

UNIVERSITÁ degli STUDI di PADOVA

FACOLTÁ DI AGRARIA



TESI DI LAUREA SPECIALISTICA IN

SCIENZE E TECNOLOGIE ANIMALI

**STUDIO DI ALCUNI TRATTAMENTI ILLECITI
NELLA FASE FINALE DEL CICLO
D'INGRASSO DI BOVINI DA CARNE.
EFFETTO SULLE PRESTAZIONI PRODUTTIVE
INFRA VITAM E SUL COMPORTAMENTO
ALIMENTARE E SOCIALE DEGLI ANIMALI**

Relatore: **Prof. Giulio Cozzi**

Correlatore: **Dott.ssa Flaviana Gottardo**

Laureanda: **Miotello Silvia**

N° Matricola: **516752/STN**

ANNO ACCADEMICO 2005/2006

Abstract

The study was carried out in the contest of a plan financed by Ministero della Salute. It aimed at evaluating the effects of an illegal dexamethasone treatment and the same compound in association with estradiol in 24 finishing bulls. The experimental protocol considered *infra-vitam* performances (growth performance and feed intake) and alimentary and social behaviour to determine criteria to identify treated animals. The trial took place in November and December 2005 and animals were assigned to three experimental thesis. One group did not receive any treatment (thesis C), another group received oral dexamethasone (thesis D), and the third was supplied with oral dexamethasone in association with intramuscular estradiol (thesis DE). Dexamethasone was provided to the bulls every day (1ml/calf/day for 43 days) while estradiol was administered three times at fifteen days intervals (4ml/calf). During the experimental period the animals were weighted and dry matter intake were weekly assessed to determinate animals average daily gain. Alimentary behaviour, chemical composition and selection of feed, social behaviour and respiratory frequency were also studied. Moreover consistency and particle composition of feces were analyzed. The experimental data were elaborated through a statistical linear model. Results showed that the treatments did not significantly affect considered parameters. The lack of significant results may be due to short period of administration and the animals that were in a late finishing phase. The outcomes of the alimentary and social behaviour observations have shown a clean prevalence of the individual variability. The study of respiratory frequency and the analysis of the feces have also demonstrated being ineffective criteria to identify treated animals.

Riassunto

La sperimentazione, svolta nell'ambito di un progetto finanziato dal Ministero della Salute, ha inteso valutare gli effetti di un uso non terapeutico di desametasone e dello stesso principio attivo associato ad estradiolo nella fase finale del ciclo d'ingrasso di 24 bovini da carne. Il protocollo sperimentale ha preso in considerazione indicatori zootecnici come le prestazioni produttive *infra-vitam* (accrescimento, ingestione) e il comportamento alimentare e sociale, con lo scopo di determinare un criterio di identificazione degli animali trattati. La prova si è svolta nei mesi di novembre e dicembre 2005 e gli animali sono stati assegnati a tre diversi gruppi sperimentali. Il primo gruppo non ha ricevuto nessun trattamento (tesi C), al secondo gruppo è stato distribuito desametasone *per os* (tesi D) e al terzo gruppo è stato somministrato desametasone in associazione con estradiolo intramuscolare (tesi DE). Il desametasone è stato distribuito giornalmente in mangiatoia agli animali (1ml/capo/giorno per 43 giorni) mentre l'estradiolo è stato somministrato tre volte nell'arco della prova ad intervalli di quindici giorni (4ml/capo). Durante la prova gli animali sono stati pesati e sono stati rilevati settimanalmente i consumi alimentari; si sono così determinati gli accrescimenti medi giornalieri. Inoltre sono stati osservati il comportamento e la selezione alimentare, il comportamento sociale e la frequenza respiratoria. Ulteriori rilievi hanno permesso di considerare la consistenza e la composizione particellare delle feci. I dati sperimentali sono stati elaborati mediante un modello statistico lineare. I risultati osservati non hanno messo in evidenza significative differenze tra le tre tesi a confronto praticamente per tutti i parametri considerati. Sulla corrispondenza tra le performance di crescita rilevate per il controllo e i due trattamenti ha sicuramente giocato un ruolo importante il protocollo sperimentale che ha previsto un periodo di trattamento molto breve e ad una fase molto avanzata del processo di accrescimento degli animali. I rilievi del comportamento alimentare e sociale degli animali hanno visto una netta prevalenza della variabilità individuale entro ciascun box. Anche la frequenza respiratoria o l'analisi delle feci si sono dimostrati del tutto inefficaci per individuare gli animali trattati rispetto ai soggetti di controllo.

INDICE

	Pagina
1. INTRODUZIONE	5
1.1 Storia dei trattamenti illeciti negli animali da produzione	5
1.2 Cenni sugli steroidi	11
1.3 Glicocorticoidi	11
1.3.1 Desametasone	13
1.4 Ormoni steroidi sessuali	14
1.4.1 Estrogeni	14
1.5 Legislazione vigente	17
2. OBIETTIVI	20
3. MATERIALE E METODI	21
3.1 Animali e stabulazione	21
3.2 Trattamento ormonale	22
3.3 Rilievi sperimentali	23
3.3.1 Peso	23
3.3.2 Controllo dell'ingestione	23
3.3.3 Comportamento e selezione alimentare	23
3.3.4 Osservazioni comportamentali	24
3.3.5 Frequenza respiratoria	24
3.3.6 Prelievo di feci	25
3.4 Analisi statistica	25
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	26
4.1 Performance di crescita	26
4.2 Comportamento alimentare	29
4.3 Selezione alimentare	33
4.4 Comportamento sociale	36
4.5 Frequenza respiratoria	39
4.6 Analisi delle feci	39
5. CONCLUSIONI	42
6. BIBLIOGRAFIA	43

1. INTRODUZIONE

1.1 STORIA DEI TRATTAMENTI ILLECITI NEGLI ANIMALI DA PRODUZIONE

La carne, importantissima fonte di proteine, fino all'inizio degli anni Sessanta era considerata inoltre un significativo apporto di grassi. Infatti, un parametro di qualità degli animali pronti per la macellazione, era costituito dallo stato d'ingrassamento. A seguito delle prese di posizione dei dietologi contro il colesterolo e i grassi saturi (considerati responsabili dell'insorgenza di malattie cardiovascolari) la richiesta di carne si è modificata negli anni (Chizzolini, 2002). Di conseguenza, questo cambiamento ha indotto l'allevatore a dover offrire carni con livelli più bassi di grassi e colesterolo indirizzandolo anche verso l'utilizzo di composti che la ricerca scientifica ha individuato come sostanze eterogenee per struttura chimica e meccanismo d'azione dotate, però, di alcune caratteristiche comuni, quali la capacità di aumentare l'accrescimento corporeo degli animali, favorire la deposizione di proteine e limitare l'accumulo di lipidi nella carcassa, ma considerati anche principi pericolosi per la salute dell'uomo (Pace e Settineri, 1996).

Una prima categoria di sostanze utilizzate e diffuse già negli anni Sessanta è quella dei tireostatici, impiegati illegalmente somministrando farmaci antitiroidei agli animali da ingrasso. I tireostatici sono un complesso gruppo di sostanze che inibiscono il funzionamento della tiroide con conseguente diminuzione della sintesi degli ormoni tiroidei: Tiroxina (T4) e Triiodotironina (T3). Questi ormoni hanno un vasto *range* di azione che interessano principalmente due aspetti: l'accrescimento e lo sviluppo ed il metabolismo. Riguardo il primo aspetto gli ormoni tiroidei regolano: l'accrescimento e la differenziazione tissutale e dei denti, lo sviluppo e la crescita di penne, cute e peli, la funzionalità delle gonadi e della ghiandola mammaria, il sistema nervoso. Sul metabolismo gli ormoni tiroidei influenzano la termogenesi, stimolano e attivano numerosi enzimi metabolici e interagiscono con le catecolamine (Swenson *et al.*, 2002). Nella pratica zootecnica i tireostatici, somministrati con l'alimento nelle ultime 4-8 settimane prima della macellazione e rapidamente assorbiti, alterano il metabolismo energetico prevenendo la sintesi degli ormoni tiroidei. L'effetto metabolico che viene sfruttato è quello di un aumento della ritenzione idrica dei tessuti (caso delle carni "gonfiate"). Si ottiene pertanto una carne che pesa di più, ma non ha maggiore valore

nutritivo (frode), inoltre l'animale aumenta in peso perché va incontro a coprostasi e urinostasi (De Wasch, 2001).

I tireostatici sono stati abbandonati perché causavano ipertrofia della tiroide, facilmente rilevabile dopo la macellazione dell'animale. Inoltre è stata rilevata una pericolosità per la salute dell'uomo relativa a residui nella carne di tireostatici e dei prodotti del loro metabolismo. Il consumo di carne contaminata da tireostatici ha causato un aumento dei casi in Spagna di *aplasia cutis*, caratteristica malattia del cuoio capelluto (Courtheyn *et al.*, 2002)

Negli anni Settanta cominciarono ad essere impiegati massicciamente, soprattutto nei paesi anglosassoni, gli stilbenici.

I composti similsteroidi di sintesi (stilbenici), quali il DES (dietilstilbestrolo), sono analoghi degli ormoni steroidi endogeni e producono effetti simili agli ormoni steroidi (Preston e Burroughs, 1960). Tutti gli ormoni steroidi e stilbenici sono caratterizzati da un meccanismo d'azione comune che implica un legame con recettori specifici di natura proteica situati all'interno delle cellule bersaglio. Il complesso ormone-recettore influenza l'attività genetica incrementando la sintesi delle proteine. Il risultato complessivo è un aumento della velocità di crescita e un maggior fabbisogno di energia, che spiega la diminuzione della deposizione di grasso (Swenson *et al.*, 2002).

Il DES, che è tra gli estrogeni di sintesi il più usato per il suo basso costo, se somministrato per lunghi periodi a basse dosi (0,1-2 ng per kg di peso) provoca nell'animale da esperimento alterazioni istologiche nel fegato, nel rene, nei tubuli seminiferi e negli spermatozoi, inducendo seri disturbi delle funzioni riproduttive. Se somministrato a dosi più elevate, anche solo per 5-6 giorni durante periodi critici della gravidanza, provoca nella prole effetti teratogeni sull'apparato urogenitale e sterilità (www.nuovaitaliamedica.it).

Herbst e coll., all'inizio degli anni '70 trovarono un'aumentata incidenza di adenocarcinomi della vagina e del collo dell'utero nelle ragazze adolescenti le cui madri avevano assunto durante la gravidanza il DES o altri estrogeni a esso chimicamente correlati, prescritti dai ginecologi di allora per una opinabile e comunque mai dimostrata azione antiabortiva di queste sostanze.

