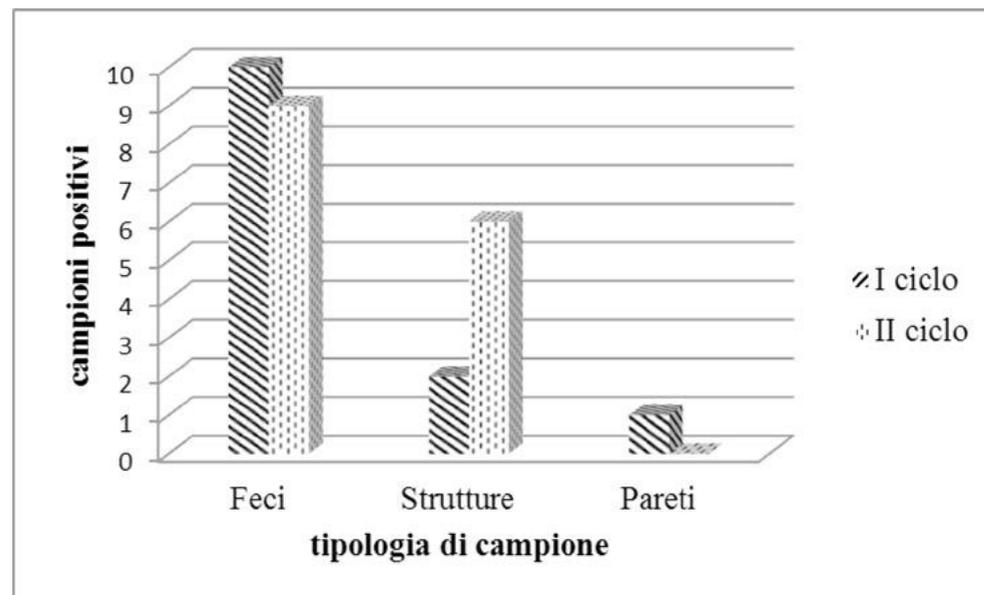


Tab. 1. Risultati degli isolamenti nelle varie matrici campionate in allevamento

		I ciclo di allevamento	II ciclo di allevamento
Numero campionamento	Data campionamento/ età animali	Campioni positivi a <i>Campylobacter termofili</i>	Campioni positivi a <i>Campylobacter termofili</i>
1	1 gg	-	-
2	7 gg	-	-
3	14 gg	2F	-
4	21 gg	2F	1F
5	28 gg	1F, 2F, 3S	1F, 2F,
6	35 gg	1F, 1P, 2F, 2S, 3F	1F, 1S, 2F, 2S, 3F, 3S
7	42 gg	1F, 2F, 3F	1F, 1S, 2F, 2S, 3F, 3S

Legenda: F= feci; S= strutture; P= pareti – i numeri sono riferiti ai rispettivi capannoni

Figura 1: Distribuzione di *Campylobacter termofili* nelle tre tipologie di campioni prelevati



UTILIZZO DI ALCUNI ESTRATTI VEGETALI NEL BROILER: INFLUENZA SULLO STATO SANITARIO E SULLE PERFORMANCES PRODUTTIVE

USE OF VARIOUS VEGETABLE EXTRACTS ON BROILER CHICKENS: INFLUENCE ON STATE OF HEALTH AND ON PRODUCTION PERFORMANCES

Grilli G.¹, Pasini G.¹, Calligarich C.¹, Guffanti P.², Ferrante V.², Facchetti G.³, Fasoli P.³, Pradella G.⁴, Colnago G.⁵

¹ Università degli Studi di Milano, Dip. di Medicina Veterinaria, via Celoria 10, 20133Milano;

² Università degli Studi di Milano, Dip. Scienze e Politiche Ambientali;

³ Avicola Monteverde, Brescia. ⁴ Veterinario Libero professionista; ⁵ Zaluvida Company, Malaysia.

Summary

The purpose of this experiment is to evaluate the effects of an additive containing plant extracts such as green tea (*Camellia sinensis*) and pomegranate (*Punica granatum*), rich in polyphenols, on the growth and health performance of broiler chickens.

