Foto di Công Anh Dào

Litsea cubeba

Oli Essenziali e attività antimicrobica: esperienze in campo veterinario

La maggior parte della letteratura scientifica sull'attività antimicrobica degli oli essenziali verso batteri e funghi che colpiscono gli animali riporta i risultati di studi in vitro. Tuttavia, queste sostanze naturali sembrano rappresentare promettenti prodotti da utilizzare nella medicina veterinaria, sia degli animali d'affezione, che di quelli zootecnici.

*** Valentina V. Ebani**
*** Francesca Mancianti**

Il largo uso di antibiotici in medicina umana e veterinaria ha portato nel corso degli anni ad un aumento della circolazione di batteri antibiotico-resistenti. In particolare, in veterinaria gli antibiotici sono stati utilizzati per molto tempo non solo a scopo terapeutico, ma anche a scopo auxinico, ossia per migliorare quantità e qualità delle produzioni. Analogamente l'uso di farmaci antimicotici ha indotto la selezioni di funghi resistenti a tali prodotti.

Da anni, gli oli essenziali sono impiegati per la loro attività antimicrobica, soprattutto nella medicina popolare. Tuttavia, gli studi scientifici che dimostrino tale proprietà sono piuttosto recenti e nella maggior parte dei casi riguardano patogeni che colpiscono l'uomo.

L'impiego degli oli essenziali nella medicina veterinaria, sia degli animali d'affezione che di quelli zootecnici, è invece di estremo interesse, poiché potrebbero rappresentare un'alternativa ad antibiotici e antimicotici. Potrebbero infatti essere utilizzati per combattere infezioni dovute a patogeni resistenti ai farmaci convenzionali, per garantire l'igiene degli ambienti, per migliorare la qualità delle produzioni (carni, uova, latte, miele, pesce), per evitare i residui dei farmaci convenzionali negli alimenti di origine animale e nell'ambiente.

1. Oli essenziali in micologia veterinaria

Gli oli essenziali trovano impiego in micologia veterinaria, dato che pochi farmaci antimicotici convenzionali sono registrati per gli animali d'affezione e nessuno per le specie da reddito. Questi farmaci, infatti, non possono essere somministrati ad animali in produzione, perché non sono disponibili dati inerenti alla durata dei periodi di sospensione (Ebani e Mancianti, 2020).

Prima dell'applicazione clinica dell'olio essenziale (chimicamente caratterizzato) è necessario effettuare un saggio *in vitro*, che si basa su test di microdiluizione e consente di stabilire una dose minima inibente (MIC), nei confronti di una determinata specie fungina.

Sono disponibili in letteratura numerosi studi che riferiscono i risultati dell'attività antifungina di diversi oli essenziali su isolati clinici animali, mentre gli studi *in vivo* sono piuttosto scarsi.

L'approccio terapeutico ad una micosi inoltre può variare sulla base delle relazioni ospite parassita che si instaurano negli animali affetti da micosi.

1.1 Oli essenziali nel trattamento delle dermatofitosi

I dermatofiti sono funghi filamentosi cheratinofili e cheratinolitici, agenti eziologici delle tigne, molte delle quali zoonotiche. Il trattamento delle tigne si basa sull'uso antimicotici somministrati per via orale (prevalentemente azoli), in combinazione con applicazioni locali di lozioni, shampoo o, più raramente formulazioni in crema. I trattamenti topici hanno fondamentalmente lo scopo di limitare la diffusione degli elementi fungini presenti nei peli e nelle squame cutanee, che possono rappresentare fonte d'infezione ambientali per uomo ed animali conviventi. Gli oli essenziali possono quindi sostituire il trattamento topico convenzionale.

Gli agenti eziologici più frequentemente responsabili di dermatofitosi animali appartengono ai generi *Microsporum* e *Trichophyton. Microsporum canis, M. gypseum, Trichophyton mentagrophytes, T. erinacei* e *T.equinum* sono le specie fungine per le quali in letteratura sono riportati valori di MIC.

