

Neem e zootecnia:

Un antico sapere decifrato dalla scienza moderna

SISTE – SANA 2018 - Bologna

S. Andrew van der Esch / Unità: SSPT-TECS-TEB



























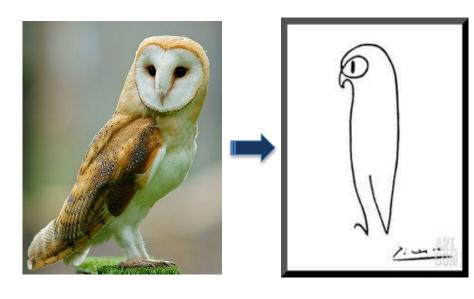
Introduzione



Un antico sapere decifrato dalla scienza moderna

In questa breve presentazione proverò a fare uno schizzo del ruolo che il Neem – con i suoi molteplici derivati/usi - potrebbe avere nella veterinaria/zootecnia

- II Neem: che cos'è
- Attuali applicazioni
- Che cos'ha la biologia moderna capito in più?
- Futuri potenzialità in zootecnia





Introduzione



Sapere antico:

Azad dirakht

Libera/Nobile



Albero

درخت آزاد

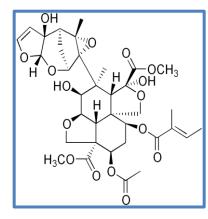






آزاد

- Origine: Sub-continente Indiano (India, Nepal, Pakistan, Bangladesh, Sri Lanka, Maldive).
- Presenza: Tutte le zone tropicali e sub-tropicali del mondo.
- Uso: Da 4.000 anni a. C. presente nella medicina tradizionale Indiana (Ayurveda). Anche nelle pratiche agricole tradizionali.



Azadiractina

Introduzione – Il Neem (Azadirachta indica (A. Juss.))





- 1. Dal punto di vista accademico, le piante rappresentano una fonte inesauribile di prodotti naturali potenzialmente utili.
- L'utilizzo di questi prodotti può stimolare lo sviluppo sostenibile (Green Economy).
- 3. Nel caso del Neem potrebbe essere uno potenziale volano di sviluppo nei PVS.

Applicazioni per "Prodotti Derivati dal Neem" (PDN):

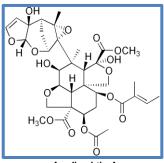
- Agricoltura: Bio-pesticidi, Fertilizzanti, Nematocidi, Fungicida, Miglioramento del suolo.
- Medicina: Guarigione delle ferite, Chemio-protezione, Anti-Cancro, Anti-Diabetico, Anti-Microbico, Controllo fertilità.
- > Salute pubblica: Controllo vettori (malaria, dengue ecc.), Ecto-parassiti (applicazioni in veterinaria).
- Silvicoltura: Frangivento, Biocarburante, Legname, Anti-desertificazione, Stabilizzazione dei suoli.



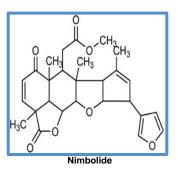
Introduzione – Il Neem (Azadirachta indica (A. Juss.))



Quello che la Scienza sapeva già lo scorso secolo:



Azadirachtin A



- 1. L'**Azadiractina A** è biodegradabile (si degrada in 100 ore se esposta alla luce e all'acqua) e dimostra una tossicità molto bassa per i mammiferi (la DL₅₀ nei ratti è >3,540 mg/kg che la rende praticamente non tossica).
- 2. I PDN hanno dimostrato una efficacia e spettro d'azione molto ampi (più di 400 insetti dannosi sono sensibili sia in agricoltura che in veterinaria).
- 3. I principali effetti sono: Fago-repellenza; Interruzione della crescita; Effetto sterilizzante.

