio, già teatro dell'epidemia di WND nel 1998. Notevoli energie sono state anche impegnate sul fronte della formazione nel campo delle emergenze legate alle malattie trasmesse da vettori, tra le varie iniziative formative erogate allo scopo di divulgare conoscenze nel campo, un ruolo di rilievo va sicuramente ad un sistema di e-learning sviluppato per i paesi del Mediterraneo per diffondere conoscenze su alcune malattie trasmesse da vettori. Data l'imprevedibilità dei collegamenti esistenti tra clima, ecosistemi e malattie infettive e dato che la comprensione di tali meccanismi non è ancora del tutto completa, il continuo sviluppo e miglioramento delle capacità di analisi eco-epidemiologiche attuabile solo attraverso la ricerca scientifica rappresenta uno strumento imprescindibile per acquisire informazioni utilizzabili nello sviluppo e nell'applicazione di sistemi e reti di sorveglianza. In questo contesto in cui gli elementi di instabilità sono condivisi a livello globale ed in cui nessun paese si può ritenere esente dal rischio rappresentato dalle malattie emergenti ed in particolare da quelle trasmesse da vettori, la condivisione delle conoscenze e delle informazioni appare l'unica via percorribile per proteggere la salute dell'uomo e degli animali e, più in generale, dell'ecosistema.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**Autorino** G.L., Battisti A., Deubel V., Ferrari G., Forletta R., Giovannini A., Lelli R., Murri S., Scicluna M.T. 2002. West Nile virus Epidemic in Horses, Tuscany Region, Italy. *Emerg Infect Dis*, 8(12), 1372-1378; **Bengis** R.G., Leighton F.A., Fischer J.R., Artois M., Mörner T. Tate C.M. 2004. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 23 (2), 497-511; **Black** P. and Nunn M. 2009. Impact of climate change and environmental changes on emerging and re-emerging animal disease and animal production 77th General Session of World Organisation for Animal Health –OIE Paris 24-29 May 2009; **Commissione Europea. 2007. Decisione CE N°367/2007** relativa a un contributo finanziario della Comunità destinato all'Italia per la realizzazione di un sistema di raccolta e analisi dei dati epidemiologici sulla febbre catarrale ovina; **Institute of medicine of the national academies of science.** 2003. Microbial Threats to Health: emergence, detection, and response. National Academy Press Washington, DC; **Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali.** 2008. Ordinanza 5 novembre 2008 “West Nile Disease- Notifica alla Commissione Europea e all'OIE- Piano di sorveglianza straordinario”; **Savini** G., Monaco F., Calistri P., Lelli R. 2008. Phylogenetic analysis of West Nile virus isolated in Italy in 2008. *Euro Surveill*, 13(48); **WHO/FAO/OIE.** 2004. Report of the WHO/FAO/OIE joint consultation on emerging zoonotic diseases 3–5 May 2004 – Geneva, Switzerland.



# NUOVE PROSPETTIVE DI UTILIZZO DEL NEEM CAKE COME LARVICIDA PER LA LOTTA A NUOVI INSETTI VETTORI IMPORTANTI PER LA SICUREZZA ZOOTECNICA IN ITALIA

Susanna Mariani, Armando D'Andrea

*ENEA - Dipartimento BAS Biotecnologie, Agroindustria e Protezione della Salute,  
Anguillara, Roma*

## **RIASSUNTO**

*La presente relazione illustra i risultati conseguiti testando l'attività larvicida su zanzara tigre (*Aedes albopictus* Skuse 1894, Diptera: Culicidae) di estratti ottenuti dal neem cake. Nella prima parte della relazione verranno fornite informazioni sul neem cake, sottoprodotto di scarto dei processi industriali di produzione dell'olio di Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.). Successivamente verranno descritti i risultati dei test dell'attività insetticida del neem cake su zanzara tigre. I promettenti risultati indicano la possibilità di utilizzare il neem cake come base per lo sviluppo di nuovi bio-insetticidi di facile utilizzo, eco-compatibili, sicuri e ottenuti da fonti rinnovabili.*

**Parole chiave:** neem cake, zanzara tigre, larvicida.

## **INTRODUZIONE**

Numerosi sono gli studi su foglie, frutti e corteccia dell'albero del neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) (Mulla and Su 1999, Siddiqui et al. 2003, Wandscheer et al. 2004, Howard et al. 2009) e recenti ricerche confermano che l'olio di neem può essere usato come un larvicida alternativo rispetto ai più tradizionali pesticidi (Awad 2003). E' stato dimostrato che l'azadiractina e l'olio di neem possono agire come larvicidi nella lotta contro zanzare. (Naqvi et al., 1991; Amorose, 1995; Sagar et al., 1996; Mulla et al., 1997; Okumu et al., 2007). In India è stato anche sperimentato l'uso del neem cake per combattere l'infestazione di zanzare del genere *Culex* nelle risaie (Rao et al., 1992). L'EPA, Environmental Protection Agency, ha registrato la Diidroazadirachtina e la Azadirachtina, estratte dalla pianta del Neem, con nome commerciale DAZA da utilizzare, oltre che come insetticida, anche come nematocida in agricoltura. L'EPA dal punto di vista tossicologico conclude che, grazie alla bassa tossicità dei derivati del Neem, vi è una ragionevole sicurezza di non rischio per l'esposizione di una popolazione a queste molecole (contaminazione nella dieta, nell'acqua, altre fonti). Oggetto di questa relazione è quindi lo studio e lo sviluppo, dal neem cake, di un nuovo prodotto con attività bio-insetticida per la lotta alla zanzara tigre, *Aedes albopictus*, ed in particolare lo studio degli effetti tossici, sulle uova e larve dell'insetto, di frazioni derivate dal neem cake.

### Il neem cake e i processi di estrazione

L'olio di neem è ottenuto mediante l'estrazione a freddo dei semi e dei frutti puliti e raccolti a mano. L'estrazione denominata "cold pressed", spremitura a freddo, costituisce il più vecchio metodo di estrazione, produce l'olio di migliore qualità e si



realizza con apparecchiature meccaniche che spremono l'olio dai semi. Il rendimento in olio è variabile dal 20 al 30% ed il neem-cake è il residuo del processo di estrazione. Un secondo processo di estrazione utilizza il vapore ad alta pressione. Benché si ottenga una maggiore resa in olio rispetto alla spremitura a freddo, molti dei composti attivi sono deteriorati a causa delle temperature estreme. Il terzo metodo consiste nell'estrazione con n-esano e permette di ottenere grandi quantità di olio di buona qualità. In genere questo processo viene applicato sul residuo dell'estrazione a freddo e l'olio che si ottiene viene utilizzato come materia prima nell'industria del sapone per le sue proprietà anti-fungine, anti-batteriche e dermatologiche. Sul mercato sono presenti quindi diversi tipi di neem cake: il neem oil cake con contenuto di olio residuo del 6% circa, il neem de-oiled cake, con contenuto di olio del 1.5%. Attualmente in Italia il neem cake viene utilizzato come ammendante, fertilizzante naturale, e condizionatore del suolo nelle aziende che praticano agricoltura biologica. L'interesse per questo prodotto deriva anche dal fatto che è attivo contro i nematodi del terreno proteggendo le radici delle piante. L'idea di sviluppare nuovi bio-insetticidi dal neem cake presenta i seguenti elementi di novità. Efficacia: gli studi condotti hanno dimostrato che il neem cake possiede un'elevata attività larvicida rispetto a larve di *Aedes albopictus*; inoltre i trattamenti a base di derivati della *Azadirachta indica* sono compatibili con il *Bacillus thuringiensis*. Basso costo: il neem cake è una matrice vegetale largamente disponibile e a basso costo nel mercato italiano e mondiale, poiché è il sottoprodotto di una filiera industriale consolidata. Sostenibilità: il neem cake è un residuo vegetale rinnovabile derivante dal processamento dei semi che costituiscono una parte rinnovabile della pianta. Composizione chimica: il neem cake è un prodotto di composizione chimica molto interessante e complessa ricco di molecole con attività insetticida non sintetizzabili chimicamente. Salubrità: il neem cake è un prodotto di origine naturale sicuro in relazione al fatto che deriva da una pianta utilizzata da millenni nella tradizione erboristica indiana. Disponibilità commerciale: il neem cake è un prodotto che attualmente viene già commercializzato poiché viene utilizzato in agricoltura come ammendante del terreno e in zootecnia come sfarinato da aggiungere nei mangimi zootecnici. Facilità di utilizzo: il neem cake è un prodotto non tossico per gli organismi superiori, può essere maneggiato senza particolari precauzioni e quindi è particolarmente indicato per utilizzo domestico. Tutela dell'ambiente: il neem cake è un prodotto utile per la tutela dell'ambiente in quanto l'*Azadirachta* è considerata pianta chiave per la lotta alla desertificazione nelle aree tropicali e subtropicali di tutto il mondo. La possibilità di usare il neem cake come materia prima per produrre un nuovo bio-insetticida può rappresentare una ulteriore valorizzazione di questa pianta.

#### Zanzara tigre

La zanzara tigre è un insetto particolarmente nocivo a livello cittadino perché provoca fastidiose punture anche nelle ore diurne e può essere vettore di molte patologie in campo medico e veterinario. In Emilia Romagna è attivo un Piano Straordinario di sorveglianza di West Nile Disease (Wnd) in quanto, da dati epidemiologici finora raccolti, è stata accertata la comparsa dei sintomi nei cavalli tra la fine di agosto e i primi di settembre 2008; inoltre sono emerse altre patologie che possono essere trasmesse da questa zanzara quali il Dengue e la Chikungunya. I siti riproduttivi di questa zanzara sono rappresentati da piccole raccolte di acqua di origine antropica; i trattamenti insetticidi realizzati dai Comuni, trattando solo i tombini presenti nelle



strade cittadine e nelle aree pubbliche, non controllano i focolai larvali che si trovano nelle aree private. Con l'obiettivo di trattare tutte le piccole raccolte d'acqua presenti nelle proprietà private quali balconi, cortili e giardini, numerosi Comuni delle zone più infestate hanno iniziato la distribuzione gratuita di insetticidi con attività larvicida ai privati. Generalmente viene distribuito per uso domestico un preparato a base di *Bacillus thurigiensis* varietà *israeliensis* che però è inefficace in ambienti acquosi ricchi di sostanza organica quali i tombini stessi. Il Temenphos, insetticida ad azione larvicida di tossicità più elevata, viene utilizzato soltanto dalle ditte specializzate in disinfestazioni incaricate dai Comuni.

## **MATERIALI E METODI**

Materiale botanico: è stato utilizzato il neem cake prodotto commercialmente dalla GreeNeem (www.greeneem.com, Virudhunagar, India) del tipo ottenuto attraverso i processi di spremitura. Processo di frazionamento del neem cake : Il neem cake (3 Kg) è stato estratto con MeOH a temperatura ambiente 2 volte al giorno per 2 giorni ottenendo, dopo l'evaporazione del solvente, 49 g di estratto secco. L'estratto metanolico è stato trattato con n-esano ottenendo per filtrazione la frazione di esano (Hp), nella quale erano contenuti i composti più lipofili. La parte residua è stata disciolta in una miscela di eguali quantità di acqua e EtOAc (1L) ottenendo 2 fasi, la seconda frazione organica (Ep 22g) e una frazione acquosa (W). A quest'ultima è stata addizionata una eguale quantità di n-BuOH ottenendo la terza frazione organica (Bp 5g) e una frazione acquosa finale (Wp). Tutte le frazioni sono state sottoposte ai test per l'attività biologica ed esaminate attraverso analisi HPLC. In seguito ai risultati ottenuti dai test biologici è stata selezionata la frazione Ep per via della maggiore attività. Il composto più abbondante, è risultato essere la salannina.

Metodo di analisi dei campioni con tecnica HPLC. Per le analisi quantitative dei metaboliti (Azadiractina A, Azadiractina B Salannina, Nimbina) negli estratti è stata usato: HPLC della Perkin Elmer con pompa a due solventi PE Serie 200; loop 20  $\mu$ L; rivelatore UV-VIS 785A; interfaccia PE Nelson-Network Chromatography Interface NCI; una colonna Restek C 18 II pinnacle 5  $\mu$ m, 250x46. Programma: flusso 1,00 mL/min; 8 min ISO 45% CH<sub>3</sub>CN; 22 min GRA 100% CH<sub>3</sub>CN; 10 min ISO 100% CH<sub>3</sub>CN;  $\lambda_{riv}$  = 214 nm. Per le analisi quantitative sono state preparate le curve di calibrazione per ogni metabolita analizzato, utilizzando 5 soluzioni standard nel range di concentrazione compreso tra 1 e 10 ppm.

## **RISULTATI E CONCLUSIONI**

Risultati Test Biologici

L'attività delle soluzioni trattate su *Aedes albopictus* sono mostrati nelle tabelle.

Le tabelle 1, 2, 3 mostrano che le soluzioni trattate non esercitano attività sulla schiusa di uova che hanno completato in modo naturale lo sviluppo embrionale. Tali uova, immerse al V° giorno di età nelle soluzioni trattate, schiudono senza sostanziali differenze nelle soluzioni trattate e nei controlli.

Le tabelle 1, 2, 3 mostrano che le soluzioni trattate causano successivamente una significativa mortalità larvale. La mortalità delle larve nate nelle soluzioni trattate è stata registrata dopo 2, 4, 6, 8 giorni.



All'8° giorno le frazioni Ep e Hp (Tab.1) hanno mostrato una mortalità larvale significativamente più elevata rispetto al controllo e alla frazione Bp e Wp.

Campioni	Schiuma media (% ± DS) <sup>1</sup>	Mortalità media (% ± DS) <sup>1</sup>	
		Dopo 2 giorni	Dopo 8 giorni
controllo(H <sub>2</sub> O)	63.33 ± 21.86 a	6.90 ± 6.20 a	6.90 ± 6.20a
Bp	53.33 ± 5.77 a	6.67 ± 11.55 a	6.67 ± 11.55 a
Wp	43.33 ± 14.53 a	2.22 ± 3.85 a	15.56 ± 26.94 a
Ep	36.67 ± 14.53 a	4.95 ± 4.29 a	86.94 ± 5.17 b
Hp	35.56 ± 18.95 a	3.70 ± 6.42 a	88.78 ± 5.39 b

**Tab.1** – Attività degli estratti di neem cake su uova e larve di *Aedes Albopictus*.

<sup>1</sup>)Lettere differenti sulla stessa riga orizzontale indicano differenze significative nel tasso di schiuma e di mortalità delle larve (Test di Tukey 0.05).

La soluzione Ep (50 ppm dell'estratto) è stata scelta rispetto alla soluzione Hp per il minor contenuto in acidi grassi.

All'8 giorno la frazione Ep ha mostrato lo stesso effetto (Tab. 2), in termini di mortalità larvale, della soluzione tecnica di Azadiractina (Az\_A 10 ppm) .