Gli oli essenziali più efficaci nei

Foto di Matt

Le micosi degli apiari contribuiscono alla riduzione delle api a livello globale

confronti di questi agenti sono quelli estratti da *Thymus vulgaris, Thymus serpillum, Origanum vulgare* e *Litsea cubeba,* in minor misura da *Satureja montana, Thymus numidicus, Cymbopogon nardus, Coriandrum sativum, Melaleuca alternifolia, Japanese cypress, Chenopodium ambrosoides, Clinopodium nepeta var glandulosum* ed *Helichrysum pandurifolium.*

I risultati ottenuti *in vitro* per diversi agenti eziologici, impiegando sempre lo stesso olio essenziale, proveniente dallo stesso lotto e con identica composizione chimica, hanno mostrato MIC omogenee nell'ambito dello stesso dermatofita, mostrando una ridotta variabilità di sensibilità interspecifica. Si sono invece osservate differenze interspecifiche e tra un genere e l'altro. Difatti, a parità di composizione degli oli essenziali saggiati, i dermatofiti del genere *Microsporum* presentano MIC ridotte rispetto ai *Trichophyton*. In particolare *M. canis* è risultato la specie più sensibile agli oli di *T. vulgaris, O. vulgare* e *L. cubeba* (MIC 0.025% v/v), *M.gypseum* a *O. vulgare* (MIC 0.025% v/v), mentre *T. mentagrophytes, T. erinacei* e *T. terrestre* hanno dimostrato la massima suscettibilità nei confronti di *T. vulgaris,* ma con una MIC dello 0.1%. Esaminando differenti componenti degli oli efficaci però, si è riscontrato che i *Microsporum* sono particolarmente sensibili a timolo, nerale e geraniale (presenti negli oli di *T. vulgaris, L. cubeba* e *Pelargonium graveolens*), mentre i *Trichophyton* sono più facilmenti inibiti dal carvacrolo, contenuto in grande quantità nell'olio di *O. vulgare.* Il fatto che questi dermatofiti presentino diverse sensibilità rispetto a quelle attese si può spiegare tenendo conto dell'effetto del fitocomplesso, cioè delle sinergie ed antagonismi che intercorrono tra i diversi componenti di uno stesso olio. Per tale motivo il saggio *in vitro* fornisce indicazioni più precise sull'efficacia di un olio, rispetto ad una semplice stima dei componenti (Nardoni et al., 2015a).

Per quanto riguarda le prove *in vivo* sono stati ottenuti promettenti risultati nel trattamento della tigna del cavallo, da *T. equinum* utilizzando olio di *M. alternifolia* al 25% diluito in olio di mandorle dolci, due volte al giorno, per due settimane (Pisseri et al., 2009).

Nelle tigne da *T. mentagrophytes* della pecora una miscela di *T. serpillum 2%, O. vulgare 5%, Rosmarinus officinalis 5%* bid per due settimane ha portato alla guarigione clinica ed eziologica (Mugnaini et al., 2013).

Infine, nella tigna microsporica (da *M. canis*) del gatto, la stessa miscela somministrata per quattro settimane ha dato risultati incoraggianti (Mugnaini et al., 2012) e, quando somministrata sotto forma di shampoo in terapia combinata con itraconazolo, ha portato alla guarigione clinica ed eziologica tutti gli animali trattati, parte dei quali erano stati arruolati perché casi recidivanti a numerosi trattamenti (Nardoni et al., 2017).

1.2 Applicazione degli oli essenziali in apicoltura

Le micosi degli apiari contribuiscono alla riduzione delle api a livello globale ed attualmente non sono disponibili farmaci efficaci per il trattamento di queste patologie, dato che la fumagillina, un antibiotico attivo contro gli agenti responsabili, non è più consentito per il problema dei residui che permangono nei prodotti dell'apiario. Quindi sono stati eseguiti saggi in vitro ed *in vivo* con diversi oli essenziali.

Malattie delle covate di *Apis mellifera*

Ascosphaera apis è un micete che colonizza gli stadi prepupali delle api, portandole a morte. Le larve vengono avvolte dal micelio di ascosphaera che le trasforma in "mummie" dalla consistenza gessosa (si parla di malattia della covata calcifica) e di colore variabile dal bianco al nero a seconda che si tratti di sole ife peridiali o che siano presenti gli aschi. Buoni risultati sono stati ottenuti impiegando oli essenziali di timo, dato che il timolo ha un'azione inibente molto spiccata, però questi composti sono piuttosto tossici e devono essere usati con cautela. Inoltre, il timolo è dimostrato influenzare negativamente il comportamento dei componenti della colonia, che possono presentare problemi di orientamento. Per tale motivo sono stati sperimentati *in vitro* diversi oli estratti da specie botaniche non appartenenti alla famiglia delle Lamiaceae, con la messa a punto di due miscele, che hanno dato risultati promettenti. La prima costituita da oli di *L. cubeba, Cinnamomum zeylanicum* e *Cymbopogon flexuosus* 0.02% ciascuno e l'altra da *L. cubeba*, *C. zeylanicum*, *P. graveolens* e *C. flexuosus* 0.015% ciascuno, mostrando come, utilizzando composti sinergici, sia possibile ridurre fortemente le concentrazioni e di conseguenza gli eventuali effetti tossici (Nardoni et al., 2018a).