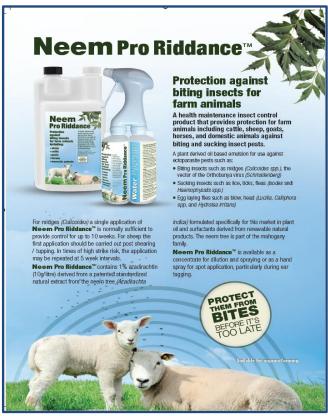
Attuali applicazioni in veterinaria/zootecnia

Già sul mercato

Cicatrizzante



Ecto-parassiti







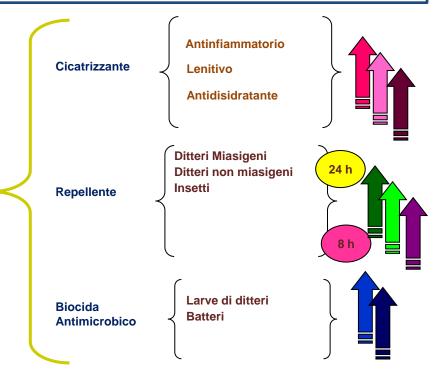
"One Vet" è una combinazione di Neem e Iperico.
Presenta numerose proprietà che lavorano in modo sinergico per il corretto e completo svolgimento del processo cicatriziale.

Senza uso di antibiotici, disinfettanti e senza fasciature

4 mesi

Giorno 0





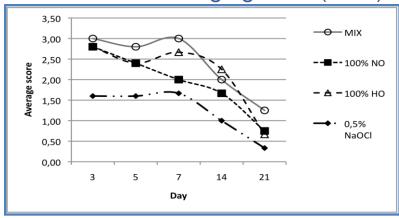




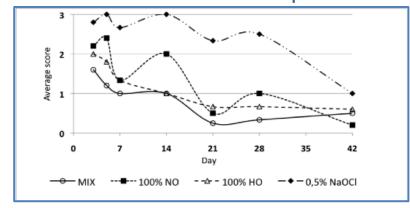
Effetti istologici e di "cell signaling" sul processo cicatrizzale

Parameter	Inflammation		Granulation/ Proliferation		Remodelling	
	Control	MIX	Control	MIX	Control	MIX
		Aspect				
Necrosis	=	Ä	=	=	=	=
Eschar/scab	=	71	=	=	=	=
		lmmune c	ells			
Phlogosis	=	=	=	=	=	=
Neutrophils gran.	=	=	=	=	=	=
Macrophages	=	7	=	=	=	=
Mononuclear cells	=	7	=	=	=	=
	No	eoangioge	nesis			
Microvessels	=	7	=	=	=	=
Vessel gems (vWF)	=	71	=	7	=	=
	Re-	epithelial	isation			
Epithelial cells	=	7	=	=	=	=
Spur formation	=	71	=	=	=	=
Pan Cytokeratin (PcK)	=	7	=	7	=	=
Gre	owth Facto	rs (cytokii	nes/chemo	okines)		
TGF-β	=	7	=	Ä	=	=
bFGF	=	7	=	7	=	=
EGF	=	71	=	7	=	7
Collagen III	=	7	=	7	=	7

Effetto sulla neo-angiogenesi (vWF)



Effetto sul TGF-β



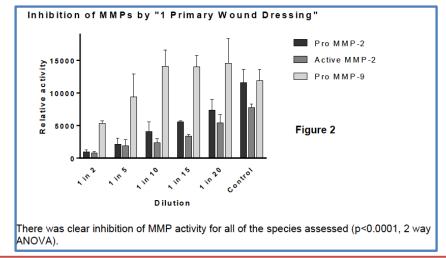




Effetto di "One Vet" sulle Metallo proteinasi di matrici (MMP)

Ruolo Metalloproteinasi

La matrice extracellulare (ECM) esiste principalmente per facilitare la migrazione cellulare, l'adesione, la contrazione della ferita e l'epitelizzazione. La trasformazione, l'organizzazione e la manutenzione della matrice extracellulare dipendono da molti processi intracellulari ed extracellulari altamente controllati. Un agente importante per la trasformazione e la manutenzione della ECM è costituito da un gruppo di enzimi collettivamente noti come metallo proteinasi di matrice (MMP).



The experiment was aimed at assessing the real-time inhibition of MMPs in a simulated wound environment during exposure to "1 Primary Wound Dressing".