The trial involved 46,000 ROSS hybrid broiler chickens (male and female) divided between 4 sheds, 2 of which were controlled and 2 which were treated with plant extracts administered at a dosage of 20 g/q of water from the second day of life for 5 consecutive days and then at a dose of 200 g/q of water for 3 consecutive days before each dietary change (from day 10 to day 12, from day 19 to day 21). Weight, mortality, and ICA showed no difference between the groups while the oocyst emission was statistically reduced in the groups treated with plant extracts ($P < 0.01$), showing maximum emission peaks at 28 days of life of 25,000 opg against 50,000 opg detected in the controlled group.

INTRODUZIONE

Con il 1 gennaio 2006 sono stati proibiti gli antibiotici promotori di crescita. Questi antibiotici avevano permesso, negli anni passati, di ottenere ottimi risultati produttivi, in particolare grazie alla loro azione benefica sul tratto digerente; per contro, il loro utilizzo prolungato, ha portato all'insorgenza di alcuni problemi quali lo sviluppo di batteri resistenti ai farmaci (Sorum e Sunde, 2001), la presenza di residui antibiotici nelle carni avicole e uno squilibrio della normale microflora intestinale (Andremont, 2000).

Con la proibizione del loro utilizzo, la ricerca si è indirizzata sempre di più su molecole alternative totalmente naturali, che potessero, in qualche modo, svolgere funzioni simili. L'attenzione è focalizzata, in particolare, sui metaboliti secondari delle piante, ovvero composti presenti solo in specifici organismi o gruppi di organismi. Le principali classi di metaboliti secondari comprendono: polichetidi e acidi grassi, fenoli, terpeni e steroidi, fenil propanoidi, alcaloidi, amminoacidi e peptidi specializzati, carboidrati specializzati (Hanson, 2003).

La presente sperimentazione ha come scopo la valutazione degli effetti di un additivo contenente estratti di piante, quali tè verde (*Camelia sinensis*) e melagrana (*Punica granatum*), ricchi in polifenoli, sulle performances di crescita e sulla salute di polli da carne.

In particolare è stata valutato l'effetto che tale associazione ha sulle capacità di controllare l'infezione da coccidi, in sinergia con i comuni additivi anticoccidici utilizzati negli allevamenti nazionali.

MATERIALI E METODI

La presente sperimentazione è stata condotta presso un allevamento di polli da carne situato nella provincia di Brescia e si è basata sulla valutazione degli effetti di un prodotto a base di estratti vegetali di tè verde (*Camellia sinensis*) e melagrana (*Punica granatum*), sullo stato di salute e sulle performances zootecniche degli animali.

Sono stati utilizzati 46.091 pulcini, di cui 16.791 femmine e 29.300 maschi, ibridi commerciali ROSS 308; all'arrivo sono stati suddivisi in quattro gruppi differenti (C1, C2, C4 e C5) e posti in quattro capannoni separati. Strutturalmente, i capannoni 1 e 2 (C1 e C2) sono delle medesime dimensioni mentre 5 e 6 (C5 e C6) sono di dimensioni maggiori. Due capannoni, 1 e 2, sono dotati di ventilazione laterale (trasversale), mentre i capannoni 5 e 6 presentano un sistema di ventilazione longitudinale. Durante la prova i polli sono stati alimentati *ad libitum* secondo il programma alimentare dei polli da carne che prevede quattro fasi distinte: starter (0-12 giorni), grower 1° periodo (13-21 giorni), grower 2° periodo (22-30 giorni) e un ulteriore periodo alimentare, finisher, che corrisponde agli ultimi giorni di allevamento prima della macellazione, nei quali non è presente l'anticoccidico. I coccidiostatici additivati nel mangime erano differenti a seconda del periodo del ciclo produttivo: il mangime starter conteneva Nicarbazina al dosaggio di 125 mg per Kg di mangime, il grower 1° periodo conteneva Narasin e Nicarbazina (Maxiban G160), al dosaggio totale di 625 mg per Kg di mangime e il grower 2° periodo presentava Monensis sodio (Elancoban 200), al dosaggio di 100 mg/Kg; il mangime finisher, precedente alla macellazione, quindi dal 31° giorno di età, era assolutamente privo di molecole coccidiostatiche. Gli animali sono stati suddivisi in quattro gruppi sperimentali: C1 e C5 (trattati) rappresentano i polli a cui è stato somministrato il prodotto fitoterapico, mentre C2 e C6 (controllo) non hanno ricevuto alcun trattamento naturale.