Nosemiasi

Nosema apis e *Nosema ceranae* sono microsporidi responsabili rispettivamente di gravi diarree delle api e della sindrome da spopolamento degli alveari. Un saggio in vivo con olio di *Cryptocaria alba* ha consentito di fissare la MIC a 4 mg/ape, mentre i principali componenti (α terpineolo, eucaliptolo e β fellandrene) da soli, presentavano una MIC pari a 20 mg/ape, sottolineando l'azione sinergica dei componenti (Bravo et al., 2017).

1.3 Malasseziosi del cane

I lieviti del genere *Malassezia* sono organismi lipofili, commensali della cute e delle mucose dei

mammiferi. In presenza di condizioni che favoriscono la seborrea (atopia, alterata cheratinizzazione) possono virulentarsi e complicare il quadro dermatologico, scatenando dermatiti ed otiti esterne che hanno la tendenza a cronicizzare e recidivare. In medicina veterinaria il principale agente eziologico è *Malassezia pachydermatis*.
Gli oli essenziali di *M. alternifolia, Zataria multiflora, Thymus* spp., *S. montana, O. vulgare, Cymbopogon* spp., *Citrus limon, Mentha piperita, Cinnamomum* spp., *Aloysia triphylla* e *Chaemacyparis obtusa* sono risultati in grado di inibire *in vitro* la crescita dei lieviti, pur mostrando una certa variabilità nella sensibilità degli isolati. Tuttavia, i saggi *in vivo* che hanno dato risultati più soddisfacenti si sono rivelati quelli per i quali sono state impiegate miscele di oli moderatamente attivi verso il lievito, ma in grado di correggere alcuni fattori predisponenti dell'ospite e lo stato infiammatorio indotto dalla reazione al metabolismo del lievito. Quindi una miscela dermatologica costituita da *Citrus aurantium* 1%, *Lavandula officinalis* 1%, *O. vulgare* 0,5%, *Origanum majorana* 5%, *M. piperita* 0,5%, *Helichrysum italicum* 0.5% in olio di mandorle dolci somministrata due volte al giorno, per 4 settimane ha risolto il quadro clinico di animali affetti da dermatiti recidivanti, a distanza di senza ricadute a distanza di sei mesi, a differenza degli animali di controllo. Analogamente 3 miscele otologiche composte da 1. *C. limon* 1% *R. officinalis* 1%, *Salvia sclarea* 0,5%, *Anthemis nobilis* 0.5% (miscela 1), *Citrus paradisi* 0.5%, *S. sclarea* 0,5%, *Ocimum basilicum* 0,5%, *R. officinalis* 1% (miscela 2) o *S. sclarea* 1%, *Lavandula hybrida* 1%, *R. officinalis* 1% per due settimane hanno dato una guarigione clinica nella maggior parte degli animali trattati e non sono mai stati registrati effetti avversi. In tutte le prove *in vivo* di trattamento per malassezia non si è comunque osservata una riduzione nella carica di lieviti, che è rimasta sempre piuttosto elevata, suggerendo che il miglioramento delle condizioni cliniche fosse legato ad un'azione degli oli sui fattori predisponenti, più che sui lieviti responsabili. Al contrario, utilizzando oli essenziali risultati molto efficaci *in vitro* (come timo, origano e menta) si sono spesso osservati effetti indesiderati, che consistevano in reazioni infiammatorie locali (Ebani e Mancianti, 2020).