Lazaro JL; "Elevated levels of matrix metalloproteinases and chronic wound healing: an updated review of clinical evidence." Journal of Wound Care vol 25, no 5, May 2016

Tamarixetin

3-O-β-D-Glucopyranoside from *Azadirachta indica*Leaves: Gastroprotective Role through *Inhibition of Matrix Metalloproteinase-9 Activity* in Mice

Yadaf DK et.al.; J. Nat. Prod. 2017, 80, 1347–1353

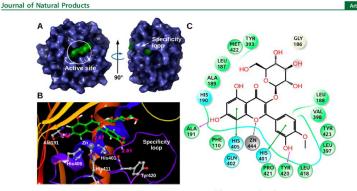


Figure 6. Interaction of compound I with MMP-9 by molecular docking simulation. (A) Binding of I (green) into the active site groove of MMP-9 is shown in the frontal and lateral views. Protein and the ligand (I) are shown in surface representation, and the site and the specificity loop of MMP-9 are marked. (B) Orientation of the functional groups of I inside the active site. The protein backbone is shown in ribbon diagram. Compound I and some interacting residues are shown as a ball-and-stick rendition. The C atoms in I are colored green. The active site Zn as bound to three histidines (His401, 405, and 411) is shown. The two amino acid residues (Tyr420, Ala191) with which I formed hydrogen bonds are also presented. Hydrogen bond and coordinate bond (between ring O of I and catalytic Zn) distances are shown. (C) Detailed interaction diagram obtained by molecular docking. Green, hydrophobic; cyan, polar; pink arrow, hydrogen bonding; green line, pi-stacking; gray line, metal coordination.





Oltre la Scienza anche il Cuore vuole la sua parte

Vol. 119: 145-152, 2016

DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS
Dis Aquat Org

Published May 3

Management of severe head injury with brain exposure in three loggerhead sea turtles Caretta caretta

D. Franchini^{1,*}, L. Cavaliere¹, C. Valastro¹, F. Carnevali², A. van der Esch², O. Lai¹,
A. Di Bello¹

- ¹Department of Veterinary Medicine, Bari University. Strada Provinciale per Casanassima km 3, 70010 Valenzano (Ba), Italy ²Energy and Sustainable Economic Development (ENEA), Casaccia Research Centre, Via Anguillarese 301, 00123 Rome, Italy

ABSTRACT: The loggerhead Caretta caretta is the most common sea turtle in the Medietranean. Currently, see turtles are considered endangered, mainly due to the impact of human activities. Among traumatic lesions, those involving the skull, if complicated by brain exposure, are often life-threatening. In these cases, death could be the outcome of direct trauma of the cerebral tissue or of secondary meningenecephalitis. This uncontrolled study aims to evaluate the use of a plantderived dressing [1 Primary Wound Dressings) in 3 sea turtles with severe lesions of the skull exposing the brain. Following surgical curettage, the treatment protocol involved exclusive use of the plant-derived dressing applied on the wound surface as the primary dressing, daily for the first month and then every other day until the end of treatment. The wound and peri-wound skin were covered with a simple secondary dressing without any active compound (non-woven gauze with petroleum jelly). Data presented herein show an excellent healing process in all 3 cases and no side effects due to contact of the medication with the cerebral tissue.

 $KEY\ WORDS:\ Wound\ healing \cdot Dressing \cdot Skull\ fracture \cdot Brain\ injury \cdot Trauma \cdot Chelonid$



Per gentile concessione dr.ssa Delia Franchini, Medicina Veterinaria, Università di BARI





Giorno 1 prima e dopo curettage chirurgico



Copertura con paraffine per impermeabilizzazione



Giorno 16



Giorno 84 GUARITA!!!



Potenziali usi di "One Vet" in zootecnia



- 1. Messa in asciutta vacche da latte senza antibiotici
- 2. Terapia delle mastiti cliniche e subcliniche nelle vacche da latte senza antibiotici
- 3. Terapia dell'ectima contagioso di agnelli/capretti e della mammella delle madri
- 4. Prevenzione e terapia delle miasi nelle lesioni indotte dalle pratiche zootecniche: ear tag, taglio delle code, castrazione, decornificazione ecc.
- 5. Terapia delle lesioni nella malattia degli ascessi (da *Corynebacterium pseudotubercolosis*) delle capre e dei camelidi (lama e alpaca)

Healing capacity of patented MIX 557 in severe, devastating or pathologic wounds in several animal species F. Carnevali, S.A. van der Esch. 53rd GA Congress Joint with SIF, Firenze. 2005, **Poster231**