Campioni	Schiuma media (% ± DS) <sup>1</sup>	Mortalità media (% ± DS) <sup>1</sup>	
		Dopo 2 giorni	Dopo 8 giorni
control (H <sub>2</sub> O)	63.33 ± 21.86 a	6.90 ± 6.20 a	6.90 ± 6.20a
Az_A 0.1 ppm	44.44 ± 1.92 a	2.56 ± 4.44 a	10.26 ± 17.76 a
Az_A 0.5 ppm	55.33 ± 14.53 a	3.17 ± 5.50 a	3.17 ± 5.50 a
Az_A 1.0 ppm	47.78 ± 15.75 a	0,0 ± 0,0 a	5.79 ± 5.57 a
Az_A 5.0 ppm	54.44 ± 5.09 a	0.0 ± 0.0 a	27.69 ± 18.22 a
Az_A 10.0 ppm	48.89 ± 6.94 a	13.21 ± 5.06 b	80,49 ± 10.99 b
Ep	36.67 ± 14.53 a	4.95 ± 4.29 a	86.94 ± 5.17 b

**Tab.2** – Attività di Ep e di soluzioni azadiractina tecnica a varie concentrazioni, su uova e larve di *Aedes albopictus*.

<sup>1</sup>)Lettere differenti sulla stessa riga orizzontale indicano differenze significative nel tasso di schiuma e di mortalità delle larve (Test di Tukey 0.05).

All'8 giorno la frazione Ep ha mostrato lo stesso effetto (Tab. 3), in termini di mortalità larvale della soluzione di Diractin (Tab. 3) a Az 10-100-1000 ppm. I risultati dei test di attività biologica individuano, quindi, nella frazione Ep, la presenza della migliore attività. Si è proceduto quindi all'analisi HPLC per la sua caratterizzazione (Fig.1).

Le analisi quantitative rivelano la presenza di nortriterpeni, mostrando i seguenti risultati: Az\_A (0.7 ppm) , Az\_B (0.3 ppm), Sal (1.5 ppm), Nim (0.3 ppm).

I risultati ottenuti permettono di considerare il neem cake come promettente materia prima per lo sviluppo di un nuovo bioinsetticida contro la zanzara tigre poiché è stata isolata una frazione molto attiva contro le larve di questo insetto.



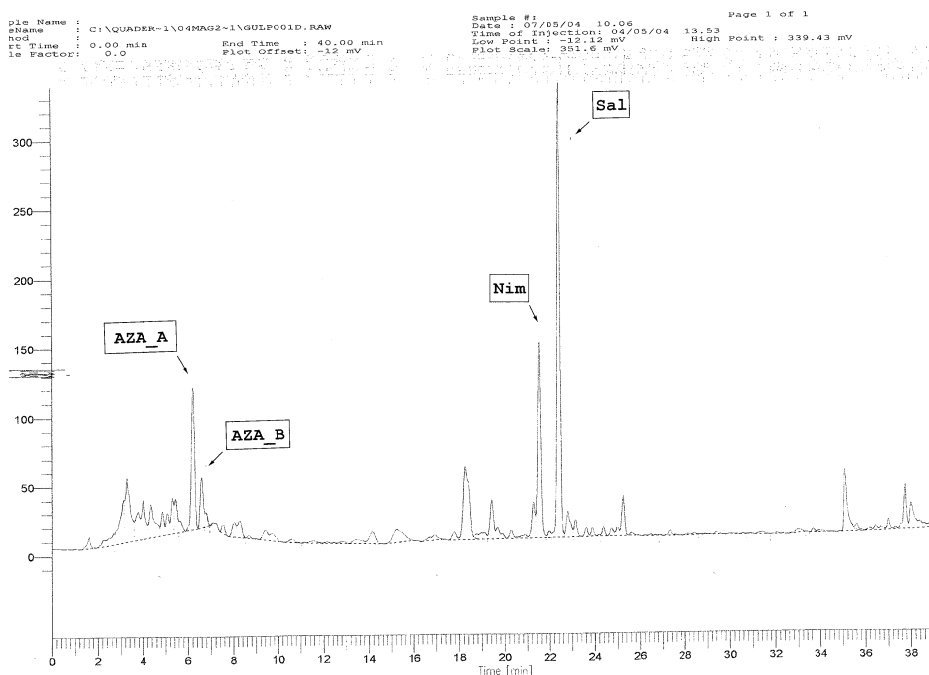
E' stato dimostrato che i prodotti commerciali a base di azadiractina presentano la stessa efficacia solo se utilizzati a concentrazioni 10 volte superiori alla Azadiractina presente nella frazione individuata.

Alla base della spiccata attività insetticida di questa frazione, quindi, vi è l'azione dovuta alla salannina ed alla co-presenza di numerosi composti aromatici (la cui struttura deve essere determinata) e di costituenti di acidi grassi che agiscono come agenti solubilizzanti e stabilizzanti dell'intero fitocomplesso.

Campioni	Schiusa media (% ± DS) <sup>1</sup>	Mortalità media (% ± DS) <sup>1</sup>	
		Dopo 2 giorni	Dopo 8 giorni
controllo (H <sub>2</sub> O)	28.89 ± 5.09 a	3.70 ± 6.42 a	14.44 ± 17.11 a
Dirachtin (Az 1.0ppm)	24.44 ± 5.09 a	31.75 ± 2.75a	36.51 ± 5.50 a
Dirachtin (Az 10.0ppm)	31.11 ± 1.92 a	22.22 ± 22.22 a	85.56 ± 6.76 b
Dirachtin (Az 100ppm)	27.78 ± 1.92 a	51.85 ± 37.64 a,b	92.13 ± 6.85 b
Dirachtin (Az 1000ppm)	30.0 ± 3.33 a	100.0 ± 0.0 b	100.0 ± 0.0 b
Ep	30.42 ± 12.73 a	3.75 ± 3.89 a	84.34 ± 4.65 b

**Tab.3** – Attività di Ep e di soluzioni azadiractina commerciale, a varie concentrazioni, su uova e larve di *Aedes albopictus*.

<sup>1</sup>) Lettere differenti sulla stessa riga orizzontale indicano differenze significative nel tasso di schiusa e di mortalità delle larve (Test di Tukey 0.05).



**Fig. 1** - Profilo cromatografico HPLC della soluzione Ep.





## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Prof. Marcello Nicoletti ed il Prof. Mauro Serafini per la preziosa e indispensabile collaborazione nella preparazione dei campioni e nella analisi chimica.

## BIBLIOGRAFIA

**Amorose, T.**, 1995. Larvicidal efficacy of neem (*Azadirachta indica*) oil and defatted cake on *Culex quinquefasciatus* Say. *Geobios* 22: 169-173. **Awad O.M.** 2003. Operational use of neem oil as an alternative anopheline larvicide. Part B: environmental impact and toxicological potential. *WHO Eastern Mediterranean Health Journal* 9(4): 637-645. **Howard, A.F.V.**, Adongo, E.A., Hassanali, A., Omlin, F.X., Wanjoya, A., Zhou, G., Vulule, J. 2009. Laboratory evaluation of the aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) wood chipping on *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* 46(1): 107-114. **Mulla, M.S.**, Chaney, J.D. & Fodcharoen J., 1997. Activity and efficacy of neem product against mosquito larvae. *Proceeding of International Symposium on Biopesticides (Phitsanouk, Thailand)* Bangkok, Thailand: Chulalong University press, pp 149-156. **Mulla, M.S.** & Su, T., 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. *Journal of American Mosquitoes Control Association* 15(2): 133-1520. **Naqvi, S.N.**, Ahmed S.O. & Mohamed, F.A., 1991. Toxicity and IgR (Insect Regularity Effect) of two neem products against *Aedes aegypti* (PCSIR Strain). *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 4(1): 71-76. **Okumu, F.O.**, Knols, B.G.J. & Fillinger, U., 2007. Larvicidal effects of a neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anophele gambiae*. *Malaria Journal* 6:63. **Rao, D.R.**, Reuben, R., Venugopal, M.S., Nagasampagi, B.A & Schumetterer H., 1992. Evaluation of neem, *Azadirachta indica*, with and without water management, for the control of culicine mosquito larvae in rice-fields. *Medical Veterinary Entomology* 6: 318-324. **Sagar, S.K.** & Sehgal, S.S., 1996. Effects of aqueous extract of deoiled neem (*Azadirachta indica* Juss) seed kernel and karanja (*Pongamia glabra* vent) seed kernel against *Culex quinquefasciatus*. *Journal Communicable Disease* 28(4): 260-269. **Siddiqui, B.S.**, Afshan F., Gulzar T., Sultana R., Naqvi N.-H., and Tariq R.M. 2003. Tetracyclic triterpenoids from leaves of *azadirachta indica* and their insecticidal activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 51: 415-417. **Wandscheer, C.B.**, Duque, J.E., da Silva, M.A.N., Fukuyama, Y., Wohlke, J.L., Adelman, J. & Fontana, J.D., 2004. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the denge mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon* 8:829-835.



## LA FITOTERAPIA UTILIZZATA IN ZOOTECNIA E TECNICHE IDENTIFICATIVE

**Francesca Romana Gallo, Giuseppina Multari, Giovanna Palazzino, Elena  
Federici**

*Medicine complementari, Naturali, Tradizionali  
Dipartimento del Farmaco  
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

### **RIASSUNTO**

*La Fitoterapia utilizzata in zootecnia e tecniche identificative.*

*Secondo il D.L 193 6 aprile 2006, attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei farmaci veterinari, si definisce per medicinale veterinario anche una sostanza vegetale, come microrganismi, piante, parti di piante, secrezioni vegetali, sostanze ottenute per estrazione ed in base a questa definizione tali preparazioni devono sottostare a particolari requisiti di qualità e sicurezza come i prodotti fitoterapici per uso umano. Tali requisiti di qualità e sicurezza sono garantiti quando il produttore esegue i processi di produzione e fabbricazione dei suoi prodotti con metodi standardizzati e convalidati secondo norme di buona fabbricazione e produzione (GMP; Direttiva 2001/95/CE) o con metodi di analisi e di controllo qualità ufficiali descritti in Farmacopea.*

*In questo lavoro vengono riportate alcune piante, utilizzate nella medicina tradizionale, per la cura dell'animale dotate di attività galattogoga, antiinfiammatoria, immunostimolante, mineralizzante.*

*Diverse piante posseggono tali attività ma quelle maggiormente in uso sono: Galega officinalis, Harpagophytum procumbens, Echinacea purpurea, Equisetum arvense.*

**Parole chiave:** Fitoterapia, Echinacea purpurea L., Equisetum arvense L., Harpagophytum procumbens DC.

### **INTRODUZIONE**

La fitoterapia rappresenta probabilmente la più antica forma di medicina: per secoli l'uomo ha sfruttato i principi attivi presenti in foglie, tuberi, corteccia, frutti e radici per la cura delle principali malattie dell'uomo e dell'animale. Essa è tuttora diffusa in molte culture e fino all'800 la quasi totalità dei medici veterinari in Europa utilizzava preparati vegetali per la cura delle malattie del bestiame.

Alcuni vantaggi che giustificano l'utilizzo della fitoterapia possono essere così individuati:

- utilizzo nella prevenzione grazie alla ridotta tossicità che ne consente un lungo trattamento;
- terapia adeguata in alternativa al farmaco di sintesi;
- complemento ai farmaci di sintesi permettendone un minor uso;
- ridotti o assenti tempi di sospensione;
- vasto campo di applicazione comprendendo sia gli animali da reddito che da compagnia.



Sino a pochi anni fa, l'agricoltura era molto più diffusa e gli animali venivano ampiamente impiegati per lavorare la terra e per ottenere carne, uova, latte etc. Le cure per le varie patologie erano basate su rimedi naturali, tra cui l'uso delle piante, era quello più frequente. Sebbene gli animali non vengano più ampiamente utilizzati per il lavoro agricolo, l'allevamento del bestiame per la macellazione e la produzione di latte e derivati è ancora praticato nelle regioni italiane. Una stima generale basata sui principali tipi di allevamenti presenti può essere fatta e se ne deduce che è avvenuto un incremento significativo in allevamento di pecore e capre con riduzione in maiali e mucche che comunque rappresentano un considerevole numero. Come tipo di allevamento secondario può essere considerato quello dei cavalli, cresciuto grazie all'aumentato utilizzo di questo animale nel campo del turismo. Attualmente il diffuso uso di vaccini, assieme ad una cura igienica degli animali di allevamento ha ridotto molto l'insorgenza di malattie di questi ultimi. I pastori e gli agricoltori che curavano i propri animali sono stati sostituiti da veterinari che fanno parte delle Autorità Sanitarie Locali pubbliche. Molte malattie animali, possono diventare pericolose quando contagiano gli uomini, tra le più temute, ma oggi sotto controllo con gli attuali metodi preventivi, si ricordano la tubercolosi la cui forma tipica nella mucca è trasmessa dal *Mycobacterium bovis* e la salmonellosi che colpisce pollame da fattorie come polli e tacchini trasmessa rispettivamente dalla *Salmonella pullorum* e dalla *Salmonella gallinarum*. La prima presenta dei sintomi caratteristici quali la diarrea bianca (chiamata calcinaccio) mentre la seconda si manifesta con sintomi simili al tifo, chiamata tifosi. Un rimedio naturale per questo secondo caso è tradizionalmente costituito da una soluzione acquosa di *Fraxinus ornus* L. La corteccia lasciata a bagno in acqua per 3-4 giorni produce un estratto che è somministrato agli animali per 5-7 giorni.

Le informazioni ottenute dai dati statistici indicano che le piante più sfruttate sono le ruminative (9%) seguite da quelle cicatrizzanti (8%), antinfiammatorie e post-partum (6%), digestive (5,5%), anti-mastite, antibatteriche, gastrointestinali, e antidiarroiche (4%) seguite da altre di uso minore. Statisticamente parlando gli animali maggiormente utilizzati con rimedi a base di erbe sono i bovini il 32 %, gli ovini il 20 %, i conigli il 10 %, gli equini l'8 %, i maiali il 7%, i polli il 6 %, le capre il 5 % , i rimanenti il 12 % (Uncini Manganelli R.E. et al, 2001). Secondo il D.Lgs 193 6 aprile 2006 attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei farmaci veterinari al Titolo 1 paragrafo b) punto 3) si definisce per medicinale veterinario anche una sostanza vegetale, come microrganismi, piante, parti di piante, secrezioni vegetali, sostanze ottenute per estrazione ed in base a questa definizione tali preparazioni devono sottostare a particolari requisiti di qualità e sicurezza come i prodotti fitoterapici per uso umano (Pignattelli., 2006). Tali requisiti di qualità e sicurezza vengono garantiti quando il produttore esegue i processi di produzione e fabbricazione dei suoi prodotti con metodi standardizzati e convalidati secondo norme di buona fabbricazione e produzione (GMP, 2009; Direttiva 2001/95/CE, 2006) o con metodi di analisi e di controllo qualità ufficiali descritti in Farmacopea.