1.4 Candidosi

Candida albicans è un lievito endosaprofita che vive come commensale delle mucose digerenti e genitali dei vertebrati omeotermi. Anche questo lievito può virulentarsi e comportarsi da opportunista, con quadri di infiammazioni mucosali (stomatiti e vaginiti) e, nel paziente neutropenico, fungemie o forme generalizzate. L'applicazione di oli essenziali è stata particolarmente studiata *in vitro* ed *in vivo*, su modelli animali (di solito roditori di laboratorio) per il trattamento di affezioni delle mucose in pazienti umani. Dato che questi lieviti presentano frequentemente pattern di resistenza a numerosi farmaci antifungini convenzionali, il trattamento di forme superficiali con oli essenziali è guardato con favore, anche per ridurre la pressione farmacologica che può indurre l'ulteriore selezione di mutanti resistenti. Gli oli essenziali di *Chamaecyparissus, Mentha suaveolens*, *Geranium*, *Citrus* sp, *Anethum graveolens*, *C. nepeta*, *T. numidicus*, *Origanum floribundum*, *Thymus ciliatus*, *O. vulgare*, *S. sclarea*, *R. officinalis*, *L. cubeba* e *T. vulgaris* sono stati provati con successo *in vivo* ed *in vitro* (Ebani e Mancianti, 2020). Tuttavia, in una prova di sensibilità a numerosi oli essenziali di isolati di *C. albicans* coltivati da urine di carnivori affetti da cistite, è stato possibile osservare pattern di farmacosensibilità estremamente variabili, peraltro senza alcuna correlazione con lo stato di resistenza ai farmaci convenzionali. Ad esempio, si sono osservate MIC che variavano dallo 0.25% al 2.5% per il basilico, dallo 0.1% ad oltre il 10% per l'anice, dallo 0.01% al 2% per origano, indicando come, per i lieviti, si osservi un'enorme variabilità intraspecifica, che suggerisce di eseguire sempre un saggio *in vitro* preliminare, prima di intraprendere una terapia (Ebani et al., 2018).

1.5 Saprolegniosi

Gli organismi appartenenti al genere Saprolegnia sono Oomiceti, inquadrati tassonomicamente tra i protisti e non tra

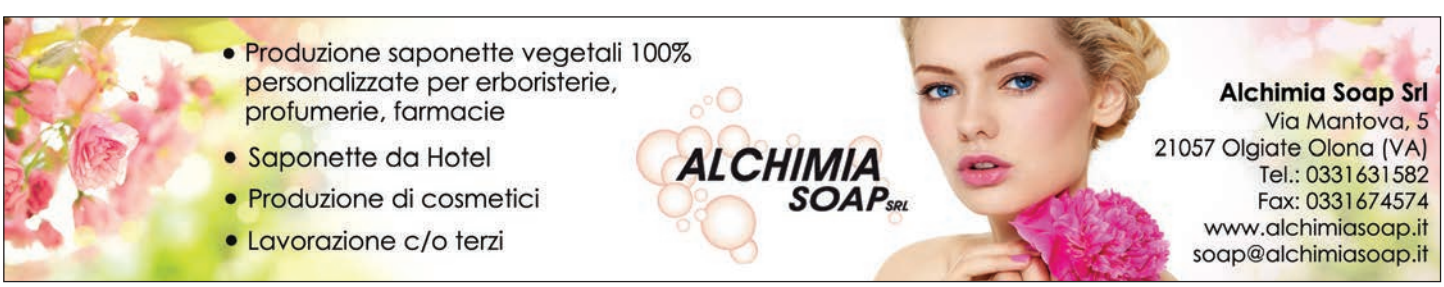

Foto di Mike Beales

Geranium. Gli OE di geranio sono stati provati con successo nei casi di candidosi negli animali

i funghi Questi organismi, tuttavia, presentano caratteri biologici e patogenetici identici a quelli dei miceti e per questo le malattie da oomiceti sono incluse nel campo della micologia. In particolare, *Saprolegnia parasitica* è responsabile di micosi ittiche che hanno forte impatto soprattutto nell'allevamento dei salmonidi dei quali colonizzano pelle, branchie e uova. I trattamenti fino ad oggi impiegati (verde malachite e formalina) sono attualmente vietati. Numerosi oli essenziali quali *T. vulgaris, O. vulgare, Carum copticum, O. majorana, C. flexuosus, Citrus bergamia, Z. multiflora, Eucalyptus camaldulensis* e *Laureliopsis philipianna* hanno dato risultati promettenti (Ebani e Mancianti, 2020).

1.6 Mastiti da *Prototheca*

Prototheca spp sono alghe prive di clorofilla, affini a *Chlorella,* responsabili di numerosi quadri patologici, generalmente rari, nell'uomo e negli animali, ad eccezione delle mastiti croniche, frequenti nell'allevamento delle vacche da latte, nelle quali provocano la perdita del quarto. Questi organismi sono risultati resistenti alla maggior parte dei farmaci antimicotici, mentre hanno presentato una certa sensibilità nei confronti degli oli di *T. vulgaris*, *L. cubeba*, *C. zeylanicum, S. aromaticum*, *M. piperita*, *Satureja hortensis* e, soprattutto, di *C. bergamia* (Tortorano et al., 2008; Nardoni et al., 2018b).