Il prodotto testato, a base di estratti di foglie tè verde e buccia di melagrana, è stato introdotto nell'acqua di bevanda, ed è stato fornito agli animali dei gruppi trattati al dosaggio di 20 g/q di acqua a partire dal secondo giorno di vita per 5 giorni consecutivi e, successivamente, al dosaggio di 200 g/q di acqua per 3 giorni consecutivi prima di ogni cambio di dieta; cioè rispettivamente da starter a grower 1° periodo, quindi dal giorno 10 al giorno 12, e da grower 1° periodo a grower 2° periodo, e quindi dal giorno 19 al giorno 21. La prova ha avuto una durata complessiva di sei settimane, dall'accasamento dei pulcini (giorno 0) all'avvio al macello (giorno 45), nel corso delle quali gli animali hanno seguito il disegno sperimentale sopracitato; durante la prova sono stati effettuati i seguenti rilievi e prelievi:

Peso.

Settimanalmente, sono stati pesati 100 animali per capannone, in maniera del tutto casuale, dall'arrivo in allevamento fino al 30° giorno di età (giorno 7, 14, 21, 30). Inoltre, sono stati forniti i pesi degli animali pre-macellazione, per valutare l'accrescimento raggiunto dai broilers a 30, 42, 50 giorni di allevamento

Mortalità.

Veniva valutata e registrata giornalmente e veniva calcolata la percentuale di mortalità per ogni capannone e quindi per ogni gruppo.

FCR (Feed conversion ratio).

La media della conversione di mangime veniva calcolata mediante il rapporto tra il consumo totale di mangime e il peso raggiunto dagli animali, ed è stata valutata per ogni gruppo.

Conta oocisti fecali.

Il campionamento delle feci è stato eseguito ogni settimana, dall'accasamento dei pulcini fino al 42 giorno di vita, la conta delle oocisti è stata effettuata mediante la camera di conta di McMaster (Conway e McKenzie, 2007).

Rilievi necroscopici.

Alla 5ª settimana di allevamento, dopo l'avvio al macello di una quota di animali, ci sono stati forniti dal macello stesso i visceri intestinali di 5 polli per capannone; su questi è stato eseguito il *lesion scoring*, per la valutazione della gravità delle lesioni macroscopiche da *Eimeria*

Analisi statistica

I dati raccolti sono stati analizzati mediante Anova utilizzando il pacchetto statistico SPSS vers. 24.

RISULTATI

Le performances zootecniche sono riportate in Tabella I; il peso medio è calcolato al 45 gg di vita;

nessuna differenza statisticamente significativa è stata registrata nei gruppi controllati per quanto riguarda questi parametri.

	C 1 (t)	C 2 (c)	C 5 (t)	C 6 (c)
Peso medio (kg)	3.169	3.09	3.04	3.058
ICA	1.7	1.64	1.66	1.63
Mortalità 1ª sett	0.79	0.86	0.8	0.59
Mortalità tot (%)	4.42	4.69	3.78	3.3

Per quanto riguarda l'andamento dell'emissione di oocisti dei gruppi C1 e C2, i risultati sono riportati in Figura 1. L'analisi statistica ha mostrato differenze significative tra i gruppi a partire dal 3° controllo (21 gg di vita) fino alla macellazione con $P < 0,01$.

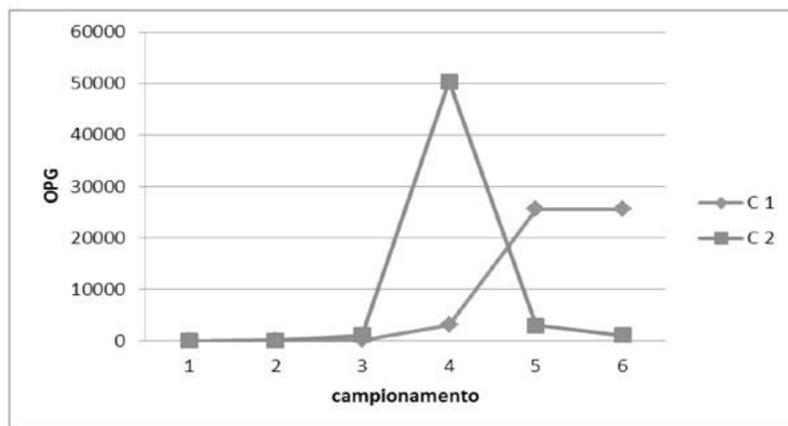


Figura 1. Andamento dell'emissione di oocisti nei gruppi C 1 e C2.