Nel 1979 venne dimostrata l'attività cancerogena del DES e da allora sono stati progressivamente banditi tutti gli stilbenici. Attualmente il loro impiego è

rigorosamente vietato sia nella Comunità Europea che negli USA e ne è proibita anche la produzione, commercializzazione e detenzione (D.L. n. 118 del 27 gennaio 1992).

Dagli anni Ottanta gli stilbeni, presenti solamente nel mercato nero, sono stati associati ad ormoni steroidi sessuali tanto che, in quegli anni, oltre il 50% dei prodotti per iniezione sequestrati nei Paesi Europei conteneva un *cocktail* di entrambi i composti. Gli ormoni steroidei naturali (estradiolo, progesterone e testosterone) sono sostanze normalmente presenti nell'organismo animale. Gli steroidi di sintesi possono essere composti in grado di liberare in vivo l'ormone naturale (estradiolo benzoato, testosterone palmitato) oppure molecole che mimano l'attività degli ormoni naturali ma sono soggette a più lenta metabolizzazione (etilestradiolo, metiltestosterone, trenbolone). L'effetto anabolizzante è collegato al miglioramento dell'efficienza di conversione dell'alimento; ciò è dovuto a ritenzione di azoto nell'organismo, con aumento nelle carni della parte magra rispetto alla deposizione di grasso (Hafez, 1984). L'utilizzo di questi composti migliora la conformazione delle carcasse, le rende più magre ed aumenta quindi la resa al macello, inoltre diminuisce il costo alimentare per unità di prodotto e riduce la mortalità dei vitelli grazie alla loro proprietà immunostimolante. Per ottenere tali effetti sono necessarie piccole dosi somministrate per periodi prolungati, per questo motivo l'impianto sottocutaneo si presta particolarmente a questi trattamenti.

L'impiego di anabolizzanti steroidei nella pratica zootecnica pone una serie di problemi legati principalmente alla presenza nelle carni di residui degli ormoni impiegati, in particolare di quelli di sintesi, che vengono metabolizzati nel fegato in misura minore rispetto agli steroidi naturali. Anche questi ultimi, comunque, a dosaggi elevati come spesso avviene nell'impiego non controllato degli anabolizzanti, sembrano essere in grado di favorire nell'uomo l'insorgenza di forme tumorali specifiche e indurre modificazioni morfologiche e funzionali in particolare nella fascia di età in cui la produzione endogena di ormoni è più debole come nella pubertà. A tale proposito, qualche decennio fa, ha fatto scandalo il caso di bambini che presentavano ginecomastia (crescita del seno) dovuta all'ingestione di carne di polli trattati con estrogeni (Pace V., Settineri D. 1996). Per questi motivi, nel 1987, l'UE vieta l'impiego anabolizzante degli steroidi sessuali.

In Italia l'utilizzo di queste sostanze è previsto solo su animali d'azienda non all'ingrasso al fine di trattamenti terapeutici, sincronizzazione del ciclo estrale,

interruzione di gestazione indesiderata, miglioramento della fertilità e preparazione per l'impianto di embrioni. Negli USA queste sostanze sono consentite, senza obbligo di rispettare i tempi di sospensione per gli steroidi naturali e con tempi di sospensione di 60-65 gg dall'impianto (in genere nel sottocute dell'orecchio) per gli steroidi di sintesi (www.farmacovigilanza.org).

Negli anni '90 si è avuta la scomparsa degli stilbenici dal mercato nero europeo e la comparsa di fiale contenenti gli ormoni steroidi sessuali, variamente miscelati e spesso combinati con farmaci del *doping* sportivo. Negli stessi anni si va largamente affermando il trattamento per via orale con β -agonisti come anabolizzanti per animali destinati alla produzione di carne.

I β -agonisti sono sostanze di sintesi strutturalmente simili all'adrenalina e noradrenalina, epinefrine naturali liberate dagli organismi animali in situazione di stress, quali la paura, il combattimento o la fuga da predatori. Si legano a recettori cellulari in sostituzione di adrenalina e noradrenalina provocando una serie di modificazioni metaboliche che incidono principalmente sui processi di proteosintesi e lipolisi. Possono portare all'aumento del contenuto proteico delle masse muscolari fino al 40% e alla riduzione del contenuto di grasso della carcassa anch'esso fino al 40%. Inoltre conferiscono uniformità alla mandria tanto che alcuni β -agonisti possono rientrare nella categoria di "ripartitori di crescita" (Courtheyn, 2002).

I β -agonisti di sintesi sono da tempo largamente utilizzati in medicina umana e veterinaria per la terapia di affezioni respiratorie, per il rilassamento della muscolatura uterina, la prevenzione degli aborti e come stimolatori della funzione cardiaca. La sostanza maggiormente utilizzata, sia in terapia sia come anabolizzante zootecnico, è il clenbuterolo, seguito dal cimaterolo. L'impiego di tutti i β -agonisti di sintesi, al di fuori dell'uso strettamente terapeutico, è tassativamente vietato nei paesi dell'Unione Europea e nella grande maggioranza degli altri stati per i possibili effetti collaterali sia a carico del cuore che viene iperstimolato sia del sistema nervoso centrale su cui il clenbuterolo, l'unico β -agonista in grado di superare la barriera ematoencefalica, può agire in modo indiretto. Ciò avviene soprattutto se non vengono rispettati i tempi di sospensione previsti per queste sostanze prima della macellazione (Pace e Settineri, 1996). I residui nelle produzioni animali possono dare sintomatologia di tipo acuto nel consumatore che ha ingerito notevoli quantità di residuo (tremori, tachicardia, cefalea,

interferenza con il parto nella donna) o di tipo cronico, quali una possibile attività mutagena e/o cancerogena (Courtheyn, 2002).

A seguito di forti controlli sui β -agonisti oggi prevale l'impiego di steroidi sessuali naturali e di glicocorticoidi.

I corticosteroidi (glicocorticoidi, cortisonici) sono composti frequentemente usati in medicina umana e veterinaria spesso in associazione con altre sostanze, quali antibiotici o β -agonisti. I cortisonici illegalmente impiegati sono quelli fluorati (desametasone, triamcinolone, flumetazone) o quelli del gruppo del prednisone (Courtheyn *et al.*, 2002). Questa categoria di sostanze verrà descritta nel capitolo 1.3.

Per completare la panoramica delle sostanze utilizzate in modo illecito da menzionare è la somatotropina o ormone della crescita (GH). Si tratta di una sostanza secreta dall'ipofisi, di natura proteica e la sua secrezione è regolata a livello ipotalamico dal GH *releasing factor* e inibita dalle somatostatine. Il livello di tutti questi ormoni è a sua volta regolato da una rete di neurotrasmettitori. Attualmente l'ormone GH può essere riprodotto facilmente in laboratorio con la tecnica del DNA ricombinante. Gli organi bersaglio dell'ormone somatotropo sono molteplici e includono fegato, tessuto muscolare, ossa e tessuti adiposi. Gli effetti fisiologici sui ruminanti consistono principalmente nell'aumento della lipolisi e della sintesi delle proteine, nella diminuzione della degradazione proteica, nell'incremento dello sviluppo dell'apparato scheletrico e della suddivisione cellulare (Breier *et al.*, 1991).

Negli animali in lattazione la somministrazione di somatotropina bovina (BST: *Bovine Somatotropin*) aumenta la produzione di latte portando ad un aumento della potenza cardiaca e quindi dell'irrorazione ematica alla mammella, migliora l'assorbimento dei principi nutritivi e riduce la deposizione di grasso in modo da rendere disponibile glucosio e aminoacidi per la sintesi dei componenti del latte (Pace V., Settineri D. 1996). L'impiego della BST nelle bovine da latte è proibito nell'Unione Europea mentre è autorizzato negli USA dal 1993.

Nella Tabella 1.1 sono riassunte le categorie di sostanze anabolizzanti soggette ad utilizzo illecito:

Tabella 1.1. Principali categorie di sostanze anabolizzanti utilizzate in modo illecito.

<i>Categoria</i>	<i>Composti</i>
B2-agonisti	Clenbuterolo, mapenterolo, salbutamolo ecc..
Sostanze antiormonali	Tiouracile ed analoghi
Ormoni steroidi sessuali naturali e di sintesi	Estradiolo, progesterone, testosterone, etinilestradiolo, metiltestosterone, trembolone acetato, boldenone
Stilbenici (simil-steroidi di sintesi)	Dietilstilbestrolo. Dienestrololo, esestrololo
Cortisonici	Desametasone, triamcinolone
Somatotropine	BST (Somatotropina bovina)

1.2 CENNI SUGLI STEROIDI

Gli steroidi (dal greco *stereos*= solido) costituiscono un gruppo di composti molto diffusi in natura che, dal punto di vista chimico-strutturale, contengono un sistema tetraciclico di atomi di carbonio (ciclopentanoperidrofenantrene).

Gli steroidi si possono suddividere in 9 classi principali: steroli, acidi biliari, ormoni corticosurrenali (glicocorticoidi), ormoni sessuali, glucosidi cardiaci ed agliconi, saponine e sapogenine, ecdisoni, vitamina D e trimetilsteroli (www.minerva.unito.it/chimica&industria/dizionario).

1.3 GLICOCORTICOIDI

La corteccia surrenale dell'uomo e degli animali sintetizza, a partire dal colesterolo, numerosi composti di natura steroidea. Questi composti possono essere distinti in 3 gruppi, in base alle loro attività fisiologiche, e precisamente: *glicocorticoidi* (che agiscono soprattutto sul metabolismo dei carboidrati, dei grassi, delle proteine ed esercitano attività antinfiammatoria), *mineralcorticoidi* (che agiscono sul ricambio dell'acqua e degli elettroliti) e *ormoni surrenali sessuali* (ad attività androgenica ed estrogenica).

Il cortisolo (idrocortisone) ed il corticosterone sono i principali glicocorticoidi della corteccia surrenale, prodotti entrambi in notevoli quantità nei ruminanti.

Gli effetti dei glicocorticoidi possono essere così riassunti:

- ***Metabolismo dei carboidrati e proteine:***
 - Aumento della neoglucogenesi;
 - Diminuzione della utilizzazione periferica del glucosio;
 - Antagonismo nei confronti dell'insulina;
 - Aumento del catabolismo proteico (antianabolismo);
 - Riduzione depositi di grasso.
- ***Effetti antinfiammatori:***
 - Riduzione del numero dei linfociti e degli eosinofili circolanti ed immobilizzazione dei linfociti tissutali;
 - Riduzione dell'intensità dei processi infiammatori locali;

- Possibile depressione della sintesi anticorpale;
- Effetto antiallergico.
- ***Inibizione della secrezione dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH).***

Gli effetti dei mineralcorticoidi sono:

- ***Aumento della ritenzione di sodio, cloro ed acqua.***
- ***Aumento dell'escrezione di potassio, fosforo e calcio.***

I corticosteroidi naturali possono essere estratti dalle ghiandole surrenali di vari animali ed utilizzati per le loro proprietà farmacologiche. Opportune modificazioni apportate a queste molecole hanno consentito di produrre un gran numero di steroidi sintetici con caratteristiche specifiche e utilizzabili dal punto di vista farmacologico e terapeutico in campo umano e veterinario.