Tra i vari rimedi utilizzati nella cura dell'animale, nella medicina nazionale tradizionale, in questo lavoro, vengono riportate alcune piante dotate di attività galattogoga, antiinfiammatoria, immunostimolante, mineralizzante.

Diverse piante posseggono tali attività ma quelle maggiormente in uso sono: *Galega officinalis*, *Harpagophytum procumbens*, *Echinacea purpurea*, *Equisetum arvense*.



## MATERIALI E METODI

*Galega officinalis* L., pianta sudorientale appartenente alla famiglia delle Leguminose, è una pianta officinale di cui si utilizza la porzione aerea, contiene l'alcaloide biguanidinico galegina e il flavon glucoside galuteolina che oltre all'azione ipoglicemizzante e riducente il peso corporeo stimolano la secrezione lattea (Mooney M.H. et al, 2008).

Aggiunta al foraggio di pecore, capre o mucche ne aumenta la produzione del latte. Recenti esperimenti riportano che l'estratto acquoso grezzo e le frazioni filtrate su gel della pianta inibiscono l'aggregazione piastrinica, sembra che tale azione sia dovuta alla frazione contenente il complesso polisaccaride-proteina. L'estratto etanoloico è responsabile dell'inibizione della crescita dei batteri sia gram positivi sia gram negativi, e la pianta in toto è responsabile dell'azione riducente del peso corporeo attraverso un meccanismo non ben chiaro che coinvolge la perdita di grassi (Rasekh H.R. et al, 2008).

*Harpagophytum procumbens* DC., pianta sudafricana appartenente alla famiglia delle Pedaliacee, comunemente conosciuta come 'Artiglio del diavolo', è una pianta officinale di cui si utilizzano le radici secondarie, contenenti iridoidi glucosidici (procumbide, arpagoside, arpagide) che agiscono inibendo la sintesi delle prostaglandine responsabili dei processi infiammatori. Questa pianta, infatti, è utilizzata anche come foraggio per i cavalli zoppicanti sofferenti. Le monografie dell'ESCOP che riassumono le evidenze cliniche e farmacologiche di alcune piante maggiormente utilizzate, alla voce indicazioni terapeutiche, raccomandano l'utilizzo dell'Artiglio del diavolo nei trattamenti sintomatici di osteoartriti dolorose, nella perdita di appetito e dispepsia (Colas C. et al. 2008; Wagner S. et al. 2008).

In Farmacopea Europea 6a edizione (European Pharmacopoeia supplement 6.2, 2008) è riportata la monografia della *Harpagophytum procumbens* radice (Artiglio del diavolo) il cui titolo in principi attivi viene dato in arpagoside (iridoide glucosidico) che non deve essere inferiore all'1,2 %.

L'identificazione della pianta avviene, oltre all'esame macro-morfologico delle varie parti della pianta, tramite TLC su lastra in gel di silice, utilizzando come fase mobile acqua, metanolo, etile acetato (8:15:77), la lastra asciugata in corrente di aria calda si esamina alla luce UV a 254 nm. Come sostanza di riferimento è utilizzato l'arpagoside. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame mostra alcune bande gialle o marroni sopra la zona corrispondente all'arpagoside, inoltre altre deboli bande possono essere presenti nel cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame.

Il titolo in arpagoside viene calcolato mediante cromatografia liquida utilizzando una colonna lunga 10 cm e del diametro di 4,0 mm, una fase stazionaria che utilizza il gel di silice ottadecilsilil per cromatografia dal diametro di 5 µm, come fase mobile una miscela costituita da metanolo e acqua (50:50), il flusso è di 1,5 ml al minuto, il rivelatore è uno spettrofotometro a 278 nm, il volume di iniezione è di 10 µl e il tempo di ritenzione in riferimento all'arpagoside è di circa (tR 7 min), il tempo della corsa cromatografica è pari a tre volte il tempo di ritenzione dell'arpagoside. Si calcola il contenuto percentuale di arpagoside utilizzando l'espressione seguente:

$$\frac{m_2 \times A_1 \times 1000}{A_2 \times m_1}$$

*Echinacea purpurea* L., pianta nordamericana, appartenente alla famiglia delle Echinacee, è una pianta officinale di cui si utilizza la radice contenente glucoproteine e polisaccaridi responsabili dell'attività immunostimolante ed antivirale. L'estratto di



radice aggiunto all'alimentazione degli animali per brevi periodi, una o due volte l'anno, rafforza le difese immunitarie.

L'uso della E. purpurea per stimolare le difese del sistema immunitario nel cavallo è ampiamente diffuso, malgrado la scarsità di documentazione a supporto di tale tesi dovuta ad uno scarso interesse per questo tipo di ricerca da parte dei laboratori di controllo che valutano l'efficacia e la sicurezza di prodotti contenenti tale pianta.. I trattamenti con E. purpurea aumentano la capacità fagocitaria dei neutrofili isolati, aumentano il numero dei linfociti periferici e stimolano la migrazione dei neutrofili dal circolo periferico ai tessuti. Si può concludere quindi che l'E. purpurea stimoli l'immunocompetenza equina e che l'estratto di tale pianta si comporti nei cavalli come un agente ematinico, cioè migliori la qualità del sangue aumentando i livelli di emoglobina e il numero di eritrociti che in virtù del loro effetto nel trasporto di ossigeno, aumentano i parametri fisiologici dell'esercizio e della performance (O'Neill W. et al, 2002).

In Farmacopea Europea 6a edizione (European Pharmacopoeia sixth edition, 2008) viene riportata la monografia dell'Echinacea purpurea L. radice e il titolo in principi attivi viene dato come somma dell'acido caftarico e cicorico. Tale titolo non deve essere inferiore allo 0,5 per cento. L'identificazione della pianta avviene, oltre che con l'esame morfologico delle varie parti della pianta, tramite TLC su gel di silice. Come sostanze di riferimento vengono utilizzate  $\beta$ -sitosterolo (1 mg) e N-isobutildodecatetraenamida (1 mg) in soluzione metanolica (5,0 ml), come fase mobile viene utilizzata una soluzione costituita da acido formico anidro, cicloesano, etile acetato, toluene (0.9:3:6:24), come sistema rivelatore, una volta asciugata la lastra all'aria fredda per circa 10 min, si utilizza l'anisaldeide soluzione per immersione della lastra nella stessa, si scalda la lastra a 100-105°C per 3 min e si esamina alla luce del giorno. Sotto le bande corrispondenti alle sostanze di riferimento possono essere presenti nel cromatogramma, ottenuto con la soluzione in esame, altre deboli bande blu-verdastre e blu-grigiastre. Il titolo in acido caftarico e cicorico alla determinazione quantitativa viene calcolato mediante cromatografia liquida utilizzando una colonna di 25 cm di lunghezza e del diametro interno di 4.6 mm, una fase stazionaria che utilizza il gel di silice ottadecilsilil per cromatografia dal diametro di 5  $\mu$ m ed una temperatura interna di 35 °C, la fase mobile è costituita da una fase mobile A costituita da acido fosforico in acqua (1:999) e una fase mobile B costituita da acetonitrile. Il tipo di eluizione è a gradiente, il flusso è di 1 ml al minuto, il rivelatore è uno spettrofotometro a 330 nm il volume di iniezione è di 10  $\mu$ l e i tempi di ritenzione in riferimento all'acido clorogenico (tR 7 min) sono per l'acido caftarico circa 0,8, l'acido caffeico circa 1,5, la cinarina circa 1,6 l'echinacoside circa 1,7, l'acido cicorico 2,3. La risoluzione tra i picchi dovuti all'acido caffeico e all'acido clorogenico deve essere come minimo pari a 5. Individuare i picchi dovuti all'acido caffeico e all'acido clorogenico utilizzando il cromatogramma ottenuto con la soluzione di riferimento. Individuare i picchi dovuti all'acido caftarico e cicorico utilizzando il cromatogramma riportato in Farmacopea.

Calcolare il contenuto percentuale di acido caftarico utilizzando l'espressione seguente:

$$A1 \times C2 \times 100 \times 0.881 / A2 \times C1$$

Calcolare il contenuto percentuale di acido cicorico utilizzando l'espressione seguente:

$$A3 \times C2 \times 100 \times 0.695 / A2 \times C1$$



*Equisetum arvense* L., pianta dell'Europa del nord, centrale e del sud America, appartenente alla famiglia delle Equisetacee i cui fusti sterili, molto ricchi di silicio e potassio, sono un ottimo mineralizzante naturale. In veterinaria la polvere di Equiseto, somministrata come fitoterapico con il pasto, rende le ossa più forti e robuste, e in caso di fratture accelera la risaldatura. Di contro cavalli, bovini e pecore nutriti con fieno contenente elevate quantità di equiseti, anche oltre il 20 %, vanno soggetti alla cosiddetta intossicazione di Duwock, (danno irreversibile cerebrale dovuto a carenza in tiamina per assunzione di tiaminasi contenuta in miceti infestanti la pianta) che si manifesta con sintomi nervosi come incoordinazione dei movimenti, debolezza muscolare, atassia, perdita di peso e convulsioni sino a paralisi degli arti posteriori e morte. La stessa sindrome può insorgere quando l'animale al pascolo assume una quantità non controllata di equiseti infestato dallo stesso fungo. Un'altra ipotesi sarebbe che la stessa intossicazione di Duwock sia dovuta alla contaminazione degli equiseti con *E. palustre* contenente lo 0,3 % di palustrina responsabile di tale sindrome (Le monografie tedesche, 1986). Per l'*E. arvense* è stato affrontato, nel nostro laboratorio, uno studio quali-quantitativo su prodotti presenti nel mercato e valutata la loro idoneità alla commercializzazione in base alla corrispondenza con il dichiarato sulla confezione. Tecniche cromatografiche, spettroscopiche e spettrofotometriche sono state messe a confronto su campioni diversi dichiaranti contenere Equiseto sp. Dai tracciati cromatografici e spettroscopici è stato possibile individuare sofisticazioni con altre specie. Nel caso dell'Equiseto è stato particolarmente importante mettere a punto un metodo cromatografico rapido in HPTLC in grado di fornire "fingerprint" diversi a seconda della specie dichiarata (Gallo F.R et al, 2008) . L'Equiseto, infatti, può essere facilmente inquinato dall'*Equisetum palustre* contenente l'alcaloide piperidinico palustrina, agente fortemente tossico, da cui deve essere assolutamente esente e da altri Equiseti di specie diverse dall'*arvense* magari meno pregiati. Diversi prodotti commerciali dichiarati essere *Equisetum arvense*, in realtà tramite la lettura dei loro fingerprint, hanno dimostrato essere costituiti da altre specie quali il maximum, ramosissimum e il palustre.

In Farmacopea Europea 6a edizione (European Pharmacopoeia sixth edition, 2008) viene riportata la monografia dell'*Equisetum arvense* L. erba e, il titolo in principi attivi, viene dato come flavonoidi totali espressi come isoquercitrinide. Tale titolo non deve essere inferiore allo 0,3 %. L'identificazione della pianta avviene, oltre all'esame macro-morfologico delle varie parti della pianta, tramite TLC su lastra in gel di silice, utilizzando come sostanze di riferimento 1 mg di acido caffeico, 2,5 mg di iperoside e 2,5 mg di rutina in 10 ml di metanolo e come fase mobile acido formico anidro, acido acetico glaciale, acqua, ed etile acetato (7,5:7,5:18:67). Come rivelatore spray viene utilizzata una soluzione di estere aminoetilidifenilborico in metanolo (10 g/l) seguita da una soluzione di macrogol (50 g/l) in metanolo. Lasciata asciugare la lastra all'aria per 30 min si esamina alla luce UV di 365 nm. Il cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame non deve mostrare bande fluorescenti gialle o giallo-verdastre appena sopra la linea di partenza. Il titolo in flavonoidi totali è calcolato spettrofotometricamente mediante la determinazione dell'assorbanza della soluzione in esame per confronto con una soluzione di compensazione a 425 nm.

Si calcola il contenuto percentuale in flavonoidi calcolati come isoquercitrinide mediante l'espressione:  $A \times 1,25/m$



## RISULTATI E CONCLUSIONI

Le tecniche quali-quantitative ufficialmente riconosciute, come quelle di Farmacopea, unite a tecniche innovative identificative quali il fingerprint in HPLC, HPTLC e in NMR forniscono un valido aiuto per uno screening veloce di lotti di piante, di provenienze diverse, dichiarati appartenere allo stesso genere e specie.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Consiglio d'Europa per averci fornito un campione di *Equisetum arvense* L. aghi da utilizzare come materiale di riferimento e il Dipartimento di Biologia Vegetale dell'Università "La Sapienza" di Roma.

## BIBLIOGRAFIA

**Uncini Manganelli R.E.**, Camangi F., Tomei P.E., 2001. Curing animals with plants: traditional usage in Tuscany (Italy). *Journal of Ethnopharmacology* 78: 171-191. **D. L. 6 aprile 2006, n 193** "Attuazione della Direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari. Gazzetta Ufficiale n. 121 del 26 maggio 2006-Supplemento ordinario n. 127. **Pignattelli P.**, 2006. La medicina veterinaria non convenzionale sostiene la qualità. *AZBIO* 12: 20-23. Health Canada Good manufacturing practices (GMP) guidelines. Health products and food branch Inspectorate. 2009. **Mooney M.H.**, Fogarty S., Stevenson C., Gallagher A.M., Palit P., Hawley S.A., Hardie D.G., Coxon G.D, Waigh R.D., Tate R.J, Harvey A.L., Furman B.L. 2008. Mechanisms underlying the metabolic actions of galegine that contribute to weight loss in mice. *British Journal of Pharmacology* 153: 1669-1677. **Rasekh H.R.**, Nazari P., Kamli-Nejad M., Hosseinzadeh L.. 2008. Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 116: 21-26. **Colas C.**, Popot M.A., Garcia P., Bonnaire Y., Bouchonnet S. 2008. Analysis of iridoids from *Harpagophytum* and eleutherosides from *Eleutherococcus senticosus* in horse urine. *Biomedical chromatography* 22: 912-917. **Wagner S.**, Ureña A., Reich E., Merfort I. 2008. Validated HPTLC methods for the determination of salicin in *Salix* sp. and of harpagoside in *Harpagophytum procumbens*: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 48: 587-591. European Pharmacopoeia sixth edition Supplement 6.2. 2008: 3729-3730. **O'Neill W.**, McKee S., Clarke A.F.. 2002. Immunological and haematinic consequences of feeding a standardised *Echinacea* extract to healthy horses. *Equine Veterinary Journal* 34: 222-227. European Pharmacopoeia sixth edition. 2008: 2787-2789. Le monografie tedesche Studio Edizioni, 1986 vol 4: nr 173. **Gallo F.R.**, Multari G. Giambenedetti M., Federici E. 2008. Chemical fingerprinting of *Lawsonia inermis* L. using HPLC, HPTLC, and Densitometry. *Phytochemical analysis* 19: 550-559. European Pharmacopoeia sixth edition. 2008: 1794-1795.