Per quanto riguarda l'andamento dell'emissione di oocisti dei gruppi C 5 e C 6, i risultati sono riportati in Figura 2. L'analisi statistica ha mostrato differenze significative tra i gruppi al 4° controllo (28 gg di vita) in corrispondenza con il picco massimo di emissioni di oocisti che si è mantenuto molto più basso nel gruppo trattato C 5 ($P < 0,01$).

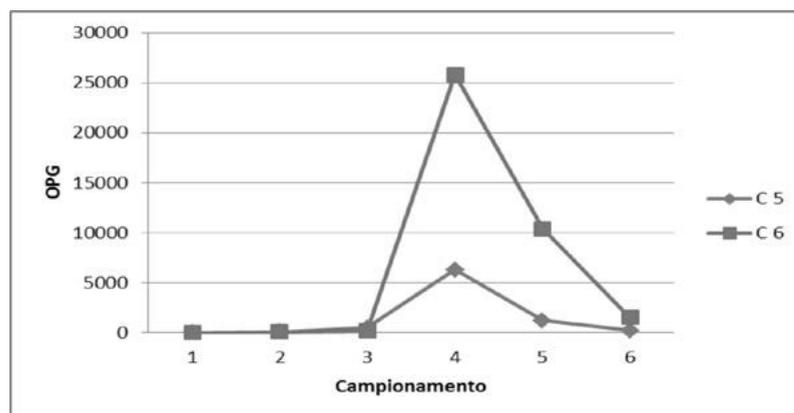


Figura 2. Andamento dell'emissione di oocisti nei gruppi C 5 e C 6.

Per quanto riguarda la valutazione delle *Lesion Score* effettuato a 35 gg di vita, non si registrano differenze statisticamente rilevanti tra i gruppi anche se i gruppi trattati (C1 e C5) hanno avuto meno lesioni e nel gruppo C 6, oltre ad avere 2 soggetti con score 1 per *E. acervulina*, si sono registrati casi di enterite non attribuibili ad infezioni da coccidi in 2 soggetti sui 5 controllati.

DISCUSSIONE

In questa sperimentazione si è indagato sulle capacità di un prodotto naturale ricco di polifenoli di controllare l'infezione da coccidi, in combinazione con i comuni sistemi di profilassi anticoccidici. Dalla bibliografia consultata infatti si era ipotizzato che il

prodotto, grazie all'elevata concentrazione in polifenoli, avrebbe aiutato gli animali a contrastare la coccidiosi coadiuvando l'anticoccidico presente nel mangime e migliorando anche la salute intestinale. Dai risultati ottenuti, le performances produttive non dimostrano alcuna differenza tra gli animali dei gruppi trattati e gli animali dei gruppi controllo; i pesi medi raggiunti nel corso dei 50 giorni di allevamento sono risultati simili tra i vari gruppi, e comunque non influenzati dal trattamento naturale, e i livelli di FCR nei quattro gruppi non risultano condizionati dall'assunzione del prodotto, tutte le performances registrate sono comunque in linea con quanto dichiarato nei manuali dell'ibrido allevato e quindi difficilmente migliorabili. Anche le percentuali di mortalità, durante la prima settimana del ciclo e totale, non hanno dimostrato differenze tra i capannoni, e comunque si sono mantenute nella norma delle percentuali osservate negli allevamenti di broilers. Come avvenuto nel nostro studio, anche Cao *et al.* (2005) non hanno ottenuto alcun miglioramento del peso e dell'efficienza alimentare di pulcini alimentati con estratti di foglie di tè verde, ma in questo caso la mortalità è stata drasticamente ridotta. In un ulteriore studio, invece l'assunzione di tè verde a livelli bassi di inclusione nella dieta, ha consentito un significativo aumento di peso dei broilers (Sarker *et al.*, 2010).