Il maggior uso dei corticosteroidi è relativo alle loro proprietà antinfiammatoria e immunosoppressiva. Essi deprimono le manifestazioni cliniche di molti disturbi di varia natura quali : malattie reumatiche, disturbi gastro-intestinali, malattie della pelle, renali, asma, disordini cardiaci, trapianti di organi e tessuti, malattie della vista e neurologiche. L'inconveniente del loro uso terapeutico è la vasta gamma di effetti secondari che si possono manifestare. Il trattamento con cortisonici può avvenire tramite somministrazione orale, intramuscolare, intravenosa, sottocutanea o tramite applicazione locali (Courtheyn *et al.*,2002). Nonostante l'utilizzo di un'ampia dose di glicocorticoidi di sintesi riduca la velocità di crescita degli animali e porti ad atrofia dei muscoli, il desametasone e altri corticosteroidi sono frequentemente usati illegalmente a basse dosi come promotori di crescita negli allevamenti di bestiame. Originariamente erano spesso combinati con β -agonisti e/o steroidi mentre recentemente i corticosteroidi sono impiegati da soli. Basse dosi di glicocorticoidi risultano, infatti, aumentare l'ingestione di cibo da parte dell'animale, accrescere il peso vivo, ridurre gli indici di conversione, ridurre la ritenzione azotata, aumentare la ritenzione di acqua e contenere la deposizione di grasso (Istasse L.,1989).

Una lunga lista di glicocorticoidi si trovano in preparazioni illegali o come residui sulle produzioni animali. Questa include: desametasone, betametasone, prednisolone, metilprednisolone, prednisone, flumetasone, isofluprenone e triamcinone acetato. Inoltre residui di esteri di cortisonici endogeni sono stati rilevati da controlli effettuati in matrici organiche (Courtheyn *et al.*,2002).

1.3.1 DESAMETASONE

Il desametasone è considerato uno dei corticosteroidi più potenti (circa 30 volte più attivo del cortisone) ed è caratterizzato da un'azione antinfiammatoria prolungata e da un'attività farmacologia a lenta insorgenza

L'utilizzo in Medicina Veterinaria del desametasone è consentito da parecchi anni. Sono molteplici, infatti, le specialità medicinali autorizzate che contengono il desametasone (sotto forma di sali e/o esteri) da solo o in associazione con altri principi attivi. Le indicazioni terapeutiche sono diverse e riguardano, in generale, trattamenti locali o generali. In particolare si possono impiegare le specialità medicinali veterinarie contenenti il desametasone per i trattamenti di stati infiammatori (artriti, borsiti, tendiniti, tenosinoviti, periartriti), chetosi primarie, paresi puerperali atipiche, enfisema polmonare, sindromi allergiche, shock, affezioni cutanee, malattie degli edemi dei suinetti, stress (da cattura, da trasporto, da modificazione dei gruppi e dei regimi alimentari, climatici, da trattamenti antiparassitari e vaccinazioni) e per gli stati di shock di varia natura (Dizionario del medicinale veterinario, 2003).

Il desametasone è di norma somministrato per fini terapeutici, per via intramuscolare o intravenosa a dosi variabili in funzione dei differenti tipi di sali e/o esteri (orientativamente 0,02-0,06 mg/kg p. v. di principio attivo) (Gabor et al., 1999).

Spesso, in modo illecito, il desametasone viene utilizzato per la sua presunta attività anabolizzante che indica la proprietà di talune sostanze (ormoni steroidei naturali e di sintesi, tireostatici e altri composti) di aumentare la ritenzione di azoto e, di conseguenza, di aumentare la sintesi proteica (anabolismo proteico).

I glicocorticoidi non stimolano l'anabolismo proteico anzi, al contrario, favoriscono il catabolismo a livello dei tessuti linfatici, del muscolo, del connettivo, dei tessuti adiposi e dell'epidermide. Somministrazioni prolungate, oppure ad elevate dosi, possono addirittura portare ad atrofia muscolare e l'effetto catabolico provoca una diminuzione del tasso di accrescimento negli animali (Compendium of Veterinary Products, 1991).

Da alcuni studiosi (Schimmer and Parker, 1996) risulta, a conferma di quanto detto sopra, che i glicocorticoidi, antagonizzando gli effetti dell'insulina, aumentano la produzione di glucosio a partire da aminoacidi (gluconeogenesi) a discapito della sintesi proteica (effetto contrario quindi a quello degli anabolizzanti). Un altro effetto del desametasone e dei glicocorticoidi in generale è quello di provocare: una ritenzione di sodio ed eliminazione di potassio e calcio, il riassorbimento di cloro e sodio e quindi,

l'aumento del volume dei liquidi extracellulari. Una recente pubblicazione riporta però che il desametasone, a differenza di altri cortisonici ora di interesse storico, ha proprietà sodio-ritentive deboli; di conseguenza gli animali trattati a scopo terapeutico con questo cortisonico non hanno carni che possano ritenersi "gonfiate". Questi trattamenti, se usati illecitamente per una lunga durata prima della macellazione (ultimi 30-40 giorni di allevamento) aumentano fortemente la ritenzione idrosalina, con aumento di volume dei liquidi extracellulari e quindi del peso della carcassa, ma con diminuzione delle caratteristiche qualitative della carne e del valore commerciale della stessa a causa delle rilevanti perdite di liquidi (viene alterata la capacità di ritenzione idrica della carne con conseguente abnorme "sgocciolamento" delle carcasse) (Ballarini G., 2005).

1.4 ORMONI STEROIDI SESSUALI

Gli ormoni sessuali sono prodotti dalle ghiandole del sistema riproduttivo del maschio e della femmina e la loro sintesi viene modulata dagli ormoni ipofisari.

Vi sono tre classi di ormoni steroidei sessuali: *Estrogeni* (17 β Estradiolo, Estrone, Estriolo), *Gestageni o Progestinici* (Pregnenolone, Progesterone) e *Androgeni* (Testosterone, Androstenedione, Deidroepiandrosterone, Diidrotestosterone).

1.4.1 ESTROGENI

La biosintesi degli estrogeni nei mammiferi si verifica principalmente nelle ovaie ed è regolata dagli ormoni gonadotropi (FSH e LH) dell'ipofisi anteriore. Questi ormoni ipofisari sono controllati da neuro-ormoni ipotalamici che a loro volta sono sottoposti a regolazione mediante un meccanismo di retroazione da parte dell'estradiolo e del progesterone. Le piccole quantità di estrogeni che vengono escrete nei maschi sono di origine soprattutto surrenalica. Gli estrogeni causano molteplici risposte tissutarie:

1. Stimolano l'accrescimento delle ghiandole endometriali necessarie al mantenimento dello zigote nelle fasi che precedono l'impianto;
2. stimolano l'accrescimento dei dotti della ghiandola mammaria;
3. innescano l'attività sessuale;
4. regolano la secrezione di gonadotropine;
5. sono responsabili del rilascio di prostaglandine dall'utero, determinando la regressione del corpo luteo;

6. tendono a mantenere una normale calcificazione delle ossa e arrestano l'accrescimento delle ossa lunghe;
7. sono epiteliotropi;
8. promuovono l'anabolismo proteico.

L'estradiolo 17β e l'estriolo sono i principali estrogeni negli animali domestici non gravidi e gravidi rispettivamente (Swenson *et al.*, 2002).

Il 17β -estradiolo viene prodotto dall'ovaio, dalla placenta ed in piccole quantità dalla corteccia surrenale, nonché dalle conversioni periferiche del testosterone. E' questo il motivo per cui anche nella donna in menopausa, quando la funzionalità ovarica diminuisce e nell'uomo, sono rilevabili, anche se in piccole quantità, livelli circolanti di estradiolo. L'estradiolo in circolo è veicolato per la maggior parte legato a una proteina detta SHBG (*Sex Hormone Binding Globuline*), la restante parte è coniugata e piccole quote sono libere. L'estradiolo coniugato come solfato e glucuronato viene poi escreto con la bile e con le urine. La secrezione di questo ormone è modulata dalle gonadotropine ipofisarie (FSH e LH) ed ha un andamento caratteristico, con picco a metà ciclo, 24 ore dopo il picco ovulatorio dell'LH. Nel periodo prepuberale l'estradiolo è responsabile nella donna del normale sviluppo dei caratteri sessuali secondari e delle ghiandole mammarie. Durante l'età feconda è responsabile delle modificazioni dell'endometrio, così come della ritenzione idrosalina, dei cambiamenti in quantità del muco cervicale e della motilità tubarica. Durante la gravidanza l'estradiolo viene prodotto dal corpo luteo (fino alla sesta settimana), poi, con il progredire della stessa, dalla placenta.

L'estriolo è prodotto durante la gravidanza in concentrazione crescente e la sua sintesi avviene essenzialmente nell'unità fetoplacentare. Le ghiandole surrenali fetali producono steroidi idrossilati che sono metabolizzati ad estriolo attraverso le cellule del trofoblasto placentare. L'estriolo prodotto dalla placenta è coniugato nel fegato materno per formare glucuronidi e solfati. La produzione di estriolo durante la gravidanza normale è costantemente crescente; bassi livelli di tale steroide si possono tuttavia osservare in caso di mancanza dell'enzima solfatasi placentare, sebbene il feto in questa condizione si sviluppi normalmente. Il fatto che l'origine dei precursori dell'estriolo sia soprattutto il surrene fetale consente di spiegare l'esistenza di un ritmo biologico della concentrazione di questo steroide nel siero materno (www.redilab.it).

L'estradiolo, somministrato mediante impianto sottocute da solo o in associazione con trenbolone acetato, sembra aumentare le performance produttive di vitelloni in età prepubere (Renaville e coll.,1988).

Il 17β -estradiolo insieme ad altri ormoni della crescita utilizzati per la produzione di carne (progesterone, testosterone, zeranolo ed acetato di trenbolone e di melengesterololo) sono stati ritenuti dannosi per il sistema endocrino, possono influire sullo sviluppo ed avere effetti sul sistema immunitario, neurobiologici, immunotossici, genotossici e cancerogeni. Il 17β -estradiolo è stato considerato come sostanza cancerogena completa (Zeppelli, 2000).