Nel trattamento delle micosi è quindi importante valutare la relativa omogeneità di suscettibilità mostrata dai funghi filamentosi, la enorme variabilità intraspecifica mostrata dai lieviti e la sensibilità agli agrumi degli oomiceti e delle alghe, che non si riscontra nei funghi. Quest'ultimo dato potrebbe essere legato alla differenza nella composizione della parete cellulare tra questi gruppi tassonomici.

Foto di Unconventional Emma

Chenopodium ambrosoides. L'OE ricavato dalla pianta è valido nel trattamento delle dermatofitosi

I batteri Gram positivi sono responsabili di diverse tipologie di infezioni nel gatto

Foto di summer park

Foto di Eli Christman

Anche la malasseziosi del cane trova validi rimedi negli Oli Essenziali

1.7. Disinfezione ambientale

Un altro importante impiego degli oli essenziali è nella disinfezione ambientale.
Sono state messe a punto miscele destinate a diversi ambienti. Per quanto riguarda le dermatofitosi zoonotiche, in particolare la tigna microsporica del gatto, è stata messa a punto una miscela di oli di *L. cubeba* 1%, *Foeniculum vulgare* 0,5%, *P. graveolens* 0,5% e *Illicium verum* 0,5% in etanolo 95% che nebulizzata una volta al di (200Ql) su peli infetti contenenti artrospore ha provocato mancato sviluppo fungino dopo 4 applicazioni (Nardoni et al., 2015b).
Inoltre, per limitare la presenza di lieviti (*Candida* spp.) presenti nelle feci dei polli si è rivelata molto efficace una miscela *T. vulgaris* e *O. vulgare* 0.5% ciascuno (Ebani et al., 2016), analogamente una miscela (1/1) di *C. zeylanicum* and *S. aromaticum* che ha presentato un forte effetto inibente nei confronti di *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus durans*, *E. faecalis*, ed *E. faecium*, ma non del probiotico *Saccharomyces cerevisiae*, non mostrando quindi nessun effetto negativo nei confronti di nutraceutici che possono essere somministrati ai polli in allevamento intensivo, per mantenere in equilibrio la flora intestinale (Ebani et al., 2019).

2. Oli essenziali contro le infezioni batteriche

La maggior parte degli studi che riguardano l'attività antibatterica degli oli essenziali si riferisce alla microbiologia alimentare. Decisamente più ridotto il numero delle indagini che riguardano le infezioni degli animali e, in ogni caso, generalmente si tratta di studi condotti per verificare *in vitro* l'attività antibatterica degli oli essenziali.

2.1 *Escherichia coli*

Tra le infezioni che in medicina veterinaria rivestono maggiore importanza, anche per la frequenza con cui avvengono nelle varie specie animali, ci sono quella sostenute da *Escherichia coli*, un batterio Gram negativo, appartenente alla famiglia Enterobacteriaceae, in grado di colpire anche l'uomo.
Uno studio condotto su isolati clinici di *E.coli* ottenuti da cani con infezioni delle vie urinarie e risultati multi-resistenti agli antibiotici, generalmente impiegati nel trattamento di tali patologie, ha rilevato una buona attività antimicrobica degli oli essenziali di *O. vulgare* e *T. vulgaris* con valori di MIC compresi tra 0.07% (v/v) e 0.15% (v/v). Anche se con valori di MIC leggermente maggiori, è stata rilevata attività anti-*E.coli* anche con gli oli di *I. verum, O. basilicum* e *S. sclarea*. Gli stessi oli testati con ceppi di *Enterococcus* spp. isolati, anche in questo caso, da cani con infezioni delle vie urinarie, hanno mostrato un comportamento molto diverso: mentre *O. vulgare* e *T. vulgaris* avevano attività antibatterica più o meno sovrapponibile a quella osservata contro *E. coli*, gli altri tre oli non sono risultati attivi con nessuno di questi ceppi (Ebani et al., 2018). Un diverso comportamento probabilmente correlato alla diversa natura dei due generi batterici; gli enterococchi sono infatti batteri Gram positivi e per tanto con struttura della parete batterica diversa da quella di *E. coli.* Considerando i risultati ottenuti sia nei confronti degli enterococchi che di *E. coli*, gli oli essenziali di origano e timo sembrano i più adatti per

la formulazione di miscele da impiegare in lavaggi esterni e/o intravescicali di animali con infezioni ricorrenti delle vie urinarie. *E. coli* è un patogeno particolarmente importante anche per la salute degli avicoli. Spesso, infatti, soprattutto quando le condizioni igieniche degli allevamenti non sono ottimali, gli animali vanno incontro a casi di Colibacillosi che si manifestano con forme cliniche diverse e di diversa gravità che vanno dalla ridotta produzione di uova, alla morte embrionale e dei pulcini, a scarti al momento della macellazione.