V.Galligioni, F.Carnevali, S.A.van der Esch, et al. Attività Antivirale nei confronti di ORF virus di un medicamento) a base di Azadiracta Indica (albero del Neem) e Hypericum perforatum. Published I Quaderni ZooBioDi N. 3/2010;96-102. 2017)

MIX 557: A TOPICAL REMEDY WITH REPELLENT, BIOCIDAL AND HEALING PROPERTIES FOR TREATING MYIASIS BOTH IN MAMMAL AS IN HUMAN Stephen Andrew Van Der Esch, Fiorella Carnevali, Massimo Cristofaro. EWMA Congress. Glascow 2007;

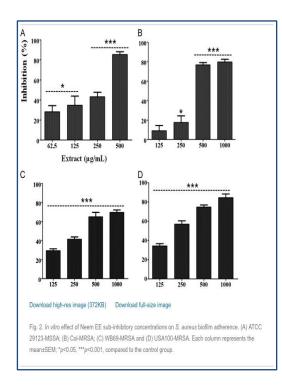
Carnevali F., van der Esch S.A.. 2009 Gestione delle ferite e controllo delle Miasi con sostanze naturali in veterinaria . XXI Salone Internazionale del Naturale, Alimentazione, Salute e Ambiente (SANA): Evento – L'importanza delle piante medicinali in zootecnia: mercato, prospettive, nuove applicazioni, Bologna, 10-13settembre.

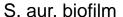


Problema multi resistenza batterica



Effetti dell'estratto etanolico di foglie di Neem su Staph. aureus multi resistente







S. aur. planctonico



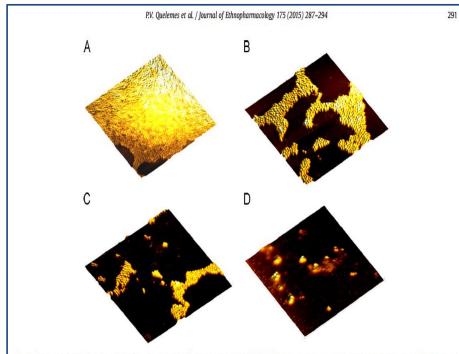


Fig. 3. Representative AFM images of the effect of Neem EE sub-MIC concentrations on USA100-MRSA planktonic aggregation. (A) Control (non-treated); (B) 250 μg/mL; (C) 500 μg/mL and (D). 1000 μg/mL. In all images, the X and Y axes are 40 μm; the Z axis is 2.2 μm.

Patrick V. Quelemes et.al.; Effect of neem (Azadirachta indica A.Juss) leaf extract on resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formation and *Schistosoma mansoni* worms. Journal of Ethnopharmacology 175(2015) 287–294



Considerazioni sull' impiego del Medicamento "One Vet" in veterinaria



- Il trattamento delle ferite con il Medicamento presenta una elevata ripetibilità dei risultati, pur in presenza di grande variabilità delle lesioni e delle specie animali.
- Il coordinamento e la successione degli eventi che caratterizzano il processo cicatriziale si realizzano senza complicazioni nei tempi fisiologici specifici della specie animale.
- Le complicazioni batteriche, anche molto gravi, si abbattono senza l'ausilio di antibiotici.
- La reazione infiammatoria acuta viene specificamente regolata con immediato e completo controllo delle componenti edemigena e dolorifica di questa fase, facilitando molto la gestione delle ferite.
- La repellenza ai ditteri permette la gestione agevole delle ferite durante i periodi estivi anche in condizioni di campo.
- Ha attività specificamente terapeutica e non semplicemente cicatriziale, nei confronti della reazione cheloidea dei cavalli.