1.5 LEGISLAZIONE VIGENTE

Nel corso degli ultimi anni la fiducia dei consumatori nella qualità e nella sicurezza dei prodotti animali è stata a volte messa a dura prova dal succedersi di crisi sanitarie in questo settore. Per far fronte a questo problema l'attività di controllo si è intensificata in questi ultimi anni grazie all'introduzione del Regolamento CEE n. 178/2002. Il principio fondamentale introdotto da questo regolamento è stato il concetto di filiera (*to farm to fork*) in grado di consentire la tracciabilità/rintracciabilità dei prodotti animali e quindi di permettere l'attività di controllo e vigilanza lungo l'intera catena alimentare. La stessa legislazione stabilisce i principi generali per i controlli effettuati dalle autorità nazionali e istituisce l'autorità europea per la sicurezza alimentare. Sulla base di questa normativa, dal 1° gennaio 2005, le aziende che producono alimenti e mangimi devono garantire la tracciabilità di tutti i prodotti alimentari, dei mangimi per animali e dei loro ingredienti lungo la filiera alimentare. Dal 2006 sono stati vietati l'utilizzo degli additivi nei mangimi, finora considerati dalla legge normali costituenti degli stessi.

Per quanto riguarda l'utilizzo di anabolizzanti con il Decreto Legislativo n. 336 pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 230 del 30 settembre 1999, in Italia sono state attuate le direttive 96/22/CE e 96/23/CE. Queste direttive si riferiscono al divieto di utilizzazione di composti ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze β -agoniste nelle produzioni di animali e alle misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti. In particolare il decreto vieta il trasferimento di stilbeni, derivati di stilbeni, loro sali ed esteri nonché tireostatici, sostanze β -agoniste e ad azione estrogena, androgena e gestagena, salvo che per l'esercizio di attività autorizzate concernenti la ricerca o la produzione di medicinali per uso umano o veterinario. Vieta inoltre la somministrare agli animali d'azienda medicinali contenenti sostanze ad azione tireostatica, estrogena, androgena o gestagena, sostanze β -agoniste, nonché qualsiasi altra sostanza ad effetto anabolizzante. Consente tuttavia la somministrazione a scopo terapeutico di medicinali veterinari contenenti: a) estradiolo-17 β , testosterone, progesterone o derivati, ma solo se effettuati da un veterinario e su animali di azienda chiaramente identificati; b) sostanze β -agoniste ovvero trenbolone allilico da somministrare per via orale ad equidi; c) sostanze β -agoniste, alle vacche al momento del parto, sotto forma di un'iniezione per l'induzione della tocolisi. I trattamenti con estradiolo-17 β , testosterone, progesterone o derivati, devono essere registrati dal veterinario che ha in cura gli animali su un registro

autenticato dal servizio veterinario dell'unità sanitaria locale e conservato per almeno cinque anni nell'allevamento, unitamente a copia delle ricette rilasciate dal veterinario. Gli animali trattati non possono essere macellati prima che sia trascorso il tempo di sospensione previsto per il medicinale veterinario utilizzato. Il divieto riguarda anche le importazioni da Paesi terzi inseriti negli elenchi comunitari e si estende ad animali provenienti da aziende in cui siano state somministrate sostanze vietate. Il decreto prevede poi un sistema di autocontrollo e corresponsabilità degli operatori che si realizza attraverso un sistema obbligatorio di registrazione presso il servizio veterinario dell'unità sanitaria locale competente per il territorio. La normativa prevede, inoltre, un sistema di controllo ufficiale eseguito dalle autorità competenti senza preavviso (Zeppelli, 2002).

In osservanza del summenzionato decreto sorge un Piano Nazionale Residui (PNR) con lo scopo di sorvegliare il processo di allevamento e di prima trasformazione dei prodotti di origine animale per la ricerca dei residui e di talune sostanze negli animali vivi, nei loro escrementi e nei liquidi biologici, nei tessuti, nei prodotti di origine animale, nei mangimi e nell'acqua di abbeveraggio. Le sostanze sottoposte al PNR sono distinte in due classi: Categoria A -Sostanze a effetto anabolizzante e sostanze non autorizzate (stilbeni, loro derivati e loro sali e esteri, agenti antitiroidei, steroidi, lattoni dell'acido resorcilico compreso lo zeranolo e β -agonisti) e Categoria B- Medicinali veterinari e agenti contaminanti (sostanze antibatteriche, antielmintici, coccidiostatici, carbammatepiretroidi, tranquillanti, antinfiammatori nonsteroidi, altre sostanze esercitanti un'attività farmacologica, agenti contaminanti per l'ambiente, composti organoclorurati compresi i PCB, organofosforati, elementi chimici, micotossine e coloranti). Il piano di sorveglianza dei residui mira ad esaminare e porre in evidenza le ragioni dei rischi per la salute pubblica di residui nei prodotti alimentari di origine animale.

Il Regolamento CEE n. 508/99 che ha modificato il Reg. CEE n. 2377/90 con continui aggiornamenti, stabilisce i limiti massimi di residui di medicinali veterinari negli alimenti di origine animale. Nella Gazzetta Ufficiale n. 36 del 10/05/199 della Comunità Europea relativa a questo regolamento, vengono riportati vari allegati dove vengono previsti gli MRL (*Maximun Residue Limit*) dei farmaci ad uso veterinario senza cui la sostanza non può venire utilizzata. Le industrie farmaceutiche devono così stabilire i tempi di sospensione adeguati per ogni molecola farmacologica ad uso veterinario in modo che, quando l'alimento di origine animale perviene al consumatore,

contenga residui in concentrazione non superiori ai MRL consentiti. La determinazione dei limiti di tolleranza residuale nelle derrate, oltre al vantaggio di garantire la salute del consumatore e la libera circolazione dei prodotti alimentari in ambito comunitario, può fare ritornare gli allevatori ad una zootecnia tradizionale con una significativa diminuzione dell'impiego di farmaci e additivi. Tuttavia allo stato attuale non si conoscono ancora specificatamente i possibili effetti tossici derivati dall'assunzione di residui di diverse sostanze da parte dell'uomo. E' auspicabile, pertanto, l'applicazione di norme sempre più severe che prevedano più incisivi e rigorosi controlli su: principi attivi e mangimi impiegati nel bestiame, mercato clandestino dei farmaci, utilizzo illecito di sostanze anabolizzanti e mancato rispetto dei tempi di sospensione, per limitare già a monte la presenza di residui negli alimenti a tutela della salute pubblica (www.farmacovigilanza.org).

2. OBIETTIVI

Lo studio rientra in un programma di ricerca finanziato dal Ministero della Salute con lo scopo di determinare una metodica di indagine sui trattamenti illeciti dei bovini da carne puntando alla valutazione di una serie molto ampia di indicatori che comprende: parametri zootecnici, comportamentali, fisiologici e patologici. La presente prova ha avuto come obiettivo quello di valutare gli effetti di un uso non terapeutico di desametasone e dello stesso principio attivo associato ad un estrogeno ad azione anabolizzante (estradiolo) in bovini all'ingrasso. Il protocollo sperimentale seguito nel presente lavoro ha preso in considerazione indicatori zootecnici come le prestazioni produttive *infra-vitam* (accrescimento, ingestione) e il comportamento alimentare e sociale dei bovini.

3. MATERIALE E METODI

3.1 ANIMALI E STABULAZIONE

La prova sperimentale è stata effettuata presso un allevamento situato nel comune di Brugine (Padova), nei mesi di novembre e dicembre 2005 e ha avuto una durata complessiva di 6 settimane, precisamente dal 28/11/2005 all' 8/01/2006.

Sono stati impiegati 24 vitelloni meticci francesi già presenti nell'allevamento all'inizio dello studio.

Una settimana prima dell'inizio della prova gli animali sono stati pesati e assegnati a 9 gruppi omogenei per peso:

- 18 animali sono stati divisi in 6 box da 3 capi ciascuno (box 1, 2, 3, 4, 5, 6);
- 6 animali sono stati divisi in 3 box da 2 capi ciascuno (box 7, 8, 9).

Ciascuno box era provvisto di pavimentazione con lettiera permanente e di autocattura per facilitare la somministrazione dei trattamenti ormonali e le operazioni di prelievo sugli animali. Gli animali sono stati alimentati con dieta unifeed i cui ingredienti e composizione chimica sono riportati nelle Tabelle 3.1 e 3.2.

Tabella 3.1 Composizione della dieta dei vitelloni in prova.

Ingredienti:	Kg/capo/d/t.q.
Silomais	“ 5
Farina di mais	“ 3,5
Polpe di bietola	“ 1,3
Crusca	“ 1
Soia	“ 0,9
Melasso	“ 0,8
Paglia	“ 0,7
Integratore vitaminico-minerale	“ 0,4
Totale	“ 13,6

Tabella 3.2 Analisi chimica della dieta dei vitelloni in prova

Composizione chimica:		
Sostanza secca	%	55,7 ± 2,6
Proteina grezza	% DM	13,0 ± 0,6
Estratto etereo	% DM	3,2 ± 0,2
Ceneri	% DM	5,7 ± 0,3
NDF (Neutral Detergent Fibre)	% DM	31,1 ± 1,7
NSC (Nonfibrous Carbohydrates Content)	% DM	46,9 ± 1,5
Amido	% DM	34,6 ± 1,5

3.2 TRATTAMENTO ORMONALE

La prova ha avuto inizio il 28/11/05 con il primo giorno di trattamento che è stato somministrato giornalmente in mangiatoia, attraverso l'uso di annaffiatoi per consentire l'omogenea distribuzione del prodotto. La somministrazione è stata effettuata per 43 giorni ed è stata sospesa l'8/01/06, giorno antecedente alla macellazione.

La sperimentazione è stata suddivisa in tre diverse tesi:

- **TESI C : controllo** (box 3, 4 e 9)
Gli animali dei box di controllo non sono stati sottoposti ad alcun trattamento e il loro unifeed è stato bagnato con 0,5 litri/capo di acqua.
- **TESI D : desametasone** (box 1, 2 e 7)
Il trattamento con desametasone consisteva in 38 µl/capo/giorno di Desashock® diluito in 0,5 litri di acqua/capo (pari a 1ml/capo di principio attivo).
- **TESI DE : desametasone + estradiolo** (box 5, 6 e 8)
Nella tesi DE il desametasone è stato impiegato con la medesima modalità della tesi D mentre l'estradiolo è stato somministrato sottocute iniettando una quantità di ESTRADIOLO AMSA pari a 4 ml/capo per 3 volte nell'arco della prova ad intervalli di 15 giorni.

3.3 RILIEVI SPERIMENTALI

Durante la prova sperimentale sono stati rilevati il peso individuale dei vitelloni e l'ingestione media settimanale per tutti i 9 box. Soltanto nei primi 6 box si è proceduto, inoltre, allo studio di altri parametri, quali il comportamento sociale, il comportamento alimentare e l'attività di selezione dell'alimento e la frequenza respiratoria. Oltre ai rilievi sopra citati, negli stessi box, si è provveduto alla raccolta di campioni di dieta, relativo residuo e campioni di feci.