## GESTIONE DELLE FERITE E CONTROLLO DELLE MIASI CON SOSTANZE NATURALI IN VETERINARIA

Fiorella Carnevali , S. Andrew van der Esch

*ENEA - Dipartimento BAS BIOTTEC, Centro Ricerche Casaccia, Anguillara, Roma*

### **RIASSUNTO**

*L'Enea ha messo a punto un medicamento a base di sostanze naturali estratte da *Azadirachta indica*, var *A.Juss* e *Hypericum Perforatum*, oggetto di Brevetto Europeo per la risoluzione delle ferite che presenta proprietà cicatrizzanti e repellenti ai ditteri miasigeni che possono colonizzare le ferite durante i periodi estivi. Il medicamento ha ottenuto la registrazione CE per l'utilizzo in medicina umana come dispositivo medico ed è in attesa di ottenere il corrispettivo per l'utilizzo in medicina veterinaria. Il medicamento è stato utilizzato con la formula dell'uso in deroga negli animali da affezione e nel cavallo sportivo. E' stato utilizzato in via sperimentale su soggetti di interesse zootecnico (ovini, caprini, alpaca, bovini) su diverse tipologie di ferite. I risultati ottenuti nella risoluzione delle ferite e nella efficacia dell'effetto repellente confermano l'efficacia ottenuta in umana con notevole beneficio per il benessere degli animali trattati.*

**Parole chiave:** cicatrizzazione, infestazioni miasigene, sostanze naturali.

### **INTRODUZIONE**

La produttività ed il benessere degli animali sia di interesse zootecnico che da affezione, affetti da ferite, più o meno complicate (colonizzate da larve e/o infette), possono essere gravemente compromessi, specialmente durante i periodi in cui i ditteri miasigeni sono attivi (stagioni calde). La domanda di rimedi naturali, efficaci come quelli di sintesi, ma privi degli effetti nocivi sulla salute e sull'ambiente, è in costante ascesa. L'Enea, nel 2004, con il N°RM2004A000393, a livello nazionale e, nel 2008, a livello europeo con il N° 48211 BE/2008, ha brevettato un medicamento, a base di estratti oleosi da due piante, *Azadirachta indica*, *A. Juss.* o albero del Neem e *Hypericum perforatum* o Erba di San Giovanni. L'albero del Neem, rappresenta l'esempio più calzante e promettente di "Fattore per uno sviluppo sostenibile del pianeta". Questo albero cresce esclusivamente nelle aree tropicali a rischio di desertificazione, dove, se coltivato, è in grado di arrestarne l'avanzata e di preparare il territorio strappato al deserto per altre coltivazioni. Oltre ad offrire tutti i vantaggi della riforestazione delle aree desertificate, l'albero del Neem può essere utilizzato in tutte le sue parti pregiate per la produzione di rimedi naturali, di cui il medicamento, oggetto di questo studio, ne rappresenta un piccolo esempio. L'altra pianta utilizzata è nota nella tradizione erboristica occidentale sia per i suoi effetti antidepressivi, se utilizzata intera, che come lenitivo e cicatrizzante se utilizzata sotto forma di estratto oleoso delle sommità fiorite (C.M.Schempp et.al. 2002, B. Isacchi et al. 2007). Il medicamento, in concessione a Rimos s.r.l, è attualmente registrato in medicina umana nella categoria dei "dispositivi medici per uso topico" e può essere utilizzato nel settore veterinario come uso in deroga per gli animali





da affezione e per il cavallo sportivo. Il medicamento, utilizzato quotidianamente sulle ferite di qualunque estensione e natura ha proprietà cicatrizzanti che permettono di gestire le lesioni esterne (F. Carnevali et al. 2007a-b,) senza complicazioni batteriche o parassitarie, in qualunque stadio del processo si interviene (S. A. van der Esch et al. 2007). Al contempo, il medicamento presenta proprietà repellenti che impediscono ai ditteri miasigeni di depositare le larve carnivore sulle ferite, della durata di 24 ore (F. Carnevali, 2007). Il presente lavoro riferisce riguardo al decorso delle lesioni trattate nell'ambito della casistica raccolta in regime di compassione, su diverse tipologie di ferite, utilizzando esclusivamente animali accidentalmente feriti. In via sperimentale, è stato utilizzato anche su animali di interesse zootecnico per valutarne l'applicabilità in vista di una registrazione che comprenda anche le specie di interesse zootecnico.

## **MATERIALI E METODI**

La sperimentazione è stata inizialmente condotta reclutando quei pazienti con prognosi infausta che sarebbero stati soppressi a causa della gravità delle ferite (cavalli, cani, asini, pecore, ecc.). L'efficacia dimostrata in questa prima fase ha permesso l'estensione della sperimentazione anche a tipologie di ferite meno drammatiche. Tutti i soggetti per i quali non è stato possibile documentare il decorso fino alla risoluzione completa sono stati esclusi dai risultati, anche se l'esito era stato benigno. Con questi criteri abbiamo assemblato una casistica di casi a termine di 152 soggetti, suddivisi tra varie specie animali, con diverse tipologie di lesioni (Tabella 1). Trattamento delle ferite: in presenza di tessuti necrotici diversamente danneggiati, si è proceduto allo sbrigliamento chirurgico previa anestesia generale del soggetto o allo sbrigliamento salino (utilizzando soluzione salina sovrassatura) per i primi tre-cinque giorni di terapia. Di seguito, o in assenza di tessuti compromessi, le ferite sono state deterse con soluzione fisiologica, asciugate con garza e pennellate quotidianamente con il medicamento. A seconda della localizzazione, o a seguito di specifica indicazione terapeutica, vedi di seguito per i cheloidi, le ferite sono state fasciate con garza e cerotto autoagglomerante. In tal caso il medicamento è stato applicato imbevendo garze non sterili nel medicamento che sono poi state interposte tra la lesione e la fasciatura oclusiva. Rilevamento dati: i dati biografici, anamnestici e terapeutici di tutti i soggetti trattati sono stati raccolti utilizzando una scheda clinica predisposta per la registrazione. Il decorso delle ferite è stato documentato fotograficamente ad intervalli settimanali, per tutta la durata del processo di guarigione utilizzando una fotocamera digitale. Ove possibile è stata calcolata l'area della superficie lesionata mediante inserimento nel campo fotografico di un sistema metrico di riferimento (righello) o mediante calco su foglio acetato del profilo della lesione.

## **RISULTATI E CONCLUSIONI**

Tutti i casi in cui il protocollo terapeutico è stato regolarmente applicato hanno avuto esito positivo. La scomparsa della fase infiammatoria, che precede la fase di granulazione è avvenuta entro 3±2 giorni dall'inizio del trattamento e la fase di riepitelizzazione si è completata senza complicazioni secondo i tempi fisiologici della specie di appartenenza. Le cicatrici finali sono apparse elastiche e poco retratte e non sono mai stati riscontrati casi di retrazione cicatriziale fibrotica. Le complicazioni batteriche e parassitarie, nonché la patologia della fase di granulazione tipica dei cavalli



denominata cheloide, sono state efficacemente controllate. Le ferite infestate da miasi sono state sterilizzate e le colonizzazioni successive sono state sistematicamente evitate.

Specie	Ferite Traumatiche		Ferite chirurgiche	Cheloidi	Ascessi	Piodermiti	Prolasso del Retto	Miasi	Ustioni	Decubiti	TOT
	infette	Non infette									
Alpaca	18										18
Bovini	1							1			2
Felini					2				1		3
Cani	14	6	1		1	8	3		1	2	36
Asino	1										1
Capre					5			1			6
Equini	6	30		10	5					1	52
Suini								12			12
Istrice	1										1
Ovini								21			21
<b>TOT</b>	<b>41</b>	<b>36</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>8</b>	<b>3</b>	<b>35</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>152</b>

**Tab. 1:** Casistica sperimentale suddivisa per specie e per tipologia di patologie

Gli animali non hanno mai manifestato fastidio o dolore all'applicazione e non hanno mostrato comportamenti compulsivi imputabili a reazioni avverse dovute al medicamento. Il lambimento delle lesioni (cane e gatto) ha comportato una temporanea scialorrea in alcuni felini. La sospensione della terapia, per cause non pianificate, ha comportato una regressione delle lesioni, spesso accompagnate da reinfezioni batteriche o parassitarie, mentre la ripresa della terapia ha riportato le lesioni ai livelli fisiologici, anche nei casi di gravi reinfezioni o danneggiamento dei tessuti. Un intervallo di medicazione superiore a 24 ore ha comportato la reinfestazione miasigena.

**Alpaca:** sono state curate le ferite di un gregge di 20 Alpaca importato dalla Germania, che presentava lesioni spontanee e diffuse da *Corinebacterium pseudotuberculosis*, in forma di ascessi e flemmoni cutanei. Tutte le ferite rilevate sulla superficie degli animali sono state deterse, sbrigliate e trattate quotidianamente con irrigazione del medicamento, anche nei crateri e nelle sottominature. Nell'arco di trenta giorni le lesioni esterne più estese sono guarite nella maggior parte dei soggetti. Due soggetti sono deceduti per le complicazioni dovute a localizzazioni ascessuali epatiche e polmonari. I soggetti guariti venivano allontanati dal gregge e controllati per eventuali ricadute. Al secondo mese, 14 soggetti erano completamente guariti e per un anno non



hanno presentato ricadute, mentre quattro soggetti, mantenuti permanentemente in isolamento dal resto del gregge fino alla guarigione, hanno presentato recidive bottoniformi di dimensioni contenute, per tutto l'anno successivo.

**Cani:** Sono state curate con esito positivo ferite traumatiche, principalmente da morso, anche molto estese e complicate. Il trattamento risulta efficace sia con che senza bendaggio delle lesioni. Il lambimento non ha provocato effetti collaterali, se non l'inconveniente di portare via il medicamento. Il medicamento è risultato particolarmente efficace nella dermatite atopica "Hot spot" del cane caratterizzata da ampie aree di disepitelizzazione, fortemente infiammate e colonizzate da staphylococchi. L'animale estende poi le lesioni per traumatismo meccanico a seguito dell'intenso prurito. Al secondo giorno di trattamento si osserva la remissione dei sintomi del prurito e dell'infiammazione. Si osserva poi la progressiva riepitelizzazione con granulazione delle aree più erose e completa riepitelizzazione nell'arco di 12-15 giorni. Non è stata necessaria alcuna terapia antibiotica e antinfiammatoria parenterale. Nei casi di prolasso del retto, il trattamento con il medicamento, sia localmente sulla parte estroflessa, che iniettato nel retto in quantità di ½ cc, da due a cinque volte al dì, ha dimostrato di ridurre entro le prime 6 ore l'edema infiammatorio che rigonfia il tratto estroflesso permettendo, già dopo 12 ore, un parziale anche se poco stabile riposizionamento. Nelle 24 ore successive, il riposizionamento è sempre più stabile fino alla completa ripresa della funzionalità dell'alvo, entro 5 giorni dall'inizio della terapia.

**Equini:** Sono stati trattati 52 casi di ferite traumatiche di diversa gravità, estensione e localizzazione. Le ferite localizzate al tronco alla testa e al collo non necessitano di fasciatura e sono state agevolmente gestite anche in condizioni di campo. 10 delle ferite localizzate alle parti distali degli arti presentavano la tipica reazione cheloidea del cavallo: una iperproliferazione fibroblastica durante la fase di granulazione che impedisce la riepitelizzazione della ferita, esitando sempre in cicatrici esuberanti, fragili e invalidanti. Le lesioni con reazione cheloidea sono state trattate quotidianamente con garze imbevute del medicamento e fasciate permanentemente con bendaggio occlusivo. In tutte le lesioni, a partire dal quinto giorno di trattamento, è stato riscontrato "il fenomeno dell'emorragia": copioso sanguinamento della durata di qualche decina di secondi da tutta la superficie granuleggiante, al momento della rimozione del bendaggio. La superficie sottostante, dal quinto giorno di trattamento in poi si presenta come un normale tessuto di granulazione, adeguatamente vascolarizzato e circondato dal margine di riepitelizzazione con bordo esterno in via di pigmentazione. La superficie della ferita non mostra segni clinici di necrosi e non si osserva attivazione o riattivazione del processo infiammatorio, quanto piuttosto segni clinici ascrivibili a fenomeni di riassorbimento cellulare. Il fenomeno dell'emorragia è, secondo la nostra interpretazione clinica del fenomeno, dovuto al collassamento e svuotamento della rete vascolare neoangiogenetica non più circondata dai fibroblasti che stanno selettivamente subendo il riassorbimento cellulare (apoptosi selettiva). I tempi di guarigione, rispetto al trattamento causticante dei cheloidi, sono notevolmente accorciati. Le cicatrici definitive ottenute non hanno mai presentato esuberanze fibrotiche o deturpanti. Il recupero funzionale degli arti (che non avevano subito lesioni tendinee) è sempre stato completo. L'utilizzazione separata del medicamento e della fasciatura occlusiva, non hanno mostrato capacità di contenere la reazione cheloidea.



**Suini:** è stato gestito un allevamento di suini semibradi affetti da miasi estive recidivanti ai genitali (alla vulva al momento del parto nella femmina e al prepuzio durante il periodo estivo nel maschio). La somministrazione del medicamento sulle parti infestate ha portato alla remissione completa dei sintomi entro una settimana dal trattamento. La somministrazione giornaliera del medicamento durante la fase di esposizione della mucosa vaginale, nelle femmine, anche in assenza di infestazione larvale a mero scopo preventivo, ha impedito la comparsa della patologia in tutti i soggetti trattati.

**Ovini:** sono state trattate pecore affette da miasi agli zoccoli in più di un arto ciascuna, impossibilitate a deambulare e destinate, a seguito di tale invalidità, ad essere sopresse. La remissione delle lesioni agli zoccoli è avvenuta nell'arco di quindici giorni. La medicazione quotidiana ha impedito la reinfestazione, permettendo alle lesioni di guarire e all'unghietto di riformarsi. Le lesioni riscontrate in altre aree corporee hanno presentato tempi di guarigione fisiologici associati ad assenza delle nuove generazioni di larve. In conclusione, il medicamento ad uso topico non ha praticamente eguali in efficacia e praticità di applicazione e può essere utilizzato in condizioni di campo, o in situazioni sanitarie controllate, per la gestione di ferite, anche gravi e in periodi a rischio di infezioni e infestazioni parassitarie. Il medicamento può essere considerato un rimedio "all-in-one", e può sostituire efficacemente tutti gli attuali presidi, con diverse attività, che attualmente si applicano sulle ferite. Il carattere "eutrofizzante" del medicamento ne impone l'applicazione quotidiana.