Ecto-parassiti di interesse veterinario sensibili ai "PDN"

- 1. Pidocchi: sia masticatori (Amblycera) che succhiatori (Anoplura)
- 2. Pulci (Siphonaptera)
- 3. Zecche (Acari Ixodida)
- 4. Acari (Acari Mesostigmata)
- 5. Mosche miasigeni e non

Settori nella zootecnia dove questi ecto-parassiti sono un

- problema:
- Ovini/Caprini
- Bovini
- Suini
- Pollame

Sparks TC & Nauen R; IRAC: "Mode of action classification and insecticide resistance management." Pestic Biochem Physiol. Jun;121:122-8. **2015**



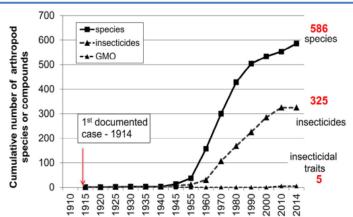


Fig. 1. Cumulative increase in (a) the number of species resistant to one or more insecticides, (b) number of insecticides for which one or more species has shown resistance, and (c) number of GMO traits for which resistance has been reported.Data adapted from: [2,3,47–50] and David Mota-Sanchez, Michigan State University, personal communication. 2014.





Considerazione sulla questione "Resistenza"

- Resistenza contro pesticidi (insetticidi; biocidi, acaricidi) non è legata all'origine della molecola (sintetica o naturale) ma alla complessità del formulato usato.
- Anche nel caso di Azadirachtina l'uso della sostanza pura induce resistenza, mentre l'estratto no.

Month	Control	NSE-selected	RF	Aza-selected	RF
February	2.42 (1.76-3.28)	2.42 (1.76-3.28)	1.00	2.42 (1,76-3.28)	1.00
April	2.26 (1.73-2.96)	4.91 (2.83-8.49)	2.17	5.46 (3.52-8.47)	2,42
May	1.95 (1.29-2.94)	3.20 (2.42-4.24)	1.64	ND	
June	2.70 (2.00-3.64)	4.02 (3.09-5.23)	1.49	5.42 (3.79-7.76)	2.01
July	1.64 (0.90-2.97)	ND	-	8.95 (4.76-16.80)	5.46
August	2.49 (1.77-3.51)	3.29 (2.65-4.09)	1.32	ND	
September	2.65 (2.00-3.52)	3.59 (2.45-5.28)	1.35	6.17 (4.30-8.86)	2.22
October	1.47 (0.98-2.19)	2.16 (1.47-3.18)	1.47	13.45 (9.90-18.27)	9.15

RF, resistance factor = LC_{50} in selected lines/ LC_{50} in control line.

ND, not determined (insufficient aphids).

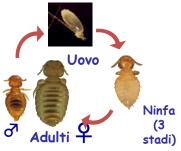
Da: R. Feng, M. B. Isman; "Selection for resistance to Azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae*" Experientia August **1995**, Volume 51, Issue 8, pp 831–833





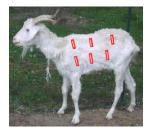
Controllo pediculosi in capre Angora

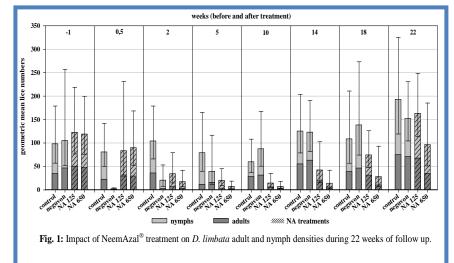
Esperimenti, con estratti di Neem, fatti *in vitro* e *in campo* per il controllo del pidocchio masticatore *Damalinia limbata.*















Controllo pediculosi in capre Angora

334

A. Habluetzel et al./Veterinary Parasitology 144 (2007) 328-337

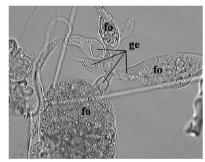


Fig. 4. Ovary with five ovarioles from a neem (1250 ppm) exposed louse female. Follicles (fo) have lost their tissue structure; the germinal region (ge) of the ovarioles appears depleted from any cellular content (LM $400 \times$).

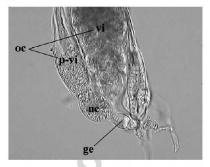
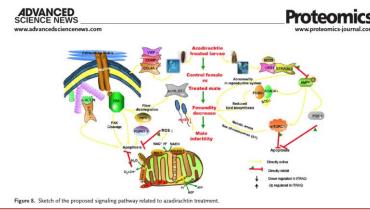


Fig. 6. Ovarioles from a Neem Azal (125 ppm) treated female; the germarium (ge) is depleted from oogonial cells; a loss of cell structure is evident in the nurse cell (nc) compartment and in the oocyte (oc) compartment of both previtellogenic (p-vi) follicle and vitellogenic (vi) follicle (LM 400×).