3.3.1 Peso

Il peso di ogni animale è stato registrato 3 volte nell'arco della prova e precisamente: il giorno di inizio del trattamento, dopo tre settimane di trattamento (giorno 22) e alla fine della prova (giorno 44). Il peso è stato rilevato con una bilancia munita di sistema di bloccaggio dell'animale.

3.3.2 Controllo dell' ingestione

Il controllo dell'ingestione per box è stato calcolato settimanalmente come differenza media tra la quantità di alimento distribuito e quella residua in mangiatoia 24 ore dopo la somministrazione. I campioni di dieta e di residuo sono stati analizzati ogni settimana tramite strumentazione NIRS Foss NIRSystem 500 (Berzagli *et al.*, 1999) per valutarne la composizione chimica di sostanza secca, proteina grezza, estratti eterei, NDF, ADF e amido.

3.3.3 Comportamento e selezione alimentare

Durante il periodo della prova e precisamente i giorni 9, 25 e 39 dall'inizio dei trattamenti, sono stati dedicati alle osservazioni del comportamento alimentare degli animali. In tali giornate le quantità di unifeed distribuite in mangiatoia sono state pesate al momento dello scarico (T 0). Dopo 8 ore (T 8) l'alimento ancora presente in ciascuna mangiatoia è stato raccolto, pesato e campionato dopo adeguato rimescolamento, raccogliendo un campione di circa 1 kg (Leonardi e Armentano, 2003). Successivamente il residuo è stato ripesato e riposto in mangiatoia. Il residuo ancora presente in ogni mangiatoia dopo 24 ore (T 24) è stato nuovamente raccolto, pesato e campionato. In questo modo è stato possibile determinare la quantità di alimento ingerito dagli animali nel corso delle prime 8 ore successive allo scarico della dieta in

mangiatoia e nelle restanti 16 ore della giornata. I campioni alimentari prelevati allo scarico e dopo 8 e 24 ore dallo stesso, hanno permesso di valutare l'eventuale attività di selezione degli animali verso determinati componenti chimici e/o fisici della dieta.

Per quanto riguarda le frazioni chimiche i suddetti campioni sono stati analizzati tramite strumentazione *NIRS Foss NIRSSystem 500* (Berzaghi *et al.*, 1999) per valutarne il contenuto di proteina grezza, NDF e amido. Una quota degli stessi campioni è stata invece sottoposta ad analisi particellare meccanizzata tramite l'utilizzo di un sistema di setacci derivato dal *Penn State Forage Particle Separator* (Nasco, Fort Atkinson, WI, USA). Il sistema analitico, provvisto di 4 setacci di forma quadrata con diametri rispettivamente di 19mm, 13 mm, 8 mm, 4 mm e di un fondo, eseguiva 20 oscillazioni per ciascun lato per un totale di 120 sollecitazioni secondo una procedura analoga a quella descritta da Lammers *et al.* (1996).

3.3.4 Osservazioni comportamentali

Nelle stesse giornate dedicate al comportamento alimentare è stato osservato anche il comportamento sociale dei vitelloni. Le attività comportamentali sono state rilevate dalle ore 9:30 (momento dello scarico dell'alimento) alle ore 17:30, utilizzando un metodo a scansione individuale *Scan-Sampling* con un intervallo di 5 minuti da una scansione all'altra (Martin e Bateson, 1993). In ogni sessione è stato registrato il numero dell'animale considerato, la sua posizione (decubito o stazione) e la sua attività al momento della scansione (rumina, mangia, inattivo e altro). Sotto la denominazione "altro" si è inteso principalmente attività di gioco o pulizia dell'animale verso se stesso o ad altro animale. Le attività di scontri, monte e abbeverata sono state registrate come numero di eventi, in continuazione, indipendentemente dagli intervalli di scansione utilizzando il metodo di osservazione *Behaviour Sampling* (Martin e Bateson, 1993).

3.3.5 Frequenza respiratoria

Sempre in corrispondenza delle osservazioni comportamentali, del personale esperto ha rilevato la frequenza respiratoria individuale dei vitelloni, ponendosi davanti o dietro l'animale, alla sua sinistra e contando gli atti respiratori nell'arco di un minuto (Messieri e Moretti, 1963).

3.3.6 Prelievo di feci

Il prelievo delle feci è stato effettuato 4 volte nell'arco della prova e precisamente il giorno 10, 19, 31 e 43 dall'inizio dei trattamenti. Le feci sono state prelevate dall'ampolla rettale dell'animale tramite l'utilizzo di un guanto ginecologico. Lo stesso giorno di prelievo le feci sono state catalogate secondo la loro consistenza utilizzando una scala di valori da 1 a 5 (1 = dura; 2 = molto consistente; 3 = soffice ma che conserva la sua forma; 4 = molle (tipo budino); 5 = liquida) (Grieshop *et al.*, 2002). Un'aliquota del campione è stata essiccata in stufa a 60°C per determinare il contenuto di sostanza secca fecale. Successivamente le feci sono state pesate e setacciate tramite due setacci, rispettivamente di 2,36 e 1,18 mm di diametro. Questa operazione è stata fatta manualmente con l'utilizzo di un getto d'acqua per consentire la setacciatura. I contenuti dei due setacci sono stati raccolti in nylon-bag, posti ad asciugare in stufa a 60°C per 48 ore e pesati alla fine della procedura.

3.4 ANALISI STATISTICA

I dati sperimentali sono stati elaborati mediante un modello statistico lineare che, per la maggior parte dei dati, ha tenuto conto della media generale, dell'effetto dei trattamenti alimentari, del box entro trattamento e dell'errore residuo. Per i dati individuali relativi al comportamento sociale e ad alcuni indicatori fisiologici, come la frequenza respiratoria, si è considerato anche l'effetto animale e il periodo di rilievo. I dati comportamentali sono stati trasformati da frequenza assoluta su numero di scan a minuti, attribuendo l'attività osservata all'intera durata dello scan. L'elaborazione statistica di queste variabili ha utilizzato l'opzione Repeated measurements di SAS (1990) e il giorno d'osservazione è stato considerato come ripetizione.

Tutte le analisi statistiche sono state realizzate con il programma PROC GLM del pacchetto statistico di SAS (SAS, 1990) e in tutti i modelli di elaborazione, la significatività del fattore trattamento è stata testata utilizzando come errore la varianza dell'effetto box entro trattamento. Per tutte le variabili analizzate, la devianza del fattore tesi è stata scomposta nel seguente set di confronti ortogonali:

$$C \text{ vs } [D + (DE)]/2$$

$$D \text{ vs } DE$$

I risultati sono stati considerati statisticamente significativi ad un livello di $P < 0,10$.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Performance di crescita

I dati relativi all'accrescimento degli animali nel corso della prova vengono illustrati nella Tabella 4.1. Il peso degli animali all'inizio della prova era ovviamente il più possibile simile tra le tesi a confronto, dato che gli stessi sono stati ripartiti omogeneamente tra i tre trattamenti.

Tabella 4.1 Performance di crescita dei vitelloni in prova.

	Unità	Trattamento			Significatività		RMSE ¹
		C	D	DE	C vs D+DE	D vs DE	
Parametro:							
Peso vivo:	kg						
- inizio	“	535,1	552,7	533,7	ns	ns	30,69
- giorno 21	“	561,0	584,1	571,8	ns	ns	37,24
- giorno 43	“	592,1	619,0	612,9	ns	ns	41,97
Accrescimento medio giornaliero	g/d						
- da 0 a 21giorni	“	1232,8	1497,3	1817,5	ns	ns	580,9
- da 22 a 43 giorni	“	1414,1	1588,4	1868,7	ns	ns	494,93
- da 0 a 43 giorni	“	1325,6	1543,9	1843,7	ns	ns	460,87
Ingestione di sostanza secca:	kg/d						
- da 0 a 21giorni	“	8,2	8,3	8,8	ns	ns	1,14
- da 22 a 43 giorni	“	9,4	9,5	11,6	ns	ns	1,70
- da 0 a 43 giorni	“	8,8	8,9	10,2	ns	ns	1,39
Indice di conversione:							
- da 0 a 21giorni		7.75	5.60	4.88	ns	ns	2.15
- da 22 a 43 giorni		6.76	6.24	6.21	ns	ns	1.25
- da 0 a 43 giorni		6.93	5.88	5.54	ns	ns	1.08

¹RMSE = root mean square error

Il peso degli animali è aumentato progressivamente nel corso della prova, ma non ha fatto rilevare differenze significative tra le tesi a confronto. Un analogo comportamento ha riguardato l'accrescimento medio giornaliero che, pur manifestando medie abbastanza dissimili tra i tre trattamenti, non ha fatto rilevare differenze significative tra gli stessi, a causa della elevata variabilità osservata entro ciascuna tesi. In generale entrambi i trattamenti sembrerebbero migliorare le performance di crescita rispetto al Controllo e sicuramente la tesi DE in modo più marcato. L'esecuzione di un confronto non ortogonale tra DE e C per i dati relativi all'accrescimento totale sostiene la precedente affermazione con un valore di $P < 0.04$. Suddividendo il periodo sperimentale in due fasi di simile durata, si nota come gli animali di tutte le tesi non modificano sostanzialmente il proprio ritmo di crescita che in generale risulta molto favorevole (Tabella 4.1).

Come già detto nell'introduzione, sembra che il trattamento con il desametasone in bovini da carne si risolva in risultati contrastanti. L'assenza di differenze, rispetto al Controllo per quanto riguarda l'accrescimento ponderale, era emersa in uno studio del 1993 effettuato da Renaville e collaboratori in cui gli Autori riportano un aumento non significativo dell'accrescimento giornaliero medio (+ 0,36 kg/d), ottenuto con trattamenti di desametasone intramuscolare (dosi non precisate) a tori di razza Blue Belga.