#### **RINGRAZIAMENTI**

Si ringraziano tutti i professionisti, circa quaranta, che hanno permesso di mettere insieme la casistica presentata. In particolare si ringraziano il Colonnello Dr. Marco Argentieri, il Capitano Dr. Graziano Ippedico, e Dr. Luigi Amodio, del Reggimento Carabinieri a Cavallo, il Maggiore Dr. Carlo Alberto Minniti del Reggimento Corazzieri, il Colonnello, Dr Luigi Mellano, il Capitano dr. Marcello Curcio dell'Ospedale Militare di Montelibretti per la casistica sui cavalli.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**C.M.Schempp** · K. A. Müller · B.Winghofer · E. Schöpf · J. C.Simon. 2002 Saint John's wort in dermatology. *Hautarzt*, 53:316–321- **B. Isacchi** , M.C. Bergonzi, F. Carnevali, S.A. van der Esch ,F.F. Vincieri , A.R. Bilia. 2007. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 45 756–761; esterne (**F. Carnevali**, F. Castrignanò, S. A. van der Esch. 2007a; Early appearance Sacral Pressure Ulcer in Elderly Patient treated with Innovative Topical Remedy Mix 557 having Healing Properties: A Case Report. *EWMA*, Glasgow, UK 2 -4/5; **F. Carnevali**, P. Lazzarini, S. A. van der Esch.2007b. Chronic Pressure Ulcer in Elderly Patient treated with innovative Topical Remedy Mix 557 having healing Properties: A Case Report. *EWMA*, Glasgow, UK 2 -4/5; **S. A. van der Esch**, F. Carnevali, M. Cristofaro. 2007. Mix 557: A topical Remedy with repellent, biocidal and healing Properties for treating Myiasis both in Mammal as in Human. Glasgow, UK 2 -4/5; **F. Carnevali** , 2007 A wound healing remedy based on both Neem (*Azadirachta indica*, (A.Juss)) and St. John's Wort (*Hypericum perforatum*, L.) for treating infected and/or complicated wounds . World Neem Conference, Coimbatore (India), 21-24/11.



## **DIVERSI USI DI PRODOTTI A BASE DI NEEM (AZADIRACHTA INDICA (A. JUSS)) IN ZOOTECNIA: LEGGENDE E FATTI**

**S. Andrew van der Esch, Fiorella Carnevali**

*ENEA-BIOTEC, C.R. Casaccia, Anguillara, Roma*

### **RIASSUNTO**

*L'albero del Neem (*Azadirachta indica* - A. Juss), appartenente alla famiglia delle Meliacee, è una pianta utilizzata da millenni nella medicina tradizionale indiana (Ayurveda ed Unani) per le sue innumerevoli proprietà, al punto da essere definita "La farmacia del villaggio". E' una pianta diffusa nella fascia tropicale e sub-tropicale del pianeta che, però, non sopravvive alle gelate e pertanto non può crescere al di fuori di queste zone.*

*E' stato accertato, che i derivati del Neem possono essere impiegati sia come bio-pesticidi che come biocidi naturali in agricoltura grazie alle proprietà fagorepellenti, di inibizione della crescita e della capacità riproduttiva, osservata su circa 400 specie di insetti nocivi. Allo stesso tempo queste sostanze sono altamente biodegradabili e non dannose per la salute dei mammiferi. L'utilizzo di derivati dal neem per uso veterinaria per il controllo di ecto- ed endo-parassiti sarà discusso.*

### **INTRODUZIONE**

E' sempre più elevato l'interesse a sviluppare prodotti industriali che siano ecocompatibili. Nel contesto dello sviluppo sostenibile è sempre più impellente la necessità di adoperare nei più diversi settori (agricolo, industriale, servizi) sostanze che siano biologicamente attive e, nel contempo, poco nocive per la salute e l'ambiente, oltre che di facile biodegradabilità.

Una pianta utilizzata da millenni nella medicina tradizionale indiana (Ayurveda ed Unani) per le sue innumerevoli proprietà, al punto da essere definita "La farmacia del villaggio", è l'albero del Neem (*Azadirachta indica* - A. Juss) appartenente alla famiglia delle Meliacee, diffusa nella fascia tropicale e sub-tropicale del pianeta che, però, non sopravvive alle gelate e pertanto non può crescere al di fuori di queste zone. Oltre alle ormai note proprietà insetticida, l'albero presenta una tale gamma di utilizzi che la comunità scientifica internazionale la sta considerando una delle piante più interessanti da studiare. (1). E' stato accertato, infatti, che i derivati del Neem possono essere impiegati sia come bio-pesticidi sia come biocidi naturali in agricoltura grazie alle proprietà fagorepellente, di inibizione della crescita e della capacità riproduttiva su circa 400 specie di insetti nocivi, appartenenti a diversi ordini della scala zoologica (2). Nello stesso momento queste sostanze sono altamente biodegradabili e non dannose per la salute umana. Infatti, l'Azadiractina, una delle molecole più interessanti tra i derivati del Neem, viene classificata, secondo la Normativa CEE, fra le molecole che si possono usare in agricoltura biologica ed appartiene alla classe IV (non tossica). Anche l'EPA ha autorizzato l'utilizzo dei derivati del Neem in agricoltura (food e non-food) in quanto



classificati come non tossici. Anche l'olio di Neem che si ottiene dalla spremitura dei semi, trova molteplici usi in campo cosmetico, medicinale e agricolo.

Attualmente il maggiore fornitore di derivati del Neem è l'India. Tuttavia in molti paesi africani esistono numerosissimi esemplari di alberi di Neem, trapiantati dagli indiani al seguito degli inglesi nei periodi della colonizzazione che, però, non facendo parte del bagaglio culturale locale, non sono sfruttati in modo adeguato alle sue innumerevoli proprietà, se non per l'ombra che creano, e dunque non creano ricchezza. Lo sviluppo di una filiera di utilizzo del Neem (raccolta, stoccaggio, impianto di industrie leggere per l'estrazione dei derivati del Neem), e dunque della cultura del suo utilizzo in campo agricolo, medico/veterinario e cosmetico, potrebbe rappresentare una interessante strategia per stimolare lo sviluppo locale di aree povere e degradate del pianeta, per creare sviluppo, occupazione e ricchezza in maniera ecocompatibile ed ecosostenibile. In primo luogo gli agricoltori locali avrebbero a disposizione un pesticida naturale che gli consentirebbe di interrompere il processo di dipendenza dalle importazioni di pesticidi sintetici dall'occidente e, in secondo luogo, potrebbero diventare tra i più importanti produttori delle materie prime (olio ed estratti,) da destinare ai paesi sviluppati, dove l'albero non può essere coltivato, per la formulazione di biopesticidi e biocidi alternativi, non dannosi per l'ambiente e per la salute dell'uomo, nonché per la formulazione di medicamenti sia tradizionali che innovativi come quelli per uso umano e veterinario che andremo di seguito a discutere.

La diffusione dell'educazione e della cultura alla utilizzazione dei derivati del Neem (olio ed estratti) in Europa, potrebbe permettere uno sviluppo ecosostenibile ed ecocompatibile anche per i paesi sviluppati, non solo per arginare i sempre più pressanti problemi di inquinamento da prodotti di sintesi, ma anche per creare quel circolo virtuoso di sviluppo sinergico con i paesi in via di sviluppo che diventerebbero i principali produttori di materie prime ecocompatibili per un reciproco sviluppo ecosostenibile.

Applicazione	Bersaglio	Animale	Estratto	Risultato	Bibliografia
Ectoparassiti	Pidocchi	Pecore/ Angora/ Umano	Solvente /Olio	Positivo	13; 14; 15; 16; 17
	Zecche	Bovini/ Camelidi	Solvente /Olio	Positivo	3; 4; 5; 6; 7
	Pulci	Cani/ Gatti	Solvente	Positivo	18; 19
Endoparassiti	Strongili	Pecore	Solvente	Negativo in vivo; positivo in vitro a particolari condizioni	21; 22; 23

**Tab. 1** - Uso degli estratti di neem in applicazioni veterinarie.



### **Ectoparassiti:**

**Zecche** sono parassiti ematofagi di molti animali e anche dell'uomo, e possono essere pericolosi agenti di trasmissione di malattie infettive (vettori) di diversi agenti eziologici per il genere umano, nonché per gli animali da produzione e gli animali da compagnia. Le malattie trasmesse sono: la piroplasmosi o babesiosi; la rickettsiosi o febbre bottonosa; la malattia di Lyme (o morbo di Lyme o Borreliosi) in particolare da *Ixodes ricinus*, l'encefalite trasmessa da zecche (o TBE), la febbre Q e la tularemia.

Diversi lavori scientifici sono usciti riguardo all'utilizzo di estratti (acquosi o etanolic) da semi di neem o olio di neem (sempre da semi) sia *in vitro* (3; 4) che *in vivo* (5; 6; 7). *In vitro* sia l'olio che gli estratti polari (NeemAzal F® o estratti etanolic da semi) sono stati trovati attivi sia nei confronti degli stadi larvali che degli adulti (*Boophilus microplus*; *Hyalomma anatolicum excavatum*- (*Ixodoidea: Ixodidae*)), che riguardo allo sviluppo delle uova. Il controllo che si ottiene sulla popolazione di zecche è paragonabile a quello che si ottiene con i prodotti attualmente in commercio, mentre è molto diverso il meccanismo d'azione. Infatti, invece di ottenere un effetto "knock down" il controllo della popolazione di parassiti si ottiene attraverso sterilizzazione e disturbo dei processi di sviluppo dalle forme larvali ad adulti. L'Azadiractina pura fino a 5000 mg litro<sup>-1</sup> non ha effetti, sulla produzione delle uova o sulla capacità di nutrirsi (antifeedant) degli adulti (*Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae)) però al dosaggio di 2500 mg litro<sup>-1</sup> si è osservato un effetto "antifeedant" sulle larve (7).

L'unico studio sull'effetto repellente dell'olio di neem effettuato è quello di Samira S. Garbouli et al. con prove in campo contro *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) (8). Il risultato è positivo (60 – 80% di repellenza), anche se la durata è meno estesa di altri prodotti commerciali testati.

**Pidocchi:** L'infestazione da pidocchi succhiatori in medicina umana (*Pediculus humanus capitis*) e masticatori in zootecnia (*Damalinea* spp) pongono diversi problemi a secondo dell'ospite dell'ecto-parassita. Nel settore umano il problema ha una valenza più sociale che sanitaria, mentre in zootecnia per ovini e caprini il problema dei pidocchi è legato alla salute degli animali e alla produzione della fibra. Negli ultimi anni si è osservato un costante aumento della resistenza dei pidocchi ai prodotti solitamente usati, sia d'origine sintetica che naturali (9, 10, 11, 12). E' dunque impellente sviluppare prodotti a bassa tossicità capaci di controllare gli ecto-parassiti senza indurre resistenze. All'ENEA sono state intraprese ricerche per il controllo dei pidocchi sia nel settore umano che in quello zootecnico utilizzando degli estratti altamente purificati di Neem. I dati ottenuti -in entrambe i settori- (13) indicano una buona azione biocida verso le diverse specie di pidocchi con una protezione che nei caprini dura fino a 4 mesi dopo il trattamento.

Simili risultati sono stati descritti in due lavori che utilizzavano estratti metanolic (MeOH) di semi di Neem (14, 15). Nel lavoro di Heath et al. (14) in Nuova Zelanda è stato utilizzato un estratto contenente 1000 ppm di Azadiractina A ed hanno seguito l'evoluzione della popolazione di *D. ovis* fino a 7 settimane post trattamento. E' stato evidenziato un abbattimento fra l'85 e il 99.6%, a partire dalla seconda settimana fino alla 7<sup>ma</sup> settimana. Purtroppo non hanno prolungato il monitoraggio nel tempo. Guerrini (15) in Australia ha testato concentrazioni di Azadiractina A presente in un estratto metanolic in concentrazioni comprese fra 40 e 1250 ppm ed ha trovato un effetto-dose evidente.



Considerando i nostri dati (13) e quelli degli altri due gruppi di ricerca, si può concludere che i prodotti a base di Azadiractina A, sono efficaci per il controllo dell'infestazione da pidocchi masticatori (*D. limbate*, *D. ovis*). e che il meccanismo d'azione è diverso da quello dimostrato da insetticidi sintetici. Questi ultimi hanno infatti un effetto “knock-down” marcato, ma la protezione è significativa solo durante il primo mese post trattamento. I prodotti a base di Neem dimostrano, invece, un effetto iniziale più blando, ma che già dopo due settimane raggiunge la stessa efficacia dei prodotti di sintesi e, contrariamente a questi, producono un effetto prolungato nel tempo che dura fino a 18 settimane post trattamento.

**Pulci:** Sono solo due gli studi pubblicati sull'uso rispettivamente di estratto metanolico ed estratto acquoso per il controllo dell'infestazione da pulci. In entrambi i casi le prime indicazioni erano incoraggianti (18; 19).

#### **Endoparassiti**

**Strongili:** Lo sviluppo di resistenza agli antielmintici di sintesi, associato ad un alto costo dei medicinali, ha limitato il controllo del “gastrointestinal nematodiosis control” alle pecore e alle capre, creando un interesse a studiare piante mediche come antielmintici alternativi (20). I primi studi *in vivo* con foglie di neem (21) davano risultati positivi. Studi fatti all'ENEA, sia *in vivo* che *in vitro* non sono stati capaci di confermare l'attività antielmintica di estratti di neem (sia foglie che semi ed olio) nei confronti di *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus* spp.. Successivi studi, fatti con disegni sperimentali più attenti, hanno smentito l'attività antielmintica, sia *in vivo* che *in vitro*, di estratti di foglie e di semi di neem (22; 23). Solo nel particolare caso di larve di strongili L3 (forma larvale infestante, senza guaina che “cerca l'ospite” dopo la maturazione nell'ambiente esterno) è stato possibile dimostrare una attività antielmintica da parte di estratti di neem (24). Dunque l'efficacia del neem nei confronti degli strongili gastrointestinali che viene frequentemente rivendicata è una leggenda non supportata da evidenze scientifiche.