È stato condotto uno studio allo scopo di verificare l'attività *in vitro* di alcuni oli essenziali nei confronti di *E. coli* isolati da casi di colibacillosi aviare. Buona attività è stata osservata con gli oli di *C. zeylanicum* (1.25% v/v), *Cymbopogon citratus* (0.62% v/v), *L. cubeba* (0.62% v/v), *M. piperita* (0.62% v/v), *Syzygium aromaticum* (0.62% v/v). Più ridotta l'attività di *O. basilicum* (5% v/v) e *P. graveolens* (10% v/v). Nessuna attività è stata invece osservata con *A. tryphilla, Boswellia sacra*, *C. aurantium*, *C. bergamia, C. limon, Citrus reticulata, Eucalyptus globulus*, *L. hybrida, M. alternifolia* (Ebani et al., 2018). Una miscela a base di *L.cubeba, C. citratus* e *A. triphylla* ha dato buoni risultati (MIC 0.62% v/v) nei confronti sia di *E. coli* che di *Aspergillus fumigatus*, un fungo responsabile spesso di gravi micosi del pollame, la cui diffusione è strettamente correlata al grado di igiene ambientale (Ebani et al., 2018b). Tale formulazione potrebbe quindi essere proposta per la pulizia e la disinfezione di ambienti, in particolare gli incubatoi dove più frequentemente si diffondono i microorganismi.

2.2 *Salmonella* spp.

Altri patogeni importanti in medicina veterinaria sono quelli del genere *Salmonella,* famiglia Enterobacteriaceae, comprendente le due specie *S. enterica* e *S. bongori.* Le salmonelle possono causare infezioni non solo nell'uomo, ma anche in numerose specie animali, in cui determinano malattie di diversa gravità e, nel caso di animali zootecnici, perdite economiche anche ingenti. Un tipico esempio è dato dalla salmonellosi negli allevamenti avicoli. Mentre alcuni sierotipi di questa specie batterica, in particolare Pullorum e Gallinarum, sono specifici degli avicoli, la maggior parte dei sierotipi di salmonella sono in grado di infettare altre specie animali e l'uomo. *S.* Typhimurium e *S.* Enteritidis sono tra i sierotipi più frequentemente riscontrati nel pollame e responsabili di forme enteriche gravi nelle persone. Mentre non è pensabile proporre terapie contro le salmonellosi con oli essenziali in sostituzione agli antibiotici, in considerazione della gravità di queste infezioni, gli oli potrebbero essere impiegati per la disinfezione dei diversi ambienti degli allevamenti, tra cui gli incubatoi che rappresentano luoghi ad alto rischio epidemiologico.

Gli oli essenziali di *A. triphylla, Cymbopogon citratus, L. cubeba* e *M. piperita* hanno mostrato una certa attività antibatterica in vitro con ceppi di *S.* Typhimurium e *S.* Enteritidis isolati da polli con infezione in corso. Attività decisamente superiore nei confronti degli stessi isolati è stata mostrata dagli EO di *C. zeylanicum* (MIC 0.3%-0.6%) e *S. aromaticum* (MIC 1.25%-0.07%) (Ebani et al., 2019).

Alcuni studi hanno messo in evidenza che l'aggiunta di oli essenziali nell'alimentazione del pollame può migliorare la qualità delle carni e delle uova (Krishan et al., 2014), oltre a potenziare il sistema immunitario (Connerton et al., 2018).

2.3 *Staphylococcus* spp.

Il genere *Staphylococcus* comprende batteri Gram positivi, ben noti in medicina veterinaria in quanto responsabili di diverse tipologie di infezioni. Nel cane e nel gatto spesso sono associati a infezioni cutanee e otiti.
Gli oli essenziali di *T. vulgaris, O. vulgare* e *S. montana* sono risultati attivi *in vitro* contro ceppi clinici isolati da cani e gatti con tali patologie (Ebani et al., 2017). Al contrario oli essenziali di *Leptospermum scoparium, C. zeylanicum, Commiphora myrrha, Melissa officinalis* ed *Helichrysum* spp. hanno mostrato scarso potere antimicrobico nei confronti degli stessi isolati (Ebani et al 2020; Najar et al., 2020a; Najar et al., 2020b). Una buona attività è stata osservata con *S. sclarea* verso *S. pseudointermedius* di origine canina (MIC 1.25%) (Ebani et al., 2017).
Gli stafilococchi sono spesso coinvolti in casi di mastiti bovine. Miscele a base di *T. vulgaris* e *L. angustifolia* sono state proposte e provate per l'igiene della mammella. Tali miscele, impiegate nel lavaggio dei quarti delle mammelle, prima della vera e propria mungitura, sono risultate efficaci nel ridurre la carica microbica presente sulle mammelle. Gli stessi oli si sono dimostrati utili anche nel combattere mastiti da *Staphylococcus* spp. e/o *Streptococcus* spp. mediante somministrazione intramammaria (Abboud et al., 2015).