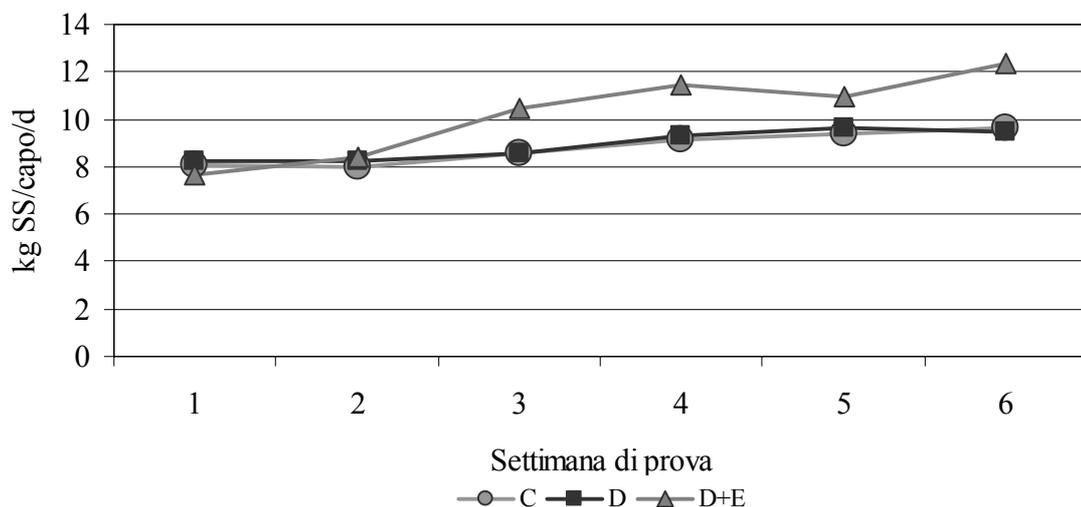
Nemmeno il trattamento descritto nel lavoro di Corah e coll. (1995) su coppie di vitelloni geneticamente identici in cui uno dei due veniva trattato con impianti di desametasone (100 mg) a 30 e 60 giorni dalla macellazione e l'altro fungeva da controllo, ha portato a miglioramenti del tasso di crescita. Anche in una recente ricerca effettuata da Tarantola e collaboratori (2004) su vitelli a carne bianca è stato osservato che l'effetto della somministrazione intramuscolare di basse dosi di desametasone non influenzava le prestazioni produttive. Tale risultato va comunque considerato in modo particolare rispetto a quanto ottenuto dal presente studio, in quanto il vitello a carne bianca è un animale più giovane e viene considerato un monogastrico funzionale per quanto riguarda il metabolismo di crescita.

Johnson e Silcox nel 1986 hanno evidenziato, invece, che 20 mg di desametasone somministrati per 84 giorni, due volte la settimana, a tori giovani di razza Angus diminuivano il loro accrescimento medio giornaliero. Al contrario, a conferma di una probabile attività anabolizzante del desametasone, uno studio effettuato da Istasse (1989) ha sottolineato un aumento dell'accrescimento ponderale, accompagnato da un

miglioramento dell'ingestione di alimento e dalla diminuzione dell'indice di conversione alimentare. Tale studio ha preso in considerazione due bovini gemelli omozigoti di razza Blue Belga di 14 mesi in cui uno riceveva quattro iniezioni, una a settimana, di basse dosi di desametasone (0,02 mg/kg), mentre l'altro era il controllo non trattato. Secondo Courtheyn e coll (2002) il trattamento con una bassa dose di glucocorticoidi aumenta l'ingestione e l'accrescimento ponderale, mentre riduce l'indice di conversione. Mc Curdy e coll. (2002) hanno riportato che iniezioni di 0,1 mg/kg di desametasone (ogni 28 giorni fino a 112 giorni di trattamento) aumentavano l'efficienza alimentare.

Nella presente ricerca, anche l'ingestione non ha manifestato un effetto positivo del trattamento con desametasone rispetto a quanto osservato con il Controllo. I dati della Tabella 4.1 e soprattutto il grafico 1, che riporta l'andamento del consumo alimentare nel corso delle 6 settimane di prova, rivelano la sostanziale corrispondenza dei valori osservati per queste due tesi.

Figura 1. Ingestione media di sostanza secca al giorno per capo durante le sei settimane di prova.



L'ingestione ha fatto osservare un aumento progressivo in tutte le tre tesi a confronto nel corso della ricerca, secondo una componente lineare del fattore tempo altamente significativa ($P < 0.001$). Questo andamento è stato particolarmente esaltato nella tesi DE e potrebbe essere stato alla base dei favorevoli incrementi ponderali osservati con questo trattamento.

L'indice di conversione alimentare, pur risultando più favorevole nei soggetti trattati non ha raggiunto la soglia minima di significatività statistica (Tabella 4.1) e infatti il relativo confronto ortogonale ha manifestato un valore di $P = 0.16$. L'analisi dell'evoluzione di questo parametro nelle tre tesi e i valori di accrescimento ponderale registrati nello stesso periodo, fanno ritenere che i vitelloni si trovassero ancora in una fase di anabolismo proteico, in cui la deposizione del tessuto muscolare prevaleva sull'adipogenesi. A livello pratico sarebbe stato sicuramente opportuno prolungare il periodo di ingrasso ben oltre quanto realizzato nella presente ricerca, per non penalizzare lo sviluppo muscolare degli animali. Conforto a questa ipotesi viene proprio dal settore della macellazione in cui soggetti meticcii francesi non vengono macellati prima di aver raggiunto i 650 kg di peso vivo. Nel nostro studio, l'obiettivo produttivo ha dovuto trovare un compromesso con i vincoli imposti dal protocollo ministeriale.

Alla luce di questi risultati è possibile affermare che, soprattutto il trattamento DE, sembra far intravedere delle migliori performance di crescita. Nel nostro caso non sono risultate significative, probabilmente a causa del ridotto numero di animali e soprattutto della troppa limitata durata del periodo sperimentale.

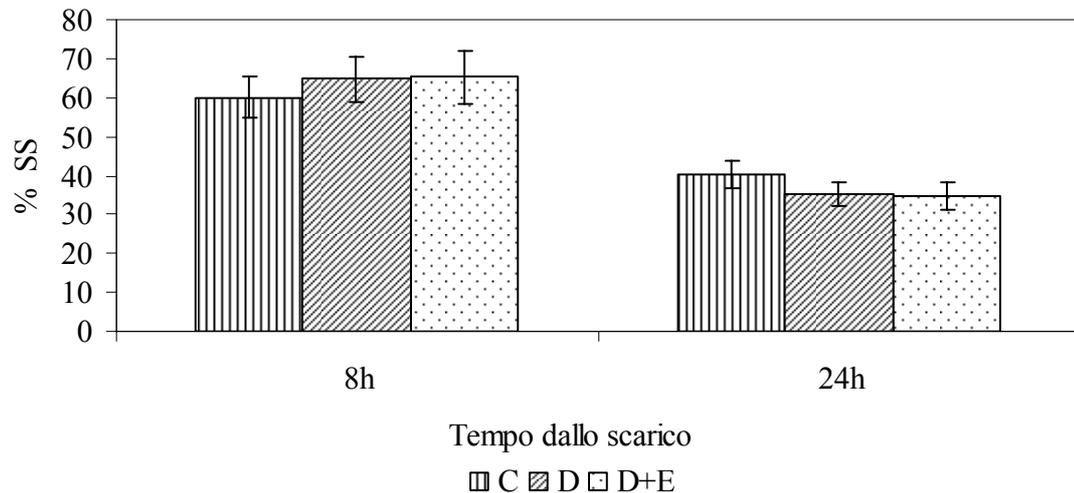
In bibliografia esistono numerosi studi che analizzano gli effetti degli estrogeni sulla crescita di bovini da carne considerando, però, una durata maggiore del periodo di trattamento e una eventuale associazione con altre molecole ad azione anabolizzante. In una ricerca effettuata da Renaville e coll. (1988) sono stati considerati 18 bovini di razza Blue Belga da 3 a 13 mesi di età divisi in tre gruppi. Un primo gruppo è stato trattato con un impianto sottocute di 140 mg di trembolone acetato + 20mg di estradiolo (Tesi TBA-E2), a un secondo gruppo è stato somministrato 45 mg di estradiolo (Tesi E2), mentre il terzo gruppo fungeva da controllo. Questi trattamenti non hanno portato ad un aumento delle performance produttive nel corso dell'intera prova. Solamente il trattamento TBA-E2 ha portato a incrementi significativi nei primi 30 giorni di trattamento.

4.2 Comportamento alimentare

Il comportamento alimentare degli animali è stato valutato mediante uno specifico protocollo che ha in primo luogo permesso di definire la ripartizione del consumo alimentare nel corso della giornata. I dati della Figura 2 illustrano i risultati ottenuti nelle tre tesi a confronto. Si nota innanzi tutto come gli animali assumono la maggior

parte della dieta nelle prime otto ore successive alla distribuzione della miscelata, mentre a causa della ampia deviazione standard registrata entro ciascun trattamento non sono emerse differenze significative tra il controllo e i due trattamenti illeciti.

Figura 2. Percentuale di sostanza secca ingerita a 8 e a 24 ore dallo scarico.

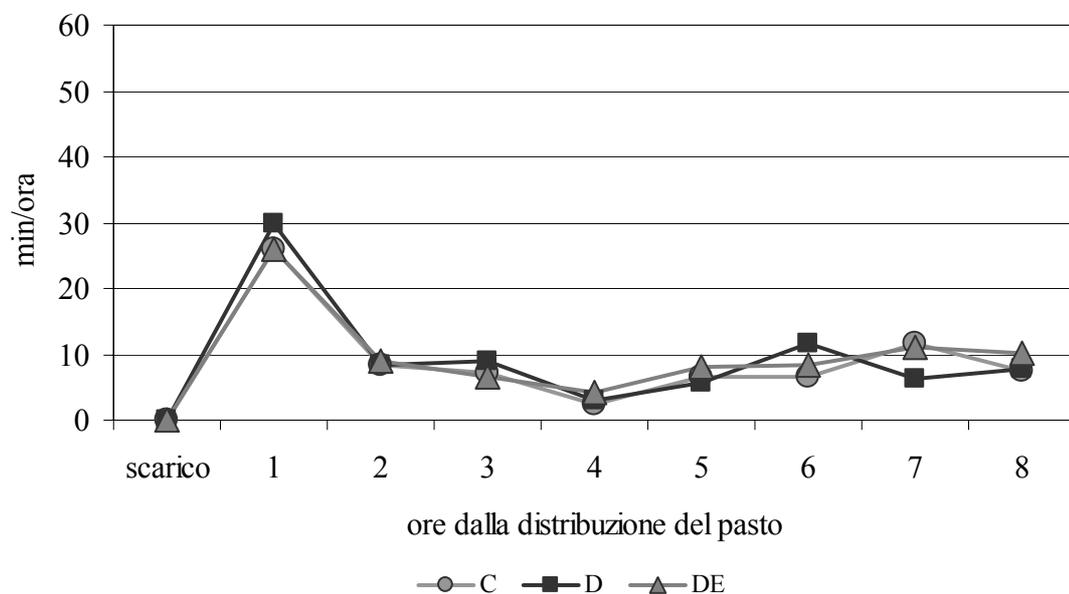


Una precedente ricerca (Cozzi e Gottardo, 2005), ha rilevato che vitelloni all’ingrasso dedicano la maggior quantità di tempo (circa 49 minuti) al consumo alimentare nelle prime otto ore dal momento della distribuzione della razione (h 09.30-17.30), mentre tale attività si riduce all’aumentare della distanza da quel momento, per essere minima nel corso della notte e nel primo mattino (15 min dalle 01.30 alle 09.30). Sempre secondo Cozzi e Gottardo (2005), il maggior consumo alimentare che si registra nelle prime ore dopo la distribuzione del pasto è la conseguenza di almeno uno dei due picchi di ingestione che si osservano nei bovini da carne in allevamento intensivo con alimentazione *ad libitum*. Il primo picco si registra subito dopo la distribuzione della miscelata ed è la manifestazione della preferenza dell’animale per l’alimento “fresco”. Il secondo invece corrisponde all’attività di ingestione che i ruminanti svolgono nelle ore del tramonto. Questo secondo picco deve essere ricondotto al comportamento naturale della specie bovina (Phillips, 1993). E’ noto che i bovini, in natura, sono erbivori pascolanti con una predilezione per i pasti nelle ore crepuscolari della giornata (alba e tramonto) in cui aumenta il loro mimetismo con l’ambiente e si riduce il rischio di una loro predazione (Hafez e Bouissou, 1975). Il risultato ottenuto in questa ricerca dimostra come nemmeno l’alimentazione *ad libitum* introdotta nell’allevamento

intensivo sia stata in grado di eliminare totalmente il naturale comportamento alimentare della specie (Ingrand, 2000).