In conclusione, derivati del neem possono essere utilissimi in zootecnia per il controllo di ectoparassiti, sia in forma semplice che in forma tecnologicamente avanzata. Nel caso degli endoparassiti l'efficacia dei derivati del neem non è stata ancora scientificamente provata.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**Koul O.:** Neem: Today and in the New Millennium. Ed. O. Koul & S. Wahab. Kluwer Academic Publishers (2004) ISBN 1-4020-1229-2; **2. Schmutterer H.:** The Neem Tree: Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes. Ed. H. Schmutterer. Publisher Neem Foundation (2002); **3. S. Abdel-Shafy, A.A. Zayed** “In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae) Veterinary Parasitology 106 (2002) 89–96; **4. M. Valente et al** “Effectiveness of *Azadirachta indica* watery extract on the control of bovine ticks *Boophilus microplus*” Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.59, n.5, p.1341-1343, (2007); **5. Rahul Srivastava S.** et al. “Efficacy of *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus*” Parasitol Res (2008) 104:149–15; **6. E.C. Webb** and M. David “The efficacy of neem seed extract (*Azadirachta indica*) to control tick infestation





in Tswana, Simmentaler and Brahman cattle” South African Journal of Animal Science (2002), 32 (1); **7. DiefAlla H Al-Rajhy et al.**”Acaracidal effects of cardiac glycosides, azadirachtin and neem oil against the camel tick” *Pest Manag Sci* **59**:1250–1254 (2003) **8 Samira S. Garboui**, Thomas G. T. Jaenson, K. Pa°lsson “Repellency of MyggA\_ Natural spray (para-menthane-3,8-diol) and RB86 (neem oil) against the tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the field in east-central Sweden” *Exp Appl Acarol* (2006) 40:271–277; **9 .Burgess IF**, “Human lice and their control” *Annu. Rev. Entomol.* (2004). **49**:457–81. **10 Levot G.** “Resistance and the control of lice on humans and production animals” *International Journal for Parasitology* (2000) **30**: 291-297. **11 Martin PJ.**, “The development of high synthetic pyrethroid resistance in *Bovicola (Damalinia) ovis* and the implications for resistance management” *Australian Veterinary Journal*, (1993) **70**, n° 6: 209–211. **12 Meinking TL** “Clinical update on resistance and treatment of *Pediculus capitis*” *The American Journal of Managed Care* (2004) **10**, n° 9 Supl: S264–S268. **13 Hableutz A.** et al. “Impact of the botanical insecticide NeemAzal® on survival and reproduction of the biting louse *Damalinia limbata* on angora goats” *Veterinary Parasitology* (2007) **144**: 328–337. **14 Heath, A.C.**, Lampkin, N., Jowett, J.H., “Evaluation of non-conventional treatments for control of the biting louse (*Bovicola bovis*) in sheep” *Med. Vet. Entomol.* (1995) **4**, 407–412. **15 Guerrini, V.H.**,. Effect of azadirachtin on *Damalinia ovis* in sheep. *Online J. Vet. Res.* (2000) **4** (3), 133–138. **16 Heukelbach J.**, Oliveira F. A. S., Speare R. “A new shampoo based on neem (*Azadirachta indica*) is highly effective against head lice *in vitro*” *Parasitol Res* (2006) **99**: 353–356. **17 Abdel-Ghaffar F.**, Semmler M. “Efficacy of neem seed extract shampoo on head lice of naturally infected humans in Egypt” *Parasitol Res* (2006). **18 Guerrini V. H. and Kriticos C. M.** “Effects of azadirachtin on Ctenocephalides felis in the dog and the cat” *Veterinary Parasitology* **74**, Issues 2-4, 31 (1998) 289-297. **19 Kilonzo, B.S.**, Ngomuo, A.J., Sabuni, C.A., Mgode, G.F. “Effects of *Azadirachta indica* (neem) extract on livestock fleas in morogoro district, Tanzania” *Insect Science and its Application* **21**, Issue 1, (2001), 89-92. **20 Perry B.D.** and Randolph T.F. (1999) Improving the assessment of the economic impact of parasitic diseases and of their control in production animals. *Vet. Parasitol.* **84**, 145-168. **21 Pietrosevoli, S et al.** (1999) Empleo de hojas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en control de nematodos gastrointestinales de bovinos a pastoreo. *Rev. Fac. Agron (LUZ)*. **16 Suppl 1**: 220 – 225. **22 C.T.C. Costa et al.** “Anthelmintic activity of *Azadirachta indica* A. Juss against sheep gastrointestinal nematodes” *Veterinary Parasitology* **137** (2006) 306–310. **23 Hordegen P. et al.** “The anthelmintic efficacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs” *Veterinary Parasitology* **117** (2003) 51–60. **24 Hordegen P. et al.** “In vitro screening of six anthelmintic plant products against larval *Haemonchus contortus* with a modified methyl-thiazolyl-tetrazolium reduction assay” *Journal of Ethnopharmacology* (2006) vol:108 iss:1 pg:85 -89.



## **IMPIEGHI ZOOTECNICI DELLE PIANTE OFFICINALI: NUOVE PROSPETTIVE PER L'AGRICOLTURA ITALIANA?**

**Renato Contillo<sup>1</sup>, Paola Del Serrone<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Consiglio per Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Unità di ricerca colture alternative al tabacco, Scafati.*

<sup>2</sup>*Consiglio per Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per la produzione delle carni e il miglioramento genetico, Roma-Tor Mancina.*

Gli organismi vegetali rappresentano la maggiore riserva da cui l'umanità ha attinto fin dal lontano passato rimedi per malattie.

La definizione di "piante officinali" è stata riservata per gli organismi vegetali inclusi negli elenchi ufficiali di piante utilizzate nelle officine farmaceutiche, mentre la dizione "piante medicinali" indica quelle piante che sono riconosciute essere dotate di attività terapeutiche, ed impiegate sia come pianta intera o suoi organi, sia come di miscele di componenti estratti con metodi diversi (Suozzi, 1994), mentre per "piante aromatiche" si intende quello che il nome dice.

Correntemente, le piante officinali comprendono, generalmente, sia quelle dotate di attività medicinali, sia quelle dotate di proprietà aromatiche.

Nel seguito della discussione, il termine officinale sarà usato come sinonimo di medicinale e/o di aromatica.

I farmaci propriamente intesi sono nati come uso estremo dei classici rimedi basati su impieghi di minerali, animali e, molto più comunemente, piante. Il progresso delle conoscenze e delle capacità tecniche ha portato ad attribuire gli effetti osservati della somministrazione dei rimedi tradizionali a singoli componenti, a trovare tali singoli componenti e ad isolarli. L'attività specifica molto più elevata dei componenti singoli ha permesso la creazione di una medicina basata sulla specializzazione terapeutica: una sostanza una malattia.

La divaricazione fra rimedi tradizionali e chimica farmaceutica si è estesa fino ad una separazione netta fra le due branche della medicina. Nei paesi industrialmente avanzati la medicina fondata sulla chimica è largamente predominante, l'opposto accade in altri paesi, tenuto conto che i rimedi tradizionali spesso sono gli unici mezzi terapeutici alla portata di consistenti parti dei loro abitanti.

A differenza, o meglio, a complemento della medicina basata sul paradigma una sostanza una malattia, i rimedi fitoterapici sembrano avere effetti in quanto fitocomplessi, contenenti molte componenti diverse ed agenti sia per sinergia che per multifunzionalità.

L'ottica generale dell'impiego di piante officinali appare più diretta verso il mantenimento dello stato di salute dell'organismo, oppure verso il ripristino del bilanciamento di una rete di rapporti metabolici, compromesso da uno stato di malattia.

Anche le piante aromatiche tuttavia hanno effetti non nettamente distinti da quelle delle piante medicinali, considerati gli effetti antimicrobici sovente connessi con le spezie e gli aromi utilizzati in cucina (Billing, 1998).



L'enfasi che sta crescendo sugli impieghi zootecnici delle PO rappresenta una logica estensione degli usi sull'uomo. Gli allevamenti zootecnici sono diventati una questione prevalente nel settore agricolo mondiale.

Il consumo di proteine animali nel mondo è in continua e costante crescita, con contributi differenziati per tipo di animale e per localizzazione geografica.

Nei paesi industrializzati, il consumo di proteine sotto forma di carne è da qualche tempo stabilmente attestato su livelli elevati e giudicati incompatibili sia con un corretto stile di alimentazione, sia per la sostenibilità ambientale; si stima che negli Stati Uniti il consumo medio si attesti intorno a poco meno di 100 kg all'anno per persona, in Italia si sfiorano gli 80 kg. Sta crescendo invece il consumo nei paesi di recente industrializzazione (Cina, India, Brasile) in conseguenza dell'aumento generalizzato di ricchezza; la numerosità della popolazione di quei paesi agisce da imponente fattore di moltiplicazione per i modesti incrementi di consumo pro capite. Il risultato complessivo è l'andamento in crescita dei consumi globali, con riflessi fortemente negativi sul corso dei prezzi delle materie prime impiegate per l'allevamento degli animali (bovini, suini, pollame, pesci), tenuto conto dell'efficienza di trasformazione da materiale vegetale a peso vivo di carne (al netto degli scarti), i cui valori vanno da 45 kg per kg di carne nei bovini, a 16 kg per i suini, 10 kg per il pollame e circa 2 kg per i pesci (Roberts, 2009).

Nei paesi caratterizzati da uno stile di vita basato su livelli elevati di consumo di cibo, e l'Italia vi rientra a pieno titolo, la produzione di alimenti viene veicolata essenzialmente attraverso la grande distribuzione organizzata (GDO).

Le dimensioni e la capacità di intervento degli agenti della GDO è ormai tale da imporre le proprie necessità agli altri attori della filiera di produzione, segnatamente ai produttori agricoli. Se il paradigma della produzione alimentare mediata dalla GDO è: alti volumi a bassi costi, i margini per unità di prodotto su cui possono contare gli imprenditori agricoli per la redditività delle loro imprese sono esigui, e possono essere sfruttati solo aumentando l'efficienza complessiva delle aziende.

Aumento delle dimensioni aziendali, specializzazione spinta, riduzione dei costi sono le vie pratiche per mantenere una competitività in un mercato ormai mondiale, in cui non appare più rilevante la distanza geografica fra un produttore di derrate alimentari ed il luogo dove quelle derrate sono rivendute e consumate; di conseguenza, una grossa catena di distribuzione può acquistare ovunque riesca a trovare convenienze anche solo di poco maggiori. Questa tendenza non è tuttavia sostenibile, anche su periodi di medio termine (10 - 20 anni). La pressione sulla produzione di materiale vegetale, dovuta alla competizione fra impieghi diretti nell'alimentazione, impieghi indiretti (alimentazione animale) ed impieghi extra alimentare (es. per produzione energetiche) si è fatta insostenibile, come testimoniano le recenti oscillazioni sui prezzi delle granaglie. Già ora, a livello mondiale, l'allevamento rappresenta il maggior impiego diretto di alimenti vegetali. Inoltre, le estrapolazioni fatte a partire dagli andamenti di crescita dei consumi e delle produzioni da un lato, e dei trend demografici dall'altro, indicano un crescente squilibrio fra offerta complessiva e domanda di alimenti, tenuto anche conto della riduzione di fertilità dei terreni e della disponibilità di acqua di adeguata qualità, dovute alla combinazione dell'utilizzo diffuso di tecniche colturali non sostenibili, dell'inquinamento ambientale, dell'impatto dei cambiamenti climatici in atto, dell'incremento degli usi non agricoli dei suoli, e tenuto infine conto dell'estrema difficoltà a reperire altra superficie coltivabile a livello mondiale. In altri termini,



l'attuale modello di produzione agricola non può essere mantenuto per molto tempo. Nuovi modelli produttivi devono essere individuati, sperimentati ed applicati, in tempi relativamente brevi.

La produzione di proteine animali, che è oggi uno dei più potenti fattori di disequilibrio, rappresenta quindi un obiettivo di estremo interesse.

I punti di intervento nella filiera di produzione e commercializzazione delle proteine animali (carni rosse, carni bianche, pesci, latticini) sono molteplici.

Sul breve periodo, la riduzione nell'impiego di sostanze medicinali somministrate agli animali in allevamento, sia per la cura di malattie, sia a scopo di prevenzione, come gli antibiotici impiegati come fattori di crescita, richiedono interventi sostitutivi, non solo nei sistemi di allevamento estensivo a base di erba e fieno, ma anche negli allevamenti intensivi specializzati. Nel lungo periodo, è da mettere nel conto una riduzione drastica del consumo di carne, soprattutto da bovini, la cui inefficienza di trasformazione appare non modificabile, nemmeno ipotizzando il ricorso a tecniche di ingegneria genetica, ipotizzando la sostituzione delle proteine da carne con proteine vegetali, lasciando alla carne un ruolo da alimento di alta qualità e di consumo voluttuario e saltuario.

Il ricorso a rimedi come le piante officinali sembra essere una via promettente per interventi sul breve periodo, con riflessi anche a lungo termine. La sostituzione di sostanze xenobiotiche con fitocomplessi, per ottenere una efficace prevenzione contro l'instaurarsi di malattie, riduce grandemente il rischio di produrre resistenze negli agenti patogeni coinvolti, oltre a diminuire la presenza, nelle deiezioni animali, di sostanze ancora farmacologicamente attive. La transizione verso le PO, dotate di minore attività contro stati patologici acuti, potrà favorire la riduzione delle dimensioni aziendali e della specializzazione esasperata, fattori che predispongono a sviluppo e diffusione delle malattie negli allevamenti, oltre a ridurre la concentrazione del carico inquinante derivato dalla necessità di smaltimento delle notevoli moli di deiezioni.

Alla lunga, considerate anche le indicazioni contenute nella PAC sulla necessità per le aziende agricole di produrre per il mercato, sul benessere animale e sulla condizionalità, l'impiego delle piante officinali in alternativa alla medicina xenobiotica può giocare un ruolo in cui sia contemporaneamente causa ed effetto per l'instaurazione di modi ecocompatibili di produzione agricola e per un consumo consapevole e corretto di alimenti. Tutto ciò premesso, le piante officinali in Italia costituiscono al momento un comparto con una domanda in aumento da parte delle industrie trasformatrici ed una produzione locale stabilmente attestata su una superficie di circa 1.800 ha, che fornisce circa il 30% del fabbisogno, tutto il resto proveniente da paesi dell'Est europeo, Turchia, Nord Africa, Centro e Sud America, Cina, India ed altri paesi asiatici (sito Assoerbe, 2009).

Questi valori suggeriscono la possibilità di incrementare il settore produttivo nazionale.

La questione pone problemi di ordine diverso, esterni ed interni all'ambito nazionale.

Sostituire un prodotto importato con una produzione interna può avere effetti deleteri sui produttori di paesi poveri, che vedrebbero sfumare una delle poche possibilità di remunerazione, aggravando una condizione di sottosviluppo già drammatica. Diverso è il caso di importazione da paesi che godono di una buona bilancia dei pagamenti, oppure se il sistema agricolo locale può facilmente riconvertirsi ad altre colture, oppure ancora se il prodotto importato può presentare problemi di affidabilità per presenza di materiali estranei e/o di residui o inquinanti incompatibili con la normativa nazionale e



con l'uso, tenuto conto che la numerosità dei possibili inquinanti è tale da rendere poco plausibile un controllo totale di tutte le partite importate.

