

# UNA MISCELA MICROINCAPSULATA DI MOLECOLE VEGETALI IN UN MODELLO DI COCCIDIOSI IN POLLI DA CARNE

Tugnoli B.<sup>1</sup>, Piva A.<sup>1,2</sup>, Grilli E.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Vetagro S.p.A., via Porro, 2 – 42124 – Reggio Emilia (Italy);

<sup>2</sup> DIMEVET, Department of Veterinary Medical Sciences, University of Bologna, Via Tolara di Sopra, 50 – 40064 – Ozzano dell'Emilia (BO), Italy;

<sup>3</sup> Vetagro, Inc., 17 E. Monroe St., Suite #179, 60604 Chicago (IL), USA.

## Summary

Chicken coccidiosis is a parasitic disease caused by *Eimeria* spp. Research has focused on finding new alternatives to fight these pathogens and botanicals have gained much interest in this field. The aim of this study was to test the anticoccidial activity of a microencapsulated blend of botanicals *in vivo* in broilers artificially infected with coccidia.

A total of 1,500 day-old chicks (Cobb 500) were divided into pens (50 chicks/pen) and assigned to 3 groups (10 pens/group): negative control (NEG) group, fed a basal diet, not challenged; positive control (POS) group, fed a basal diet, challenged with cocci; treated (TRT) group, fed a basal diet supplemented with a microencapsulated blend of botanicals at 250 g/MT, challenged with cocci. The challenge with cocci consisted of an oral inoculation with a multispecies *Eimeria* inoculum (*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella*) at day 21. The study lasted 42 days with intestinal lesions and oocysts per gram (OPG) of feces determined on day 28, and growth performance recorded throughout the study. Data were analyzed with ANOVA and differences considered significant at  $P < 0.05$ .

In the first week after the infection with cocci, the challenge did have a negative impact on growth performance for the POS group compared to the NEG control, while the treated group, despite the challenge, showed already significantly better body weight gain and FCR. From the cocci challenge to the end and for the overall period, FCR of treated group was comparable to the negative control non-challenged group ( $P < 0.001$ ). Moreover, the treated group showed reduced intestinal lesion scores for *E. acervulina*, *E. maxima*, and *E. tenella* at d28 ( $P < 0.05$ ) and numerically lower fecal shedding of oocysts compared to positive control.

To conclude, the microencapsulated blend of botanicals used in this study has the potential to contain loss of performance and intestinal lesions associated with coccidiosis challenge in broiler chickens.

## INTRODUZIONE

La coccidiosi è una delle più comuni ed economicamente più importanti patologie del settore avicolo, causata da protozoi appartenenti al genere *Eimeria*. Tale patologia intestinale è caratterizzata da una forte riduzione delle performance di crescita degli animali con un impatto economico stimato fino a 13 miliardi di dollari di perdite ogni anno (Blake et al. 2020). Inoltre, il danno alla mucosa intestinale causato da *Eimeria* spp è considerato il principale fattore predisponente dell'enterite necrotica causata da *C. perfringens*, largamente ritenuta una delle principali minacce per l'in-

dustria avicola globale (Quiroz-Castaneda & Dantan-Gonzalez, 2015; Timbermont et al., 2011).

Una corretta gestione dell'allevamento è fondamentale per il controllo della patologia, ma data la sua frequenza e la sua diffusione sono necessari una prevenzione ed un controllo di tipo farmacologico. Tali trattamenti prevedono l'utilizzo, sotto regolamentazione, di farmaci anticoccidici, solitamente alternati a programmi di vaccinazione nei periodi estivi (Quiroz-Castaneda & Dantan-Gonzalez, 2015; Györke et al., 2013). A causa di sempre più frequenti fenomeni di resistenza ai trattamenti tradizionali, si è resa necessaria la ricerca di nuove molecole efficaci per il controllo di questi patogeni. In questo contesto, grande interesse è stato dato alle molecole vegetali che hanno mostrato attività anticoccidiche *in vitro*, interferendo in vari modi con il ciclo vitale di *Eimeria* (Felici et al., 2020)

L'obiettivo di questo studio è valutare l'attività anticoccidica di una miscela microincapsulata di molecole vegetali *in vivo* in polli da carne infettati artificialmente con coccidi di *Eimeria*.