Lo scopo principale di questa ricerca, come detto in precedenza, si basa sulla valutazione dell'azione protettiva che questi estratti vegetali dovrebbero dimostrare verso il tratto gastrointestinale degli animali, ed in particolare nei confronti delle infezioni da coccidi. Nella nostra sperimentazione, essendo la prima svolta in condizioni di campo con un gran numero di soggetti (oltre 46.000), non si è volutamente modificata la metodica di controllo dei coccidi ma analizzando i dati relativi alla conta delle oocisti fecali, si può notare come nei gruppi di broilers a cui è stato somministrato il trattamento fitoterapico, l'emissione di oocisti sia notevolmente ridotta, rispetto ai gruppi a cui sono state somministrate solo molecole anticoccidiche. Infatti, analizzando per tipologia di capannone (C1 e C2) si può notare come la differenza tra il trattato (C 1) e il controllo (C 2) sia netta e confermata anche dall'analisi statistica già a partire dal controllo della 3^a settimana di vita, tale differenza si mantiene fino alla fine del ciclo. In questo caso si assiste ad un ritardo nel raggiungimento del picco di emissione nel trattato che viene raggiunto nel 35° giorno contro il 28° del C2. Questo potrebbe essere spiegato dal fatto che nelle prime settimane l'infezione è stata controllata efficacemente tanto da ritardarne l'emissione massima; va anche ricordato che l'ultima somministrazione del prodotto è stata fatta a 21 giorni e che a 30 giorni è stato sospeso l'anticoccidico. Un'altra spiegazione potrebbe essere data dal fatto che morfologicamente le oocisti riscontrate nelle prime settimane erano verosimilmente appartenenti alla specie *E. acervulina* mentre successivamente si è notato un aumento di *E. maxima*. Quest'ultima viene in parte inibita dalla prima e quindi ha infettato i polli più tardivamente quando non c'era più la copertura dell'anticoccidico (Mathis, 2005).

Nel C2 le OPG hanno raggiunto un valore di 50.000 che può venire considerato come livello di attenzione oltre il quale si può avere manifestazioni cliniche conclamate similmente a quanto avviene in infezioni sperimentali miste (Elmusharaf *et al.*, 2010). Per quanto riguarda i gruppi C5 e C6, anche in questo caso la differenza di OPG emesse è statisticamente favorevole al gruppo trattato. In questi gruppi i valori massimi raggiunti sono inferiori rispetto ai primi valutati in entrambi i gruppi ma, il picco massimo di emissione è stato sempre al 28° giorno di vita.

Questi dati sembrano confermare quanto già segnalato in bibliografia per quanto riguarda l'attività inibitoria degli estratti di tè verde nei confronti dei coccidi. Questa attività si esplica alterando la sporulazione delle oocisti eliminate nella lettiera inattivando gli enzimi responsabili della sporulazione del parassita con conseguente diminuzione della contaminazione ambientale (Jang *et al.*, 2007; Molan e Faraj, 2015). A conferma di quanto dimostrato con questo lavoro, un ulteriore studio conferma l'effetto anticoccidico di tè verde (*Camellia sinensis*) nei confronti dei coccidi appartenenti alla specie *Eimeria maxima*: i polli alimentati con tale sostanza per cinque settimane consecutive hanno riportato una significativa riduzione dell'emissione fecale di oocisti rispetto ai gruppi controllo, con conseguente diminuzione della contaminazione ambientale della lettiera. Come nel nostro studio, non è stato evidenziato alcun miglioramento dell'incremento di peso nei gruppi trattati (Jang *et al.*, 2007).

Confrontando invece i risultati della *lesion scoring* dei capannoni 5 e 6 (C5 e C6), si può osservare come il prodotto naturale abbia svolto l'azione desiderata, ovvero quella di proteggere il tratto gastrointestinale degli animali dagli stress indotti dai continui cambi di dieta e anche dalle infezioni da coccidi. Infatti, nessuno dei campioni del C5 (trattato) ha riportato lesioni macroscopiche a livello intestinale, indice di un effettivo beneficio del prodotto fitoterapico. La combinazione di estratti vegetali, in supplemento ai coccidiostatici chimici, mostra una miglior protezione nei confronti delle infezioni da *E. maxima* ed *E. acervulina*, riducendo oltre all'emissione di oocisti anche le lesioni riportate a livello del tratto intestinale dei broilers così come riscontrato anche da Almeida *et al.* (2014). In bibliografia viene dimostrata anche l'attività anticoccidica del melograno riferendosi alla sua capacità protettiva del tessuto del piccolo intestino dell'ospite da lesioni indotte da *Eimeria* spp. (Dkhil, 2013).

CONCLUSIONI

Negli ultimi anni la ricerca in campo zootecnico si è orientata sempre più verso i prodotti naturali, derivati da estratti vegetali e oli essenziali, date le loro confermate capacità di migliorare la salute ed aumentare l'efficienza produttiva degli animali.