Sun R et. al.; Proteomic Profiling Analysis of Male Infertility in Spodoptera Litura Larvae Challenged with Azadirachtin and its Potential-Regulated Pathways in the Following Stages. Proteomics, 2018, DOI: 10.1002/pmic.201800192



In campo: abbattimento della pediculosi per 4 mesi rispetto alla durata di 1 mese ottenibile con biocida di origine chimica.



Il NeemAzalTM riduce la "fitness" (in termini di sopravvivenza) di D. limbata sia allo stadio adulto che ninfale.



Potenziali usi di "PDN" per ecto-parassiti



Settori dove NON si usano ancora "PDN" per controllo ectoparassiti

Ricordate il problema Fipronil??!! (contaminazione delle uova)



- Con i derivati del NEEM
- Ottengono 99% abbattimento acaro rosso del pollo
- Nessun effetto negativo sui polli
- Solo problema: uova e materiale di stalla un po' oleoso ma non contaminati e non tossici

Settore avicolo

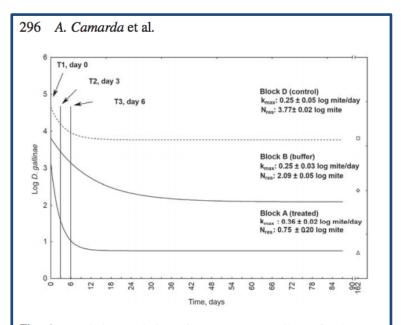


Fig. 4. Population evolution of *Dermanyssus gallinae* fitted up to 87 days, although the last point shown indicates the mean values of the mite population at 162 days. k_{max}, rate of population decrease; N_{res}, survivors (mean values ± standard error); T1, first treatment; T2, second treatment; T3, third treatment.



Potenziali applicazioni in veterinaria/zootecnia:



Animali sinantropi

Attualmente, non sono disponibili metodi incruenti, sufficientemente rispettosi della salute animale e dell'ambiente, o adeguatamente economici ed efficaci, che permettano di controllare l'attività riproduttiva degli animali sinantropi come i colombi delle città e ratti e topi delle fogne e dei bassifondi.

Controllo vettori

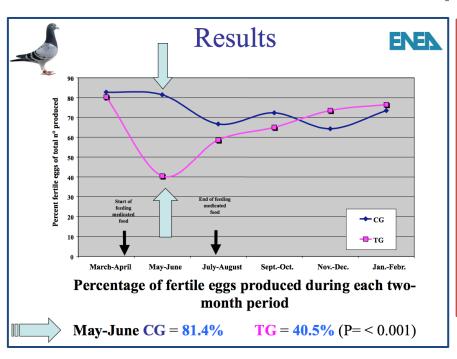
Diverse malattie trasmesse dagli artropodi stanno ora aumentando con un incremento dell'impatto e dei rischi per la salute pubblica, a causa dei cambiamenti ambientali e della resistenza ai pesticidi attualmente commercializzati. Oltre ai programmi di sorveglianza della comunità e un'attenta gestione delle mandrie, è urgentemente necessaria una nuova generazione di prodotti efficaci per controllare la diffusione di queste malattie, con particolare riferimento a quelle arbovirali. La ricerca sui prodotti naturali può offrire soluzioni alternative.

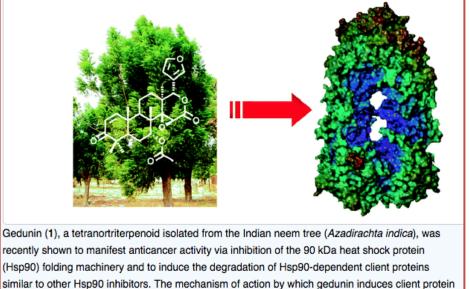


Potenziali applicazioni in veterinaria/zootecnia:



Controllo fertilità animali sinantropi





Brandt G.E. et. al: Gedunin, a Novel Hsp90 Inhibitor: Semisynthesis of Derivatives and Preliminary Structure–Activity Relationships J. Med. Chem., 2008, 51 (20)