## MATERIALI E METODI

Un totale di 1500 polli da carne (Cobb 500) al giorno 0 di vita sono stati allocati in box (50 animali/box) e assegnati a 3 gruppi sperimentali (10 box/gruppo):

Gruppo controllo negativo (NEG), alimentato con una dieta standard, non sottoposto a *challenge* con coccidi;

Gruppo controllo positivo (POS), alimentato con una dieta standard, sottoposto a *challenge* con coccidi;

Gruppo trattato (TRT) alimentato con una dieta standard supplementata con una miscela microincapsulata di molecole vegetali a 500 g/ton, sottoposto a *challenge* con coccidi.

Le diete sono state fornite *ad libitum* a partire dall'accasamento secondo questo piano alimentare: fase starter (giorno 0-21), fase grower (giorno 21-35), fase finisher (giorno 35-42). Le diete consistevano in mangimi commerciali, non medicati, formulati sulla base delle indicazioni NRC e fornite come pellet sbriciolato (starter) o come pellet (grower e finisher).

Il *challenge* con coccidi è consistito nella somministrazione orale di un inoculo multi-specie di *E. acervulina* (100000 oocisti/animale), *E. maxima* (50000 oocisti/animale), *E. tenella* (75000 oocisti/animale) al giorno 21. Al giorno 28, 5 animali/box sono stati sacrificati ed esaminati per le lesioni intestinali da *Eimeria* secondo il metodo di score di Johnson e Reid (1970), ossia una scala da 0 a 4 di gravità crescente con punteggio 0 per intestino normale e 4 per intestino con le lesioni più gravi. Al giorno 28 sono stati raccolti campioni fecali da ogni box per la conta del numero di oocisti per grammo (OPG) di feci mediante metodica Mc Master al fine di determinare l'eliminazione fecale delle specie di *Eimeria*.

Per determinare le performance di crescita, sono stati registrati l'alimento somministrato e il peso vivo per box ai giorni 0, 21, 28, 35 e 42. Conseguentemente sono stati calcolati parametri di crescita quali l'ingestione alimentare, l'incremento ponderale e l'indice di conversione alimentare aggiustato sulla base della mortalità.

I dati sono stati analizzati con ANOVA seguita da test di Tukey (Graph Pad Prism 6; GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Le differenze sono state considerate significative per  $P < 0.05$  e le tendenze per  $0.05 < P \leq 0.10$ .

## RISULTATI

### *Performance di crescita*

I risultati delle performance di crescita sono riportati nella Tabella 1. Nel periodo 0-21 giorni, prima dell'infezione con coccidi, non sono state osservate differenze nei parametri di crescita dei gruppi. Nella prima settimana dopo l'infezione, si è visto che il *challenge* ha avuto un impatto negativo sulla crescita del gruppo POS rispetto al controllo negativo NEG, come evidenziato da un ridotto accrescimento ponderale e un aumentato indice di conversione alimentare ( $P < 0.0001$ ). Contemporaneamente, il gruppo trattato ha mostrato performance migliori, nonostante il challenge, con valori di accrescimento ponderale e di indice di conversione intermedi tra il gruppo NEG e il gruppo POS e significativamente migliori rispetto al controllo POS ( $P < 0.0001$ ). Dall'infezione con coccidi alla fine dello studio (giorni 21-42) e nel complesso (giorni 0-42), l'indice di conversione del gruppo trattato è risultato comparabile a quello del controllo negativo non infettato, entrambi significativamente più bassi rispetto ai valori del gruppo POS ( $P < 0.0001$ ).

**Tabella 1** - Performance di crescita

	Controllo negativo (NEG)	Controllo positivo (POS)	Trattato (TRT)	P
Fase: giorno 0-21				
Ingestione di alimento (kg/box)	48.74a	51.75b	50.05ab	0.001
Incremento ponderale (kg/capo)	0.667	0.718	0.688	0.21
Indice di conversione alimentare*	1.376	1.368	1.378	0.80
Fase: giorno 21-28				
Ingestione di alimento (kg/box)	33.32	32.81	32.17	0.18
Incremento ponderale (kg/capo)	0.425a	0.278b	0.347c	<0.0001
Indice di conversione alimentare*	1.594a	2.445b	1.884c	0.0001
Fase: giorno 21-42				
Ingestione di alimento (kg/box)	116.40	124.32	124.88	0.06
Incremento ponderale (kg/capo)	1.424	1.407	1.497	0.12
Indice di conversione alimentare*	1.843a	2.015b	1.849a	<0.0001
Totale: giorno 0-42				
Ingestione di alimento (kg/box)	165.15a	176.06b	174.93b	0.01
Incremento ponderale (kg/capo)	2.091	2.125	2.185	0.15
Indice di conversione alimentare*	1.677a	1.770b	1.684a	<0.0001