Fra le problematiche interne, si osserva che la relativa anelasticità della domanda sui tempi brevi rende i prezzi del prodotto, nel passaggio dal produttore agricolo al trasformatore industriale o ai punti di vendita (erboristerie), molto dipendenti dal rapporto fra domanda ed offerta. Questo causa oscillazioni cicliche del prezzo del prodotto, che complicano la gestione aziendale, introducendo elementi di aleatorietà non evitabili (sito Assoerbe, 2009).

La coltura di piante officinali richiede, oltre che idonee condizioni pedoclimatiche, specifiche competenze ed attrezzature, in dipendenza anche della tipologia di materiale prodotto: piante, o parti di piante fresche o essiccate, oli essenziali, semi.

L'interesse verso le alternative colturali costituite dalle piante officinali ha prodotto l'inclusione di queste colture nel novero delle ipotesi di lavoro dei progetti Colture Alternative al Tabacco, finanziate dalla Comunità Europea, Reg. CE n. 2182/2002, portate avanti dal CRA-CAT di Scafati. Nel biennio 2005-2006 è stata condotta una sperimentazione su menta e maggiorana in aree marginali del Beneventano, situate in media collina (400 m s.l.m.) e coltivate senza apporti irrigui. Le due colture sono state impiantate in un terreno di medio impasto, mediamente dotato di nutrienti e concimate con 70 kg ha<sup>-1</sup>, con una densità di 100.000 piante ha<sup>-1</sup>. La resa è risultata notevolmente dipendente dalle condizioni climatiche; la maggiorana ha prodotto da 1,61 a 5,72 t ha<sup>-1</sup> peso fresco di biomassa, la menta da 1,33 e 10,28 t ha<sup>-1</sup> (Raimo, 2007). Nel biennio 2006-2007 sono state eseguite prove in irriguo su diverse cultivar di origano nella media Valle del Tevere, su un terreno argilloso sabbioso. La biomassa prodotta nel 2006 è stata poi sottoposta a distillazione in corrente di vapore per estrarre l'olio essenziale (Lorenzetti, 2008). I risultati sono esposti nella Tabella 1:

Varietà	2006					2007	
	Peso Fresco (t ha <sup>-1</sup> )	Peso Secco (t ha <sup>-1</sup> )	Altezza (cm)	Umidità (%)	oli essenziali (%)	Peso Fresco (t ha <sup>-1</sup> )	Peso Secco (t ha <sup>-1</sup> )
AUREO	4,3	1,3	23,8	71,8	0,4	7,9	2,7
GRECO	3,7	1,2	22,7	70,1	2,0	7,2	2,4
HERRENAUSEN	6,9	1,8	20,2	74,0	0,5	-	-
COMUNE	4,8	1,6	32,8	69,9	1,0	13,8	4,6
<b>MDS (p≤0.05)</b>	<b>1,2</b>	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>7</b>	<b>0,3</b>	-	-
<b>MDS (p≤0.01)</b>	<b>1,6</b>	<b>n.s.</b>	<b>n.s.</b>	<b>11,0</b>	<b>0,5</b>	-	-

**Tab.1**

Infine, l'artemisia è stata oggetto di una sperimentazione sia in Campania che in Puglia. L'artemisia (*Artemisia annua*) è una pianta medicinale attiva contro la malaria per via della presenza di artemisinina, un lattone sesquiterpenico da cui si ricava un derivato, l'artesunate, indicato dall'OMS come principio attivo contro il *Plasmodium falciparum*, da solo o in associazione con altri principi attivi. La sperimentazione ha cercato di stabilire le condizioni pedoclimatiche e di tecnica colturale adatte a massimizzare il



contenuto di artemisinina. In particolare, una prova condotta in tre località del Beneventano con quattro cultivar di artemisia, sottoposte a quattro livelli di fertilizzazione azotata e due densità di investimento, ha fornito risultati variabili fra 10 e 55 t ha<sup>-1</sup> di biomassa (peso secco), dipendenti principalmente alla località. Il tenore di principio attivo, misurato sulla cultivar più produttiva, la Artemis, è stato compreso fra lo 0,47% ed il 0,68% (Leone, 2007, Abet, 2008). Una dotazione di attrezzature specifiche e l'alta intensità di manodopera rendono particolarmente onerosi gli investimenti ed i costi di gestione aziendali, condizione che rende le aziende ancora più sensibili alle fluttuazioni di prezzo del prodotto. Tali condizioni vengono ulteriormente amplificate nel caso di gestione biologica o biodinamica delle colture, per i maggiori costi sostenuti e per le maggiori esigenze di capacità tecniche per la gestione della coltura e dell'azienda.

Considerato tuttavia che il prezzo di vendita corrisposto al produttore agricolo dipende dalla qualità del prodotto, nella coltura delle PO ci sono margini per le aziende agricole di raggiungere condizioni di sufficiente remuneratività investendo in maggiore conoscenza; è questa una via di competizione particolarmente priva di effetti avversi impreveduti ed indesiderati. Il successo lungo questa via non è fondato, però, soltanto sulla buona volontà dei singoli, ma anche, e forse soprattutto, sul raggiungimento di un livello di cooperazione fra imprenditori agricoli, necessario per creare associazioni fra produttori allo scopo di raggiungere economie di scala impossibili a livello di singola azienda, date le ridotte dimensioni aziendali soprattutto nelle regioni del Sud Italia, e per impiantare processi di prima trasformazione direttamente presso le aziende agricole, recuperando altro valore aggiunto e quindi reddito aziendale, potendo suddividere i costi degli impianti fra più produttori. Il raggiungimento di un adeguato livello di associazionismo fra produttori agricoli, soprattutto nelle aree del sud, particolarmente carenti sotto questo aspetto per motivi storici e culturali, rappresenta una sfida in cui anche le strutture di ricerca esistenti sul territorio dovranno svolgere un ruolo attivo.

#### **BIBLIOGRAFIA**

**M. Abet**, G. Interlandi, P. Lombardi, E. Sodano, R. Nunziata, C. Del Gaudio, B. Di Giorgio 2008. Individuazione del periodo di massimo accumulo di artemisinina in genotipi di *Artemisia annua* L. Progetto Co.Al.Ta. II (Regolamento CE n, 2182/2002). Sintesi dei risultati; **J. Billing**, P.W. Sherman 1998. Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. Q. Rev. Biol, **73** (1): 3-49; **V. Leone**, E. Cozzolino, F. Raimo, E. Sodano, R. Nunziata, G. Zeno, B. Di Giorgio 2007. Introduzione della coltivazione di artemisia (*Artemisia annua* L.) nelle aree tabacchicole del beneventano sottoposte a riconversione. CRA-CAT Progetto CoAlTa 1 (Regolamento CE n, 2182/2002) 2007. Le colture alternative al tabacco nel Salento e nelle province di Benevento e Salerno; **F. Raimo**, A. Napolitano, R. Vatore, S. Casaburi, S. Vicidomini 2007. Coltivazione di menta e maggiorano nelle aree marginali del Beneventano. CRA-CAT Progetto CoAlTa 1 (Regolamento CE n, 2182/2002) 2007. Le colture alternative al tabacco nel Salento e nelle province di Benevento e Salerno; **Paul Roberts** 2009. La fine del cibo. Codice edizioni, Torino; **Roberto Michele Suozzi** 1994. Le piante medicinali, Newton&Compton, Roma; Sito web <http://www.assoerbe.it/ita/>, controllato il 7 luglio 2009.



## SITI DI SVILUPPO LARVALE DI *CULICOIDES* (DIPTERA, CERATOPOGONIDAE) IN SARDEGNA

Cipriano Foxi, Gavino Delrio

Dipartimento di Protezione delle Piante, Sezione di Entomologia Agraria, Università di Sassari

### RIASSUNTO

*Siti di sviluppo larvale di Culicoides (Diptera, Ceratopogonidae) in Sardegna. Le larve di Culicoides si sviluppano in ambienti umidi ricchi di sostanza organica. Alcune specie sono responsabili della trasmissione del virus della Bluetongue (BT). Nel bacino del Mediterraneo e in Sardegna il principale vettore è C. imicola.*

*Nel 2006 sono stati studiati, in diverse località dell'Isola, i siti di sviluppo larvale delle specie di Culicoides.*

*Da un totale di 323 campioni di fango sono sfarfallati 4.641 adulti di Culicoides appartenenti a 21 specie. Gli habitat da cui è stato ottenuto un maggior numero di specie di Culicoides sono stati i canali di scolo, le pozze attorno agli abbeveratoi, le pozzanghere temporanee e le rive di torrenti. Le due specie più numerose, C. circumscriptus e C. cataneii, hanno mostrato un'ampia adattabilità e sono state riscontrate in diversi biotopi. C. imicola è stata ottenuta in basso numero principalmente dalle rive di torrenti frequentati da animali.*

*La conoscenza dei siti di sviluppo larvale delle specie di Culicoides vettrici di virus potrebbe consentire il loro controllo biologico, chimico e mediante manipolazione dell'habitat.*

**Parole chiave:** *Culicoides*, Habitat larvali, Bluetongue, *C. imicola*.

### INTRODUZIONE

I *Culicoides* sono piccoli Ditteri ematofagi (2-3 mm di lunghezza) appartenenti alla famiglia dei Ceratopogonidi. Il genere è cosmopolita ed è presente con circa 1300 specie (Borkent e Wirth, 1997) adattate ad habitat molto vari dal punto di vista climatico ed ecologico. Le femmine di *Culicoides* depongono le uova in luoghi umidi ricchi di materiale organico in decomposizione di origine animale e vegetale. Alcune specie sono responsabili della trasmissione del virus della Bluetongue (BT). Nel bacino del Mediterraneo e in Sardegna il principale vettore è *C. imicola*.

Molti studi sono stati condotti sulle capacità vettoriali dei *Culicoides* nonché sulla biologia e tassonomia di questi insetti. Alquanto insufficienti sono, invece, gli studi ecologici relativi ai siti di sviluppo larvale condotti in Italia (Callot et al., 1965; Coluzzi e Kremer, 1964; Delrio et al., 2002). Tali dati rivestono una notevole importanza pratica perché la lotta alle specie vettrici potrebbe basarsi anche sul controllo delle popolazioni larvali. La lotta antilarvale può essere condotta con mezzi biologici, chimici e con la manipolazione dell'habitat. È però essenziale conoscere gli habitat di sviluppo larvale delle diverse specie per individuare i siti su cui concentrare l'azione disinfestante. A tale scopo è stato intrapreso uno studio per rilevare gli habitat larvali delle specie di *Culicoides* presenti in Sardegna.



## MATERIALI E METODI

Durante il 2006 sono state effettuate indagini per rilevare gli habitat preferiti delle diverse specie di *Culicoides* in Sardegna.

Periodicamente sono stati prelevati campioni di fango in diverse località e in particolare sono state indagate alcune aree umide, probabili siti di sviluppo larvale: laghi artificiali, stagni, canali di scolo, pozzanghere attorno agli abbeveratoi, paludi permanenti, pozzanghere temporanee, rive di torrenti, canali con rive ricoperte di canne, humus del sottobosco e paglia umida, vasconi di raccolta reflui, pozze per la raccolta liquami, letame e sterco animale e bordi di risaie.

I campioni di fango sono stati prelevati con una paletta che permetteva di raccogliere una striscia di terra lunga 40 cm, larga 4 cm e profonda 5 cm. Ogni campione di 800 cc è stato tenuto in laboratorio per 30 giorni in vassoi del diametro di 20 cm coperti con imbusti rovesciati alla cui estremità è stata posizionata una provetta trasparente per la raccolta degli insetti sfarfallati. Gli esemplari ottenuti sono stati schiariti in fenolo alcolico, montati in vetrini permanenti in balsamo del Canada (Boorman e Rawland, 1988) e determinati usando le chiavi d'identificazione di Kremer (1965) e Delecolle (1985).

## RISULTATI E CONCLUSIONI

Dai 323 campioni di fango prelevati durante il periodo di indagine sono stati ottenuti 4.641 adulti di *Culicoides* per un totale di 21 specie (Tab. 1). Le specie più numerose sono risultate *C. circumscriptus* e *C. cataneii* con, rispettivamente, 2.396 e 1.030 adulti. Gli habitat da cui è stato ottenuto un maggior numero di taxa sono stati i canali di scolo con 12 specie, le pozzanghere attorno agli abbeveratoi con 11 e le pozzanghere temporanee e rive di torrenti con 10 (Tab. 2). Non sono stati ottenuti sfarfallamenti dall'humus del sottobosco e dalla paglia umida e dai campioni di fango prelevati in uno stagno e in una vasca di raccolta dei reflui.

Di seguito sono riportati i risultati sui siti larvali frequentati dalle 10 specie più numerose.

*C. CIRCUMSCRIPTUS*. Questa specie ornitofila è stata rilevata in 10 dei 13 habitat campionati e in 9 di questi è risultata la specie dominante. È una specie alofila con un'ampia adattabilità ad un largo spettro di condizioni ambientali. Il numero maggiore di adulti sono stati ottenuti dai campioni di fango prelevati dai canali con canne e dalle paludi permanenti. In Israele e Cipro i focolai larvali sono stati trovati in corpi d'acqua salmastri privi di vegetazione e inquinati da scarichi di stalle, ma anche in pozze nelle dune sabbiose (Braverman et al., 1974; Mellor e Pitzolis, 1979).

*C. CATANEII*. Specie ornitofila, è stata rilevata in 7 biotopi oggetto di studio e solo in uno, le pozzanghere attorno agli abbeveratoi inquinate da deiezioni animali, è risultata la specie dominante. A Cipro, invece, è risultata dominante in ambienti umidi non contaminati da escrementi animali ma anche in siti come le piccole pozze che si formano per la perdita di tubi d'irrigazione entrambi ricchi di vegetazione in decomposizione (Mellor e Pitzolis, 1979).

*C. JUMINERI*. Questa specie è stata rilevata solo in 4 habitat e il numero più alto di sfarfallamenti è stato ottenuto dai campioni di fango prelevati nelle rive di torrenti. È molto difficile caratterizzare l'habitat larvale preferito da *C. jumineri* in quanto le





notizie sui substrati frequentati dalle larve di questa specie sono molto limitate. In Tunisia, Callot e Kremer (1969) hanno ottenuto farfallamenti da fango prelevato ai bordi di un canale d'irrigazione di un palmeto e Chaker (1981) da fango prelevato in diverse oasi ma sempre con numeri molto bassi.