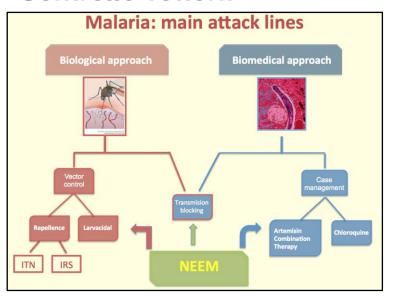
È stato accertato che le proteine da shock termico (HSP) e i fattori di shock termico (HSF) sono coinvolti in un'ampia varietà di processi di regolazione fisiologica e di vie segnaletiche. Numerosi membri della famiglia HSP esibiscono un modello di espressione specifico al tipo di cellula durante la spermatogenesi e svolgono un ruolo cruciale nello sviluppo delle cellule germinali.



Potenziali applicazioni in veterinaria/zootecnia:



Controllo vettori:





Efficacy of a neem cake for the control of *Culicoides* biting midges

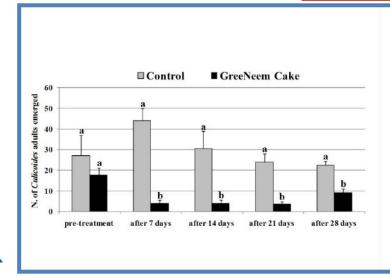
Foxi Cipriano*, Delrio Gavino
Dipartimento di Agraria, Sezione di Patologia vegetale ed Entomologia,
University of Sassari, Viale Italia 39, 07100 Sassari, Italy
"cfoxi@uniss.it -gdelrio@uniss.it

Abstract

The larvicidal efficacy of a commercial neem cake containing 3,750 ppm of azadirachtin A+B, 7,980 ppm of salannin and 1,850 ppm of nimbin was assayed in laboratory and in field trials for the control of *Culicoides* larvae. Laboratory bioassays were conducted with neem cake on larval mortality of *Culicoides* in water after 7 days and a lethal concentration value (LC_{so}) of 0.37 g/l was obtained. A neem cake methanol extract was separated by different solvents and fractions of increasing polarity were assayed on *Culicoides* larvae. The most active ethyl acetate fraction containing 1 ppm of azadirachtin, 1.5 ppm salannin and 0.3 ppm of nimbin was more toxic than a commercial formulation at the same azadirachtin concentration.

A treatment with neem cake at dose of 100 g/m² was applied in a larval breeding site of Culicoides located in a riverside of a pond margin of a livestock farm in Sardinia, Italy. The emergence of Culicoides adults in treated and untreated plots was observed weekly using emergence traps before and after treatment. In plots treated with the neem cake, a significant reduction in Culicoides emergence was recorded until 28 days. Culicoides imicola, the main vector of Bluetongue Virus, represented about 10% of all emerged Culicoides adults and resulted highly sensitive to the neem cake.

KEY WORDS: CULICOIDES LARVAE, BLUETONGUE VECTORS, NEEM CAKE, AZADIRACHTIN, SALANNIN



Figure

Recommend

Comment

Caption

Figure 1. Mean number (± S.E.) of Culicoides adults emerging from mud samples taken weekly in control and treated plots in Sassari (Sardinia, Italy) during October 2008 (means in pre-treatment followed by the same letter are not significantly different by ANOVA at the 5% level; means after treatment followed by the same letter are not significantly different by one-way repeated measures ANOVA at the 5% level).

0 Recommendations



Altre potenziali applicazioni: Nutrizionale



Nei Paesi in Via di Sviluppo (PVS): necessità di fonti alternative per nutrire gli animali da produzione.

Comp Clin Pathol (2017) 26:299–307 DOI 10.1007/s00580-016-2336-8

REVIEW ARTICLE

Neem (Azadirachta indica) leaf and kernel and their effects on production and physiology of poultry: a review

I. P. Ogbuewu 1 - P. D. Jiwuba 2 - T. C. Iwuji 1 - V. M. Okoro 1 - C. A. Mbajiorgu 3 - I. C. Okoli 1

La forte domanda di cereali e legumi da parte di industrie, uomini e animali ha fatto aumentare i loro prezzi e di conseguenza i costi dei mangimi per animali. Vi è quindi (nei paesi PVS) la necessità di sfruttare altre risorse alimentari, alternative e non competitive, per sostituire cereali e legumi nelle diete a base di pollame.