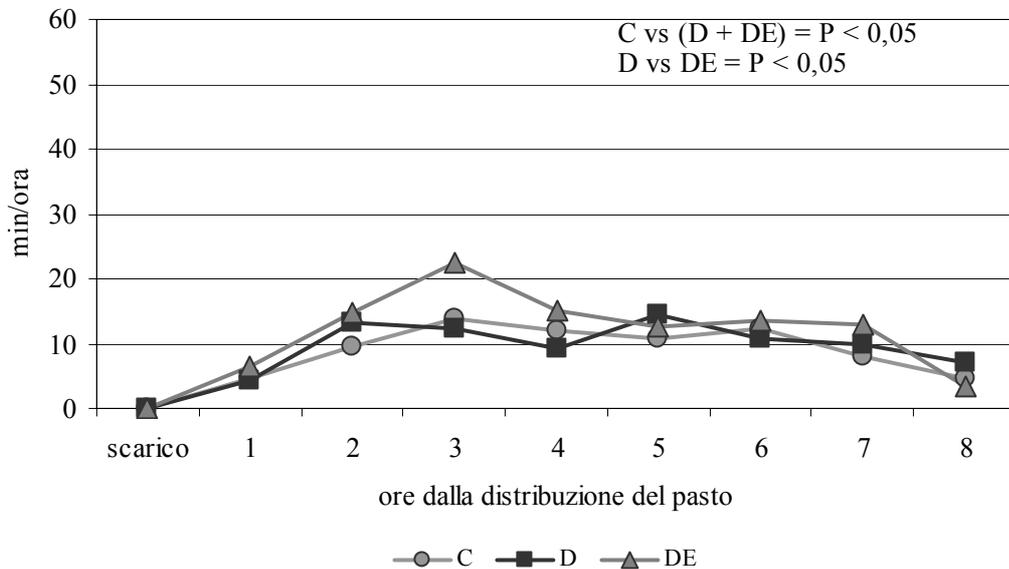
I dati relativi alle osservazioni individuali degli animali, per quanto riguarda il comportamento alimentare nelle otto ore successive alla distribuzione del pasto, non hanno fatto rilevare differenze significative tra le tesi a confronto nel tempo dedicato al consumo alimentare, come illustrato nella Figura 3. Nella stessa figura si può notare chiaramente il picco d'ingestione che segue la distribuzione della miscelata e di cui si è parlato in precedenza.

Figura 3. Frequenza oraria dell'attività di alimentazione degli animali nelle 8 ore successive alla distribuzione dell'alimento.



Un interessante risultato ha caratterizzato il rilievo dell'attività di ruminazione realizzata nello stesso intervallo di tempo che viene illustrato nella Figura 4.

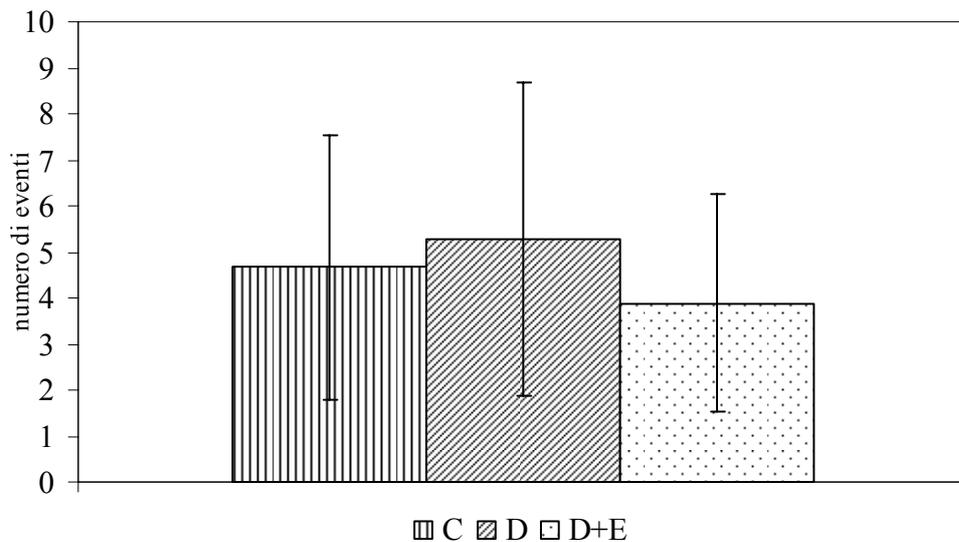
Figura 4. Frequenza oraria dell'attività di ruminazione degli animali nelle 8 ore successive alla distribuzione dell'alimento.



Per questa attività, infatti, emerge chiaramente una differenza dovuta alla tesi DE in cui si osserva una più marcata attività di ruminazione (101 min) rispetto a quanto rilevato per Controllo (76 min) e desametasone (82 min). Questo diverso comportamento è alla base della significatività osservata per i due confronti ortogonali e risulta sostanzialmente determinato da un picco di attività che si manifesta tra la 2° e la 4° ora dalla distribuzione della miscelata. I dati osservati per le tesi C e D appaiono molto simili a quanto osservato da Cozzi e Gottardo (2005) in un precedente studio sul comportamento alimentare del bovino da carne, mentre il comportamento della tesi DE sembra ricalcare quanto rilevato su bovini da carne in condizioni di stress da caldo (Gallina, 2006). Le condizioni ambientali del presente studio erano ben lontane da valori di temperatura e umidità dell'aria che portano gli animali in condizioni di stress da caldo, mentre non possiamo dimenticare come questo risultato sia stato ottenuto con gli animali che hanno presentato i più favorevoli consumi ed incrementi ponderali. La ruminazione rappresenta uno dei comportamenti peculiari della specie bovina e questo risultato rivela come una sua prolungata manifestazione non appare certo in contrasto con il processo di crescita degli animali. Spesso i piani alimentari utilizzati nella produzione della carne bovina risultano troppo ricchi di concentrati, nel tentativo di ottenere le massime performance di crescita, mentre la fibra viene minimizzata puntando a sostituire quasi completamente l'attività di ruminazione con sostanze tamponi (Campbell *et al.*, 1992).

Un'osservazione continua degli animali ha permesso il monitoraggio del numero di visite all'abbeveratoio nel corso delle 8 ore successive alla distribuzione della dieta ed i risultati di tale rilievo sono illustrati graficamente nella Figura 5. Il diverso tipo di trattamento non ha influito su tale attività anche a causa dell'elevata deviazione standard registrata entro ciascuna tesi.

Figura 5. Numero di eventi di abbeverata degli animali durante l'osservazione.



4.3 Selezione alimentare

L'eventuale attività di selezione alimentare degli animali è stata monitorata sia per quanto riguarda i principali costituenti chimici delle diete sia per le diverse frazioni particellari della stessa.

In tabella 4.2 vengono riportati dati di composizione chimica delle diete presenti in mangiatoia al momento dello scarico (T 0) e dopo 8 (T 8) e 24 ore (T 24).

Tabella 4.2. Composizione chimica (predizione NIRS) della dieta prelevata dalla mangiatoia allo scarico (T 0), 8 (T 8) e 24 ore dopo (T 24).

	Unità	Tempo dallo scarico			Errore Standard
		T 0	T 8	T 24	
Tesi C					
Composizione chimica:	%				
- Proteina Grezza (PG)	“	13.2	12.8	13.3	0.25
- Neutral Detergent Fibre (NDF)	“	30.5	31.1	29.5	0.63
- Amido	“	32.4 ^a	31.1 ^b	32.4 ^a	0.39
Tesi D					
Composizione chimica:	%				
- Proteina Grezza (PG)	“	12.6	12.7	12.9	0.25
- Neutral Detergent Fibre (NDF)	“	31.9	31.3	30.5	0.63
- Amido	“	31.4	31.0	31.3	0.39
Tesi DE					
Composizione chimica:	%				
- Proteina Grezza (PG)	“	13.2	13.0	12.9	0.25
- Neutral Detergent Fibre (NDF)	“	30.5	30.7	30.7	0.63
- Amido	“	32.5	31.6	31.8	0.39

a,b= P<0.05

Per tutte e tre le frazioni chimiche considerate non emerge una selezione significativa da parte degli animale delle diverse tesi. L'unica significatività osservata, nel caso dell'amido per la tesi Controllo, appare una conseguenza di un campionamento non corretto nel prelievo eseguito dopo 8 ore. Si nota infatti come il contenuto di amido che era sceso dopo 8 ore ritorna del tutto simile al valore iniziale (T 0) nel campione realizzato dopo 24 ore.

Anche per le diverse frazioni di particelle della miscelata non emerge la presenza di una preferenza particolare da parte degli animali delle tre diverse tesi.(Tabella 4.3)

Tabella 4.3. Composizione particellare della dieta prelevata dalla mangiatoia allo scarico (T 0), 8 (T 8) e 24 ore dopo (T 24).