*C. LONGIPENNIS*. Gli sfarfallamenti sono stati registrati esclusivamente dai campioni prelevati nelle pozzanghere formate dalle perdite d'acqua degli abbeveratoi. Si tratta di habitat molto umidi con un sottilissimo strato di acqua libera e generalmente ricoperti di erba. I siti di sviluppo larvale principali sembra siano costituiti dal fango dei corsi d'acqua (Callot et al., 1965; Kremer, 1965; Braverman et al., 1974).

*C. GEJGELENSIS*. Adulti di questa specie sono sfarfallati da campioni prelevati da 4 habitat diversi quali canali di scolo, pozzanghere attorno agli abbeveratoi, rive di torrenti e principalmente dalle pozzanghere temporanee. In Italia Callot et al. (1965) hanno ottenuto adulti di *C. gejelensis* da campioni prelevati dalle rive di un torrente. Anche in Russia le femmine di questa specie depongono le uova in fiumi montani e paludi (Glukhova, 1989).

*C. FESTIVIPENNIS*. Questa specie ornitofila è stata ottenuta soprattutto dal fango prelevato dalle pozzanghere in prossimità degli abbeveratoi. È sicuramente una specie che predilige luoghi fortemente contaminati da escrementi animali, infatti alcuni individui sono stati ottenuti anche da letame e sterco bovino. I focolai larvali sono costituiti generalmente dai margini melmosi di terreni paludosi o anche di piccoli stagni e fossi spesso ricoperti da bassa vegetazione (Edwards, 1939; Kettle e Lawson, 1952).

*C. IMICOLA*. Sfarfallamenti di questa specie sono stati ottenuti solo da 4 biotopi differenti. La quasi totalità degli individui, però, è stata ottenuta da campioni presi sulle rive di torrenti. Altri studi condotti in Sardegna (Delrio et al., 2002) confermano che questa specie abita siti umidi come rive dei laghetti, pozzanghere in prossimità degli abbeveratoi e rive di fiumi spesso contaminati da deiezioni animali. In altri paesi gli habitat larvali di *C. imicola* sono stati riscontrati in suoli molto umidi ricchi di sostanza organica ma non ricoperti di acqua (Braverman et al., 1974; Lubega e Khamala, 1976; Braverman, 1978; Mellor e Pitzolis, 1979).

*C. SAHARIENSIS*. Questa specie è stata ottenuta in 6 diversi habitat umidi con il maggior numero di individui dai campioni di fango prelevati sulle rive di torrenti. Anche in Israele è stata rilevata in campioni di fango ricco di sostanza organica prelevati in torrenti e canali di scolo (Braverman et al., 1974), mentre in Tunisia sono stati segnalati sfarfallamenti da fango prelevato in prossimità di un lago salato (Chaker, 1981).

*C. SUBMARITIMUS*. Questa specie è stata ottenuta esclusivamente da campioni prelevati in una palude retro-dunale molto sabbiosa. La sua biologia ed ecologia è praticamente sconosciuta ma probabilmente è molto simile a quella di *C. maritimus* che, come suggerisce il nome, è una specie che vive in prossimità delle coste e in particolare nelle paludi salmastre (Kettle e Lawson, 1952).

*C. NEWSTEADI*. Sfarfallamenti di questa specie che si nutre sui mammiferi, sono stati ottenuti da 5 habitat larvali diversi ma sempre in densità molto basse. Il numero maggiore è stato rilevato nei campioni di fango prelevati nei canali di scolo. Gli stadi larvali di *C. newsteadi* sono adattati a vivere in pozze salmastre basse ricche di sostanza organica in decomposizione e ciò è confermato anche dalle ricerche effettuate da altri autori (Kettle e Lawson, 1952; Kremer, 1965).



Lo studio effettuato ha permesso di evidenziare i siti di sviluppo larvale del genere *Culicoides*, e in particolare di *C. imicola*, in Sardegna. Questi sono spesso facilmente individuabili all'interno delle aziende zootecniche e la loro localizzazione potrebbe permettere una efficace lotta alle larve, inserita in programmi di controllo integrato delle specie vettrici della Bluetongue. La lotta larvicida, effettuata con insetticidi a dimostrata efficacia, assieme anche ad altre tecniche di manipolazione dell'habitat larvale potrebbe contribuire ad abbassare le popolazioni di *Culicoides* e quindi a ridurre il rischio di diffusione delle malattie virali. Gli insetticidi da preferire non dovrebbero essere dannosi per le biocenosi naturali e non dovrebbero presentare rischi per gli animali e per l'uomo. Recenti sperimentazioni hanno dimostrato la possibilità di contenere le popolazioni larvali di *C. imicola* con trattamenti con prodotti di origine naturale a basso impatto ambientale come il Neem cake (Foxi e Delrio, 2009).

	Specie	N°
1	<i>C. circumscriptus</i> Edwards	2396
2	<i>C. cataneii</i> Clastrier	1030
3	<i>C. jumineri</i> Callot & Kremer	241
4	<i>C. longipennis</i> Khalaf	240
5	<i>C. gejjelensis</i> Dzhafarov	163
6	<i>C. festivipennis</i> Kieffer	162
7	<i>C. imicola</i> Kieffer	140
8	<i>C. sahariensis</i> Kieffer	90
9	<i>C. submaritimus</i> Dzhafarov	66
10	<i>C. newsteadi</i> Austen	29
11	<i>C. punctatus</i> (Meigen)	17
12	<i>C. kibunensis</i> Tokunaga	15
13	<i>C. maritimus</i> Kieffer	13
14	<i>C. picturatus</i> Kremer & Dedit	11
15	<i>C. parroti</i> Kieffer	10
16	<i>C. univittatus</i> Vimmer	7
17	<i>C. puncticollis</i> (Becker)	4
18	<i>C. duddingstoni</i> Kettle & Lawson	3
19	<i>C. odiatus</i> Austen	2
20	<i>C. achrayi</i> Kettle & Lawson	1
21	<i>C. brunnicans</i> Edwards	1
	<b>Totale</b>	<b>4641</b>

**Tab. 1:** Totale *Culicoides* sfarfallati da 323 campioni di fango prelevati in diversi biotopi in Sardegna nel 2006.



**Tab. 2:** Tipologie di siti di sviluppo larvale delle specie di *Culicoides* e numero medio di adulti sfarfallati per campione ( $\pm$  deviazione standard). Tra parentesi numero totale di campioni prelevati.

Specie	Lago artificiale (80)	Canali di scolo (42)	Pozzanghere attorno abbeveratoi (60)	Paludi permanenti (15)	Pozzanghere temporane (30)	Riva torrenti (22)	Canali con canne (25)	Pozze liquami (8)	Letame e sterco (15)	Risaie (3)	Stagno (4)	Humus sottobosco e paglia umida (14)	Vasca raccolta reflui (5)
<i>C. circumscriptus</i>	3,33 $\pm$ 11,26	8,40 $\pm$ 12,02	2,58 $\pm$ 4,80	12,27 $\pm$ 17,61	5,96 $\pm$ 15,07	6,32 $\pm$ 21,22	41,72 $\pm$ 102,54	1,75 $\pm$ 4,56	3,87 $\pm$ 15,00		1,67 $\pm$ 2,89		
<i>C. cataneii</i>	0,11 $\pm$ 0,32	7,17 $\pm$ 23,08	3,0 $\pm$ 6,19	0,2 $\pm$ 0,41	1,1 $\pm$ 1,99	2,59 $\pm$ 6,64	17,88 $\pm$ 34,51						
<i>C. jumeri</i>		0,52 $\pm$ 2,94	1,93 $\pm$ 4,41			3,72 $\pm$ 14,67	0,8 $\pm$ 2,41						
<i>C. longipennis</i>			4,0 $\pm$ 8,06										
<i>C. gejelensis</i>		0,17 $\pm$ 0,58	0,53 $\pm$ 1,28		3,77 $\pm$ 9,74	0,5 $\pm$ 1,34							
<i>C. festivipennis</i>		0,07 $\pm$ 0,26	2,43 $\pm$ 4,43		0,33 $\pm$ 0,99		0,04 $\pm$ 0,20		0,13 $\pm$ 0,52				
<i>C. imicola</i>	0,03 $\pm$ 0,16	0,05 $\pm$ 0,21	0,1 $\pm$ 0,48			5,90 $\pm$ 13,05							
<i>C. sahariensis</i>	0,04 $\pm$ 0,19	0,09 $\pm$ 0,30	0,05 $\pm$ 0,29			2,0 $\pm$ 7,17	0,68 $\pm$ 3,00		1,27 $\pm$ 4,90				
<i>C. submaritimus</i>				4,4 $\pm$ 11,63									
<i>C. newsteadi</i>		0,36 $\pm$ 1,03		0,07 $\pm$ 0,26	0,06 $\pm$ 0,25	0,32 $\pm$ 0,94	0,16 $\pm$ 0,47						
<i>C. punctatus</i>	0,06 $\pm$ 0,29	0,07 $\pm$ 0,26	0,1 $\pm$ 0,48		0,1 $\pm$ 0,31								
<i>C. kibunensis</i>		0,07 $\pm$ 0,26				0,54 $\pm$ 2,34							
<i>C. maritimus</i>							0,52 $\pm$ 2,40						
<i>C. picturatus</i>					0,37 $\pm$ 1,00								
<i>C. parroti</i>					0,33 $\pm$ 0,99								
<i>C. univittatus</i>			0,03 $\pm$ 0,18		0,03 $\pm$ 0,18	0,18 $\pm$ 0,50							
<i>C. puncticollis</i>			0,05 $\pm$ 0,29										
<i>C. duddingstoni</i>							0,12 $\pm$ 0,44						
<i>C. odiatus</i>		0,02 $\pm$ 0,15				0,04 $\pm$ 0,21							
<i>C. achrayi</i>		0,02 $\pm$ 0,15											
<i>C. brunnicans</i>					0,03 $\pm$ 0,18								



## BIBLIOGRAFIA

**Boorman**, J. & Rawland, C. (1988) A key to the genera of British Ceratopogonidae (Diptera). Entomologist's Gazette, 39, 65-75. **Borkent** A., Wirth W. W., 1997 – World species of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). Bulletin of the American Museum of Natural History, 233: 257 pp. **Braverman** Y., 1978 – Characteristics of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) breeding places near Salisbury, Rhodesia. Ecological Entomology, 3: 163-170. **Braverman** Y., Galun R., Ziv M., 1974 – Breeding sites of some *Culicoides* species (Diptera, Ceratopogonidae) in Israel. Mosquito News, 34 (3): 303-308. **Callot** J., Kremer M., 1969 – Description d'un Culicoide nouveau *C. jumineri* (Dipt. Ceratopogonidé) trouvé en Tunisie. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 62: 1112-1118. **Callot** J., Kremer M., Coluzzi M., 1965 – Nouvelle contribution à l'étude des *Culicoides* (Diptères, Cératopogonidés) d'Italie. Parassitologia, 7 (2-3): 161-171. **Chaker** E., 1981 – Contribution a l'étude des *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) de Tunisie. Systématique, chorologie et écologie. Thèse pour le diplôme d'études et de recherches en biologie humaine. Université Louis Pasteur de Strasbourg. 196 pp. **Coluzzi** M., Kremer M., 1964 – Contributo alla conoscenza dei culicoidi italiani (Diptera, Ceratopogonidae). Parassitologia, 1-2 (VI): 63-69. **Delecolle** J. C., 1985 – Nouvelle contribution a l'étude systématique et iconographique des espèces du genre *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) du nord-est de la France. Thèse pour titre de Docteur de l'Université (Sciences). Université Louis Pasteur de Strasbourg, 9 Mai 1985: 238 pp. **Delrio** G., Deliperi S., Foxi C., Pantaleoni R. A., Piras S., 2002 – Osservazioni in Sardegna sulla dinamica di popolazione di *Culicoides imicola* Kieffer vettore della Bluetongue. In: Atti XIX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia; Catania 10-15 giugno 2002, 1091-1096. **Edwards** F. W., 1939 – In: Edwards F. W., Oldroyd H. & Smart J. British Bloodsucking Flies. British Museum, London, 156 pp. **Foxi** C., Delrio G., 2009 – Efficacia di trattamenti insetticidi contro le larve di *Culicoides* (Dip., Ceratopogonidae). In: Proceedings XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia; Ancona 15-18 giugno 2009, 241. **Glukhova** V. M., 1989 – Blood-sucking of the genera *Culicoides* and *Forcipomyia* (Ceratopogonidae). Fauna of the USSR. (in russo). pp 406. **Kettle** D. S., Lawson J. W. H., 1952 – The early stages of British biting midges *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) and allied genera. Bulletin of Entomological Research, (43): 421-467. **Kremer** M., 1965 – Contribution a l'étude du genre *Culicoides* Latreille particulièrement en France. Encyclopédie d'Entomologie, Serie A, 39: 299 pp. **Lubega** R., Khamala C. P. M., 1976 – Larval habitats of common *Culicoides* Latreille (Diptera, Ceratopogonidae) in Kenya. Bulletin of Entomological Research, 66: 421-425. **Mellor** P. S., Pitzolis G., 1979 – Observations on breeding sites and light-trap collections of *Culicoides* during an outbreak of bluetongue in Cyprus. Bulletin of Entomological Research, 69: 229-234.



## Indice degli Autori

---

### **A**

Amatiste S. · 36; 40  
Aureli P. · 40

---

### **B**

Bellini R. · 17  
Biscardi F. · 8  
Boselli C. · 36  
Brizioli N.R. · 28; 36, 43  
Bruno R. · 57

---

### **C**

Calistri P. · 57  
Carnevali F. · 74; 79  
Cattaneo T. · 21  
Contillo R. · 84

---

### **D**

D'Andrea A. · 62  
Del Serrone P. · 8; 84  
Delrio G. · 89

---

### **E**

Esch van der S.A. · 74; 79

---

### **F**

Federici E. · 51; 68  
Ferrini A.M. · 40  
Filippetti F. · 28; 36; 43  
Forcella S. · 57  
Formato G. · 28  
Foxi C. · 89

---

### **G**

Gallo F.R. · 51; 68  
Giacinti G. · 36  
Giacomelli A. · 28  
Guandalini E. · 44

---

### **H**

Hull V. · 44

---

### **I**

Iannetti S. · 57

---

### **L**

Lelli R. · 57

---

### **M**

Mariani S. · 62  
Marinelli E. · 28  
Montel M.C. · 40  
Multari G. · 51; 68

---

### **N**

Nicoletti M. · 8

---

### **P**

Palazzino G. · 8; 51; 68  
Pascucci I. · 57  
Pignattelli P. · 2  
Prosperi S. · 23



---

**R**

Ronchi B. · 36  
Rosati R. · 40

---

**S**

Sauro F. · 57  
Scagliarini A. · 23  
Serafini M. · 1; 8

---

**T**

Tava A. · 21

---

**V**

Vitali G. · 89

Finito di stampare LUGLIO 2009  
presso Global Print s.r.l. - Gorgonzola (MI)