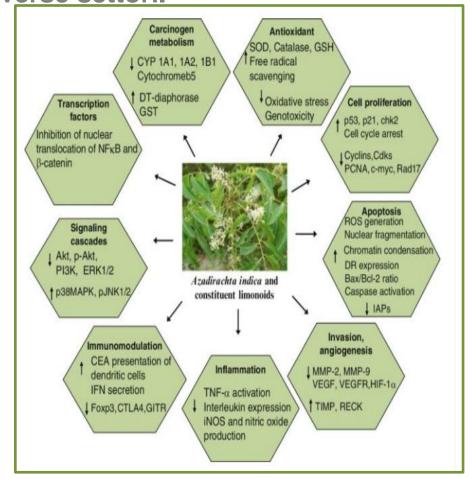
- Il profilo degli aminoacidi presenti nei semi di Neem è simile a quello dei semi di Soia.
- Però, il Neem contiene sostanze con effetti indesiderabili per i Polli (quando ingerito).
- Esistono metodologie efficaci per neutralizzare queste sostanze (tostatura; autoclavare)
- Preparati di semi di Neem tostati o autoclavati possono essere miscelati col mangime fino a 15 – 22% senza avere effetti negativi sulla crescita, deposizione delle uova ecc... ecc...





Dunque. i Prodotti Derivati dal Neem (PDN) hanno un ampio spettro di attività biologiche in diverse settori.

- Utili in diversi settori
- Agricoltura
- Medicina/Veterinaria
- 3. Salute pubblica
- 4. Sviluppo Sostenibile
- 5. Volano di sviluppo per PVS







La vita (βίος) rappresenta un sistema complesso:

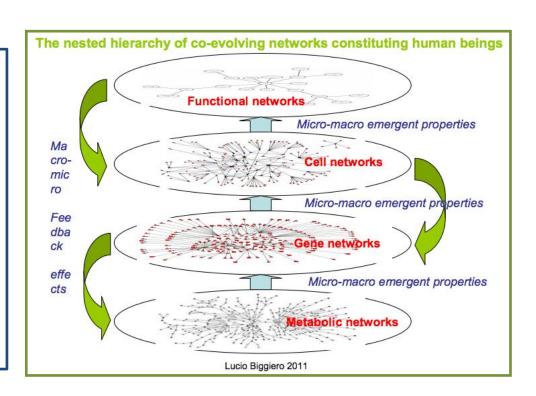
- 1. Tutti gli organismi viventi, sia unicellulari che pluricellulari, sono **sistemi** aperti che sopravvivono trasformando l'energia e diminuendo l'entropia locale del sistema per regolare il loro ambiente interno e mantenere una condizione stabile e vitale definita omeostasi.
- I sistemi complessi sono basati su relazioni e le loro proprietà di autoorganizzazione, interconnessioni ed evoluzione.
- 3. Un comportamento emergente o proprietà emergente può comparire quando un numero di entità semplici (agenti) operano in un ambiente, dando origine a comportamenti più complessi in quanto collettività.
- 4. Questo potrebbe spiegare perché le sostanze naturali, quando adoperate in tante diverse specie, dimostrano di avere effetti molteplici e sorprendenti





Le "PDN" interagiscono con i diversi livelli del "sistema complesso" che è la βίος

Le scienze "omiche"
(metabolomica, genomica, proteomica e bioinformatica)
ci stanno dando finalmente gli strumenti per decifrare le interazioni complesse fra sostanze naturali e gli organismi viventi.

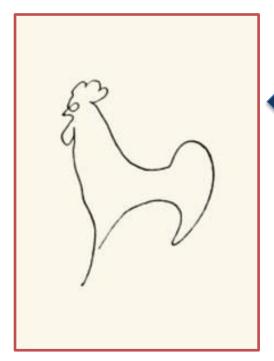






E con questo, spero di essere riuscito a spiegare, in modo semplificato ma non certo semplicistico, perché il Neem e i suoi derivati (PDN) possono rappresentare una importante potenzialità per la zootecnia, e non solo!!

Chiaramente, questo vale per le sostanze naturali in generale.



Dalla realtà semplificato

alla realtà

ancora molta strada da percorrere: ma sembra meno in salita





Grazie della cortese attenzione





























