

25. L. BELLANI e G. TIECCO. — **Ricerca degli estrogeni sintetici negli alimenti.** — Nota III. Applicazione pratica del nuovo metodo di controllo biologico.

Riassunto. — Gli AA. ricercano le sostanze estrogene nelle carni e nelle uova di polli alimentati con estrogeni per 44 giorni utilizzando la metodica di Wiberg e coll. modificata da uno degli AA.

I risultati ottenuti permettono di affermare che è possibile rinvenire le sostanze estrogene nelle carni fino alla 48^ah dalla somministrazione del mangime estrogenizzato e nelle uova raccolte durante i 44 giorni di esperimento.

Summary. — The AA. have searched for estrogenic substances in meats and eggs of chicken fed with estrogens during 44 days. The research has been carried out by applying the technique of Wiberg and coll. as modified by one of the AA. The results obtained show that it is possible to find estrogens in the meats up to 48 hr after administration, and in the eggs gathered during the 44 days of the experiment.

In una nota precedente uno di noi ⁽¹⁾ ha riportato la tecnica di una nuova metodica per la ricerca delle sostanze estrogene nei mangimi. Essa presenta la stessa sensibilità della tecnica di WIBERG e coll. ⁽²⁾, ma richiede un tempo molto minore per la sua esecuzione.

Ci è sembrato indispensabile condurre delle ricerche atte a confermare nella pratica i pregi di questo metodo. A tale scopo esso è stato utilizzato per la ricerca degli estrogeni di sintesi sia nelle carni che nelle uova di polli sperimentalmente trattati con sostanze estrogene.

Due gruppi di 20 polli vengono sottoposti ad una alimentazione con estrogeni rispettivamente di 20 γ /g e 5 γ /g di mangime. Essendo il nostro scopo la ricerca degli estrogeni sintetici sia nelle carni che nelle uova, ognuno dei gruppi di polli viene costituito da 10 pulcini e 10 galline ovaiole.

La ricerca nelle carni degli estrogeni ha avuto il duplice scopo di stabilire sia la presenza che il tempo di persistenza di essi dopo la cessazione della loro somministrazione.

La dose di estrogeni aggiunta ai margini è rappresentata da una mescolanza di dietilstilbestrolo, esestrolo e dienestrolo rispettivamente nelle seguenti proporzioni 50, 25 e 25%. Di conseguenza ogni grammo di mangime contiene 10 γ di dietilstilbestrolo, 5 γ di esestrolo e 5 γ di dienestro-

lo per il mangime di più alta concentrazione e rispettivamente 2,5, 1,25 e 1,25 γ per il mangime di più bassa concentrazione. Un terzo gruppo di polli, formato anch'esso di 10 pulcini e 10 galline ovaiole, viene mantenuto nelle identiche condizioni ed alimentato con mangime standard esente da sostanze estrogene. Tale gruppo è utilizzato come controllo.

Sebbene gli effetti ponderali di una tale alimentazione non siano lo scopo di queste ricerche, possiamo rilevare che si è constatato un aumento del peso corporeo massimo, significativamente apprezzabile, nei polli da carne alimentati con mangime contenente 20 γ di estrogeno/g di mangime e minore con l'altro. Per quanto riguarda invece le galline ovaiole non si è notata alcuna differenza nella deposizione delle uova (media giornaliera per pollo: 0,39 per la dose 20 γ /g; 0,34 per 5 γ /g e 0,37 nei controlli).

La metodica seguita per la ricerca degli estrogeni nelle carni e nelle uova dei polli è quella descritta nella nota precedente (¹).

A) *Ricerca degli estrogeni nelle carni di pollo.*

Dopo un periodo di 44 giorni, durante il quale i polli sono stati alimentati con i due mangimi contenenti estrogeni, si sostituisce questo mangime con uno non estrogenizzato. Da questo momento si procede ad abbattere gli animali a tempi diversi dalla sospensione di estrogeni e precisamente:

- 2 polli al momento del cambiamento di alimentazione;
- 2 polli dopo 2 giorni;
- 2 polli dopo 8 giorni;
- 2 polli dopo 21 giorni.

Le carcasse disossate e le frattaglie vengono finemente triturate e mescolate in parti uguali con mangime per ratti esente da sostanze estrogene e ridotte in pellettis servendoci del nostro apparecchio. Lo stesso trattamento viene pure riservato ai polli mai alimentati con estrogeni appartenenti al gruppo di controllo. Il ricorso a tali controlli come paragone per la positività della ricerca è dovuto al fatto che recentemente UMBERGER e coll. (³⁻⁴) hanno riferito che il peso uterino delle rattine alimentate con tessuti animali varia in funzione del tipo di tessuto stesso.

La ricerca degli estrogeni nelle carni ha dato i risultati illustrati dalla tabella 1.