\* aggiustato sulla base della mortalità

### *Lesioni intestinali ed eliminazione fecale di Eimeria*

In Tabella 2 sono presentati i risultati delle lesioni intestinali e dell'eliminazione fecale di *Eimeria*. Rispetto al gruppo POS, il gruppo trattato ha mostrato ridotte lesioni intestinali causate da *E. acervulina*, *E. maxima* ed *E. tenella* ( $P < 0.05$ ) ed una riduzione numerica nell'eliminazione di *Eimeria* nelle feci.

**Tabella 2** – Lesioni intestinali ed eliminazione fecale di *Eimeria*

	Controllo positivo (POS)	Trattato (TRT)	<i>P</i>
Lesioni			
<i>E. acervulina</i>	2.64	1.88*	0.001
<i>E. maxima</i>	1.72	1.06*	0.002
<i>E. tenella</i>	2.38	1.38	0.003
Oocisti per grammo (OPG) di feci			
<i>E. acervulina</i>	23202	17655	0.19
<i>E. maxima</i>	3095	777	0.09
<i>E. tenella</i>	15249	10994	0.62
<i>Eimeria</i> totale	41547	29426	0.17

### **DISCUSSIONE**

Questo studio si prefiggeva l'obiettivo di valutare l'attività anticoccidica di una miscela microincapsulata di molecole vegetali *in vivo* in polli da carne infettati artificialmente con coccidi di *Eimeria*. Come modello di coccidiosi è stato utilizzato un protocollo di infezione con *E. acervulina*, *E. maxima* ed *E. tenella* per riprodurre una condizione di infezione multi-specie molto comune nella realtà di campo. Questa infezione multi-specie ha effettivamente avuto un impatto negativo sulle performance di crescita degli animali, rispetto agli animali di controllo. In questo modello, la supplementazione alimentare con una miscela microincapsulata di molecole vegetali ha permesso di evitare la perdita di performance causata dall'infezione, mostrando parametri di crescita paragonabili al gruppo non infettato. Questo risultato macroscopico è spiegato dall'azione benefica del trattamento a livello intestinale, come indicato dalle ridotte lesioni intestinali causate da *E. acervulina*, *E. maxima* ed *E. tenella*, ossia lungo tutto il tratto intestinale (prossimale, medio e distale). Tale evidenza è coerente con l'attività anticoccidica dimostrata *in vitro* per varie molecole vegetali e suggerisce che la microincapsulazione possa essere uno strumento valido per indirizzare l'azione anticoccidica lungo tutto il tratto intestinale dove le varie specie di *Eimeria* sono localizzate e necessitano di essere controllate.

## CONCLUSIONI

Questo studio ha dimostrato che l'infezione artificiale con *Eimeria* multi-specie utilizzata in questa prova può provocare una riduzione delle performance di crescita di polli da carne, tipica della coccidiosi di campo. In questo modello di coccidiosi, l'integrazione alimentare con una miscela microincapsulata di molecole vegetali può prevenire la perdita di crescita, riducendo le lesioni intestinali causate da *Eimeria*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Blake DP, Knox J, Dehaeck B, Huntington B, Rathinam T, Ravipati V, Ayoade S, Gilbert W, Adebambo AO, Jatau ID, Raman M, Parker D, Rushton and FM Tomley. (2020). Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. *Vet. Res.* 51: 1-14.
2. Quiroz-Castaneda RE and E Dantan-Gonzalez. (2015). Control of Avian Coccidiosis: Future and Present Natural Alternatives. *BioMed Research International* Volume 2015, Article ID 430610, 11 pages.
3. Timbermont L, Haesebrouck F, Ducatelle R and F Van Immerseel (2011). Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. *Avian Pathol.* 40(4): 341-347.
4. Györke A, Pop L and V Cozma. (2013). Prevalence and distribution of *Eimeria* species in broiler chicken farms of different capacities. *Parasite* 20: 50.
5. Felici M, Tugnoli B, Piva A and E Grilli. (2021). In Vitro Assessment of Anticoccidials: Methods and Molecules. *Animals* 11: 1962-1981.
6. Johnson J and M Reid. (1970). Anticoccidial drugs: Lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp Parasitol* 28(1): 30-36.