Tra i metaboliti secondari delle piante, sicuramente i polifenoli rappresentano la classe più importante, date le innumerevoli proprietà attribuite loro: dall'attività antiossidante a quella antinfiammatoria, dalla capacità anticancerogena a quella antivirale, ed infine la possibile azione nei confronti dell'infezione da coccidi.

Il nostro studio non ha la pretesa di dare delle indicazioni conclusive sul prodotto utilizzato ma sicuramente si può affermare che questo ha dimostrato l'effetto benefico di estratti di foglie di tè verde (*Camellia sinensis*) e buccia di melagrana (*Punica granatum*), prodotti vegetali particolarmente ricchi in polifenoli, in quanto nei gruppi di broilers trattati è stata riscontrata oltre ad una minor concentrazione di oocisti emesse, anche una minor incidenza di lesioni macroscopiche del tratto gastrointestinale. Grazie agli effetti positivi apportati dal prodotto naturale, gli animali che hanno ricevuto il trattamento hanno manifestato un miglioramento dello stato sanitario; infatti, in associazione con i farmaci coccidiostatici, il prodotto ha permesso agli animali di superare lo stress conseguente alle variazioni di dieta, le quali sono frequenti e veloci nell'allevamento del pollo da carne,

e quindi di minimizzare i danni subiti dall'infezione coccidica. È importante sottolineare che questi additivi naturali non vogliono essere un'alternativa alle comuni cure antibiotiche in caso di patologia, ma rappresentano una strategia in termini di prevenzione della malattia, in associazione con le fondamentali norme di biosicurezza e con un'ottima qualità degli alimenti somministrati.

Ulteriori indagini sarebbero necessarie per capire meglio quali siano i principi attivi presenti nel prodotto e con quali meccanismi agiscono così come potrebbe essere interessante anche vedere se vi è un'azione antagonista anche in gruppi di broilers vaccinati contro i coccidi e se questo prodotto da solo è in grado di contrastare l'infezione coccidica in polli alimentati con mangimi senza coccidiostatici.

BIBLIOGRAFIA

1. Almeida G.F.D., Thamsborg S.M., Madeira A.M. (2014). The effects of combining *Artemisia annua* and *Curcuma longa* ethanolic extracts in broilers challenged with infective oocysts of *Eimeria acervulina* and *E. maxima*, *Parasitology*, vol. 141, n. 3, pp. 347–355.
2. Andremont, A. (2000). Consequences antibiotic therapy to the intestinal ecosystem. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 19:395-402.
3. Cao, B.H., Karasawa, Y., Guo, Y.M., (2005). Effects of green tea polyphenols and fructo-oligosaccharides in semi-purified diets on broilers' performance and caecal microflora and their metabolites. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18, 85–89.
4. Conway D.P., McKenzie M.E. (2007). *Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures*. Third Edition.
5. Dkhil A.M. (2013). Anti-coccidial, anthelmintic and antioxidant activities of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract. *Parasitol. Res.* 112. pp. 2639–2646
6. Elmusharaf M.A., Mohamed H.E., Alhaidary A., Beyen C. (2010). Efficacy and characteristics of different method of Coccidiosis infection in broiler chickens. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 5 (1), pp. 45-51.
7. Hanson, J.R. (2003). *Natural Products the Secondary Metabolites*. The Royal Society of Chemistry, 1-27, Cambridge, UK.
8. Jang, S.I., Moo-Hyung, J., Hyun, S.L., Rami, A.D., Il-Keun, K., Suk, K. & Wongi, M. (2007). Anticoccidial effect of green tea-based diets against *Eimeria maxima*. *Veterinary Parasitology* 144, pp. 172–175.
9. Mathis G. (2005). Reasons for field problems with *E. maxima*: *E. acervulina* versus *E. maxima*. *Proceedings of the IXth International Coccidiosis Conference*, Foz do Iguassu.
10. Molan A.L., Faraj A.M. (2015). Effect of selenium-rich green tea extract on the course of sporulation of *Eimeria* oocysts. *Journal of Dental and Medical Sciences*, vol 14, n 4, pp. 68-75,
11. Sarker, M.S.K., Kim, G.M. & Yang, C.J., (2010). Effect of green tea and biotite on performance, meat quality and organ development in Ross broiler. *Egyptian Poultry Science Journal* 30(1), 77–88
12. Sørnum H., Sunde M. (2001). Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet. Res.* 32. 227–241.