Da essa deduciamo che:

a) nei polli alimentati con il mangime contenente 20 γ di estrogeno/g è possibile rivelare gli estrogeni fino alla 48^ah dopo la soppressione dell'alimentazione estrogenizzata. In quelli alimentati con 5 γ di estro-

TABELLA 1

RICERCA DEGLI ESTROGENI NEI POLLI

(lettura in terza giornata)

Inizio somministrazione mangime estrogenizzato (50% stilb-, 25% es-, 25% dien-estrol): 28-2-1961 - Cessazione somministrazione: 13-4-1961 - Tempo di somministrazione miscela estrogenizzata: giorni 44.

	Abbattuti dopo giorni	N. rattine	Media peso corporeo g	Media peso utero mg	Media peso utero ‰ peso corporeo mg	Devianza +	“t”	Significanza	
								1 ‰	5 ‰
Dose estrogeni: 20 γ/g di mangime	0	4	40,2704	193,6	484,56	85	9,30	+	+
	2	5	43,0091	78,8	184,78	31	2,36	—	+
	8	5	40,8135	55,9	137,38	19	1,12	—	—
	21	4	39,5432	60,1	157,18	13	0,64	—	—
Dose estrogen : 5 γ g di mangime	0	4	39,7269	159,5	403,28	29	16,53	+	+
	2	6	39,9548	70,1	173,73	49	1,11	—	—
	8	4	38,4480	54,4	140,99	14	0,78	—	—
	21	5	27,0721	41,0	152,91	31	0,20	—	—
Controllo . . .		6	32,7939	48,4	149,91	19			

TABELLA 2

Ricerca sostanze estrogene nelle uova.

Campione	N. rattine	Media peso corporeo g	Media peso utero mg	Media peso utero ‰ peso corporeo mg	Devianza ±	“t”	Significanza
1	6	34,3916	236,0	689,01	101	6,36	+
2	6	36,3306	245,6	680,37	72	7,99	+
3	5	37,2774	138,6	374,89	56		

Campione 1: uova polli alimentati con mangime contenente estrogeni nella quantità di 20 γ/g

Campione 2: uova polli alimentati con mangime contenente estrogeni nella quantità di 5 γ/g

Campione 3: uova polli alimentati con mangime non contenente estrogeni

geno/g, pur notandosi un forte aumento ponderale degli uteri delle rattine, alla 48^ah la risposta è statisticamente non significativa;

b) dopo un intervallo di 8 giorni, la prova biologica è negativa in tutti e due i gruppi trattati.

B) *Ricerca degli estrogeni nelle uova.*

Durante tutto il periodo in cui le galline sono state sottoposte ad alimentazione con estrogeni, le uova sono state raccolte e conservate in frigorifero suddivise per gruppi, unitamente a quelle dei controlli.

Dopo 44 giorni, al termine dell'esperienza, tutte le uova di ciascun gruppo sono state omogeneizzate e quindi liofilizzate. Il liofilizzato è stato somministrato come alimento alle rattine test.

I risultati ottenuti (tabella 2), anche se con le riserve dovute all'unicità della prova, possono essere così commentati: è possibile rivelare la presenza delle sostanze estrogene nelle uova dei polli alimentati con mangime estrogenizzato.

Per le uova, più ancora che per le carni, si può notare la veridicità delle affermazioni di UMBERGER e coll. (^{3,4}); infatti anche le rattine controllo, alimentate cioè con uova provenienti da polli mai trattati con estrogeni, reagiscono positivamente. Si può tuttavia affermare che le differenze fra i controlli e i test sono così evidenti da consentire una identificazione netta delle uova provenienti da polli estrogenizzati.

In conclusione possiamo dire che il metodo dei tre giorni da noi precedentemente proposto per la ricerca delle sostanze estrogene nei mangimi per uso zootecnico, risponde molto bene anche quando viene applicato per carni e per uova.

I risultati ottenuti infatti confermano quelli già precedentemente riferiti dai vari AA. che si sono occupati dell'argomento e che hanno impiegato per la ricerca uno dei metodi classici (^{2, 5, 6, 7}).

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratori di Veterinaria.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) TIECCO G. - Rend. Ist. sup. Sanità, 25.
- (²) WIBERG G. S. e STEPHENSON N. R. - Can. J. Biochem. Physiol., 35: 1107 (1957).
- (³) UMBERGER E. J. - Feder. Proc., 15: 1221 (1956).
- (⁴) UMBERGER E. J. - Feder. Proc., 16: 1525 (1957).
- (⁵) STOB. M., ANDREWS F. N. e ZARROW M. X. - Am. J. Vet. Res., 15: 319 (1954).
- (⁶) BIRD S. e coll. - Endocrinology, 41: 282 (1947).
- (⁷) GOWE R. S. - Poult. Sci., 28: 666 (1949).