2.4 *Streptococcus* spp.
I dati presenti in letteratura inerenti l'attività anti-streptococcica degli oli essenziali si riferiscono essenzialmente alla medicina umana.
Per quanto concerne il mondo animale, interessanti sono gli studi sul possibile utilizzo di questi prodotti naturali in acquacoltura. L'olio di *Cinnamomum verum* si è dimostrato attivo, *in vitro* e *in vivo*, verso *Streptococcus iniae,* patogeno dei pesci di acqua dolce in cui determina gravi patologie fino alla morte. Pesci (*Oreochromis niloticus*) infettati sperimentalmente con questo batterio hanno superato l'infezione grazie a una dieta addizionata con lo 0.4% di olio essenziale di *C. verum* e lo 0.1% di ossitetraciclina (Rattanachaikunsopon e Phumkhachom, 2010). Inoltre, la somministrazione di olio di *S. aromaticum* sembra potenziare la risposta immunitaria dei pesci colpiti (Abdelkhalek et al., 2020).

Conclusioni

La maggior parte della letteratura scientifica sull'attività antimicrobica degli oli essenziali verso batteri e funghi che colpiscono gli animali riporta i risultati di studi *in vitro*. Tuttavia, queste sostanze naturali sembrano rappresentare promettenti prodotti da utilizzare nella medicina veterinaria, sia degli animali d'affezione, che di quelli zootecnici.
Potrebbero infatti essere impiegati per eventuali terapie in sostituzione di farmaci convenzionali inefficaci per problemi di resistenza, o in associazione con essi per ridurne la dose di utilizzo.
I vari studi hanno tuttavia dimostrato che esiste una grande variabilità dell'attività antimicrobica degli oli essenziali, non solo in relazione all'olio scelto e alla specie batterica/micotica, ma anche a seconda del ceppo responsabile dell'infezione. Per questo motivo, qualora si volesse scegliere un olio a fini terapeutici, è fortemente consigliabile saggiarlo prima *in vitro,* verso il patogeno da trattare, mediante aromatogramma e determinazione della MIC, analogamente a quanto viene fatto quando si sceglie un farmaco convenzionale per le terapie antibatteriche e antifungine.
Promettente è sicuramente l'impiego degli oli essenziali per l'igiene degli ambienti, domestici e di allevamento, quando utilizzati in formulazioni da applicare su superfici o per nebulizzazioni.

**** UNIVERSITÀ DI PISA, Dipartimento di Scienze Veterinarie***

Bibliografia

Abdelkhalek N.K., Risha E., El-Adl M.A. *et al.* Antibacterial and antioxidant activity of clove oil against *Streptococcus iniae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its effect on hepatic hepcidin expression. *Fish Shellfish Immunol* 2020, *104*, 478-488.
Bravo J., Carbonell V., Sepúlveda B. *et al.* Antifungal activity of the essential oil obtained from *Cryptocarya alba* against infection in honeybees by *Nosema ceranae*. *J Invertebr Pathol* 2017, *149*, 141–147.
Connerton P.L., Richards P.J., Lafontaine G.M. *et al.* The effect of the timing of exposure to *Campylobacterjejuni* on the gut microbiome and inflammatory responses of broiler chickens. *Microbiome* 2018, *6*, 88. doi: 10.1186/s40168-018-0477-5.
Ebani V.V., Bertelloni F., Najar B. *et al.* Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Staphylococcus* and *Malassezia* Strains Isolated from Canine Dermatitis. *Microorganisms* 2020, *8*, 252.
Ebani V.V., Mancianti F. Use of Essential Oils in Veterinary Medicine to Combat Bacterial and Fungal Infections. *Vet Sci*. 2020**,** *7*(4), 193. doi: 10.3390/vetsci7040193.
Ebani V.V., Najar B., Bertelloni F. *et al.* Chemical Composition and In Vitro Antimicrobial Efficacy of Sixteen Essential Oils against *Escherichia coli* and *Aspergillus fumigatus* Isolated from Poultry. *Vet. Sci* 2018b, *5*, 62.
Ebani V.V., Nardoni S., Bertelloni F. *et al.* Antibacterial and antifungal activity of essential oils against pathogenic bacteria and yeasts shed from poultry. *Flavour Fragr J.* 2016, *31*, 302–309. doi: 10.1002/ffj.3318.
Ebani V.V., Nardoni S., Bertelloni F. *et al.* Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oils against Pathogens Responsible for Otitis Externa in Dogs and Cats. *Medicines* 2017, *4*, 21.
Ebani V.V., Nardoni S., Bertelloni F. *et al*. Antimicrobial Activity of Five Essential Oils against Bacteria and Fungi Responsible for Urinary Tract Infections. *Molecules* 2018**,** 23(7), 1668. doi: 10.3390/molecules23071668.
Ebani V.V., Nardoni S., Bertelloni F. *et al.*

In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oils Against *Salmonella enterica* Serotypes Enteritidis and Typhimurium Strains Isolated from Poultry. *Molecules* 2019, *24*(5), 900. doi: 10.3390/molecules24050900.

Krishan G., Narang A. Use of essential oils in poultry nutrition: A new approach. *J Adv Vet Anim Res* **2014**, *1*, 156-162.

Mugnaini L., Nardoni S., Pistelli L. *et al.* A herbal antifungal formulation of *Thymus serpillum, Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* for treating ovine dermatophytosis due to *Trichophyton mentagrophytes*. *Mycoses* 2013, *56*(3), 333-7. doi: 10.1111/myc.12034.

Mugnaini L., Nardoni S., Pinto L. *et al.* In vitro and in vivo antifungal activity of some essential oils against feline isolates of *Microsporum canis. J Mycol Med* 2012, *22*(2), 179-84. doi: 10.1016/j.mycmed.2012.04.003.

Najar B., Nardi V., Cervelli C. *et al. Helichrysum araxinum* Takht. ex Kirp. grown in Italy: volatiloma composition and in vitro antimicrobial activity. *Z Naturfosch C J Biosci* 2020b**,** 75, 265-270.

Najar B., Nardi V., Cervelli C. *et al.* Volatilome analyses and in vitro antimicrobial activity of the essential oils from five South Africa *Helichrysum* species. *Molecules* 2020a**,** *25,* 3196. doi: 10.3390/molecules25143196.

Nardoni S., Giovanelli S., Pistelli L. *et al.* In Vitro Activity of Twenty Commercially Available, Plant-Derived Essential Oils against Selected Dermatophyte Species. *Nat Prod Commun* 2015a, *10*(8), 1473-1478.

Nardoni S., Costanzo A.G., Mugnaini L. *et al.* Open-field study comparing an essential oil-based shampoo with miconazole/chlorhexidine for haircoat disinfection in cats with spontaneous microsporiasis. *J Feline Med Surg* 2017, *19*(6), 697-701. doi: 10.1177/1098612X15625709.

Nardoni S., D'Ascenzi C., Rocchigiani G. *et al.* Stonebrood and chalkbrood in *Apis mellifera* causing fungi: in vitro sensitivity to some essential oils. *Nat Prod Res* 2018a, *32*(4), 385-390. doi: 10.1080/14786419.2017.1306703.

Nardoni S., Pisseri F., Pistelli L. *et al.* In Vitro Activity of 30 Essential Oils against Bovine Clinical Isolates of *Prototheca zopfii* and *Prototheca blaschkeae*. *Vet Sci* 2018, *5*(2), 45. doi: 10.3390/vetsci5020045.

Nardoni S., Tortorano A., Mugnaini L. *et al.* Susceptibility of *Microsporum canis* arthrospores to a mixture of chemically defined essential oils: a perspective for environmental decontamination. *Z Naturforsch C J Biosci* 2015b, *70*(1-2), 15-24. doi: 10.1515/znc-2014-4105.

Pisseri F., Bertoli A., Nardoni S. *et al.* Antifungal activity of tea tree oil from *Melaleuca alternifolia* against *Trichophyton equinum*: an in vivo assay. *Phytomedicine* 2009, *16*(11), 1056-1058. doi: 10.1016/j.phymed.2009.03.013.

Rattanachaikunsopon P., Phumkhachorn, P. Potential of cinnamon (*Cinnamomum verum*) oil to control *Streptococcus iniae* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Sci.* 2010, *76*, 287-293.

Tortorano A.M., Prigitano A., Dho G. *et al. In vitro* activity of conventional antifungal drugs and natural essences against the yeast-like alga Prototheca. *J, Antimicrob Chemother* 2008, *61*, 1312–1314. doi: 10.1093/jac/dkn107.