	Unità	Tempo dallo scarico			Errore Standard
		T 0	T 8	T 24	
Tesi C					
Distribuzione particellare:	%				
- setaccio 19 mm	“	0.8	0.8	0.8	0.36
- setaccio 13 mm	“	5.0	4.5	3.8	0.66
- setaccio 8 mm	“	25.9	20.4	21.2	2.59
- setaccio 4 mm	“	16.9 ^b	19.3 ^a	19.1 ^a	0.71
- fondo	“	51.4	54.8	55.1	2.22
Tesi D					
Distribuzione particellare:	%				
- setaccio 19 mm	“	0.9	1.1	1.2	0.36
- setaccio 13 mm	“	4.9	4.5	4.0	0.66
- setaccio 8 mm	“	20.4	18.1	21.2	2.59
- setaccio 4 mm	“	18.7	18.8	19.9	0.71
- fondo	“	55.1	57.5	53.7	2.22
Tesi DE					
Distribuzione particellare:	%				
- setaccio 19 mm	“	0.7	1.1	0.3	0.36
- setaccio 13 mm	“	5.1	4.4	5.4	0.66
- setaccio 8 mm	“	19.0	19.9	17.7	2.59
- setaccio 4 mm	“	18.5	19.1	17.8	0.71
- fondo	“	56.7	55.1	58.9	2.22

a,b = P < 0.05

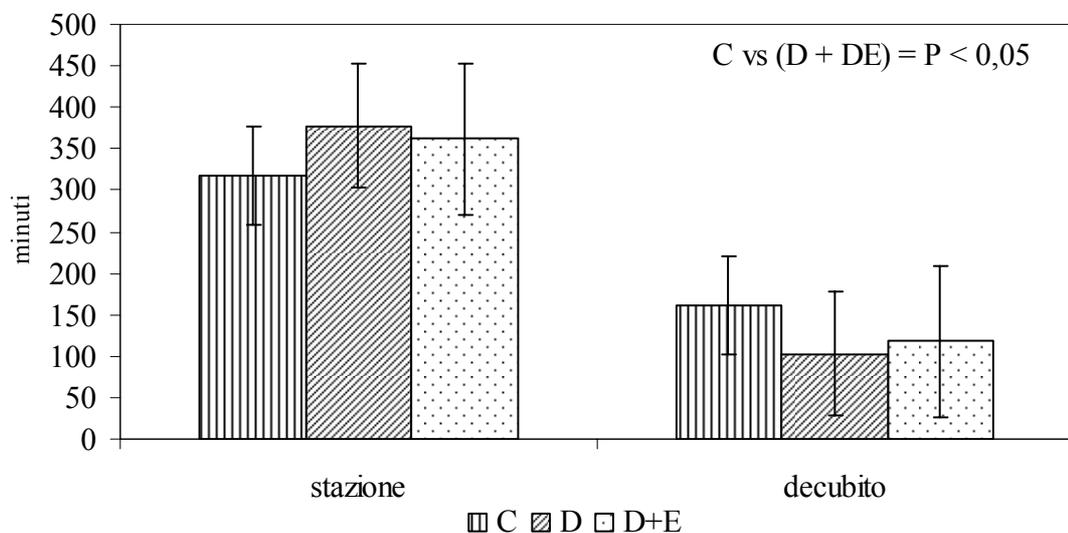
I campioni prelevati, sia dopo 8 che dopo 24 ore dalla distribuzione dell'unifeed, mantengono delle caratteristiche dimensionali molto simili a quelle della dieta originale distribuita in mangiatoia. Il fattore tempo dallo scarico non è risultato significativo all'analisi statistica e l'unica significatività emersa ha riguardato l'interazione tempo dello scarico x trattamento, con un aumento della percentuale di particelle trattenute dal setaccio di 4 mm nel caso della tesi di Controllo. Questo risultato da solo non può far parlare di una selezione da parte dei vitelloni della tesi.

Confrontando i risultati di questa ricerca con la letteratura, l'unico studio realizzato con un protocollo e con una dieta simile a quella formulata nella presente prova è stato quello di Cozzi e Gottardo (2005), in cui era emersa invece una preferenza degli animali nei confronti delle particelle più lunghe e a maggior contenuto fibroso della miscelata.

4.4 Comportamento sociale

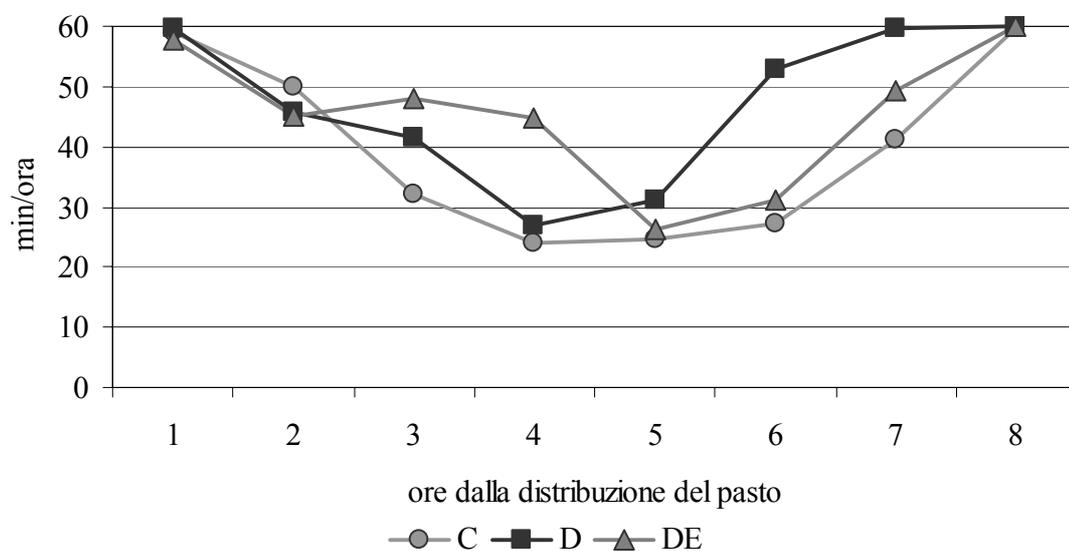
Il rilievo della posizione assunta dai vitelloni durante le otto ore di osservazione ha fatto emergere una significativa tendenza degli animali trattati a rimanere in stazione (Figura 6). Per la tesi desametasone, questo risultato conferma quanto osservato in una precedente ricerca che aveva utilizzato un dosaggio simile del cortisonico su vitelloni di razza Marchigiana (Tavakoli, 2005).

Figura 6. Durata media della posizione degli animali durante l'osservazione comportamentale.



E' interessante analizzare queste differenze in relazione ad altre attività svolte dagli animali e in particolare alla ruminazione. Normalmente, i bovini da carne compiono tale attività prevalentemente in posizione di decubito (Cozzi e Gottardo, 2005); in questo lavoro, invece, la prolungata ruminazione osservata nella tesi DE viene probabilmente svolta in condizioni di stazione, come evidenziato nelle Figure 4 e 7 in cui vengono rappresentati i dati relativi alla frequenza oraria dei due comportamenti.

Figura 7. Frequenza oraria della posizione di stazione nelle 8 ore successive alla distribuzione dell'alimento.



Il comportamento sociale degli animali è stato anche valutato mediante la registrazione del numero di scontri e monte che si sono verificati in ciascun box durante le 8 ore di osservazione. I dati relativi alla numerosità dei due tipi di conflitti in ciascuna tesi a confronto vengono riportati nelle Figure 8 e 9.

Figura 8. Numero di monte medie registrate durante le 8 ore di osservazione comportamentale.

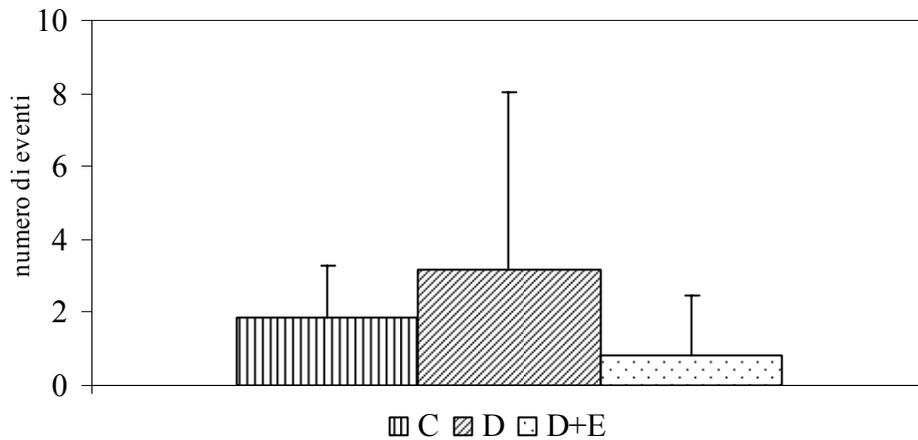
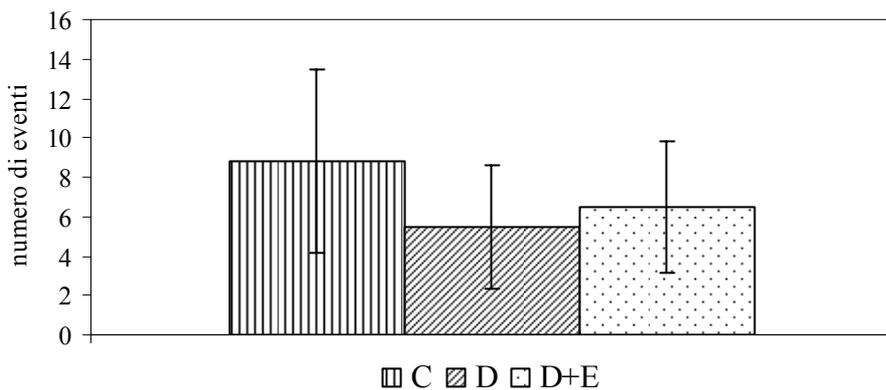


Figura 9. Numero di scontri medi registrate durante le 8 ore di osservazione comportamentale

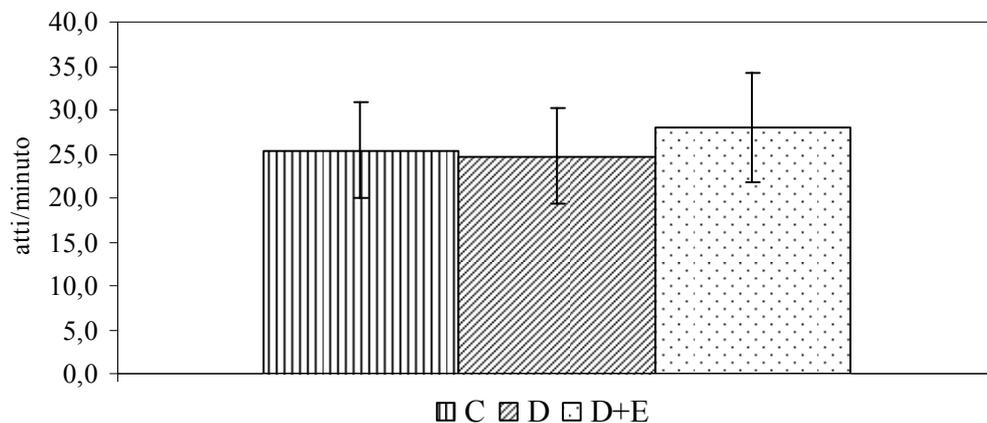


Per entrambi i comportamenti non emergono differenze significative tra gli animali di Controllo e quelli trattati ed entro ciascuna tesi è stata osservata una ampia deviazione standard. Questo tipo di risultato non deve sorprendere essendo una tipica manifestazione della gerarchia presente entro box. L'animale dominante, infatti, tende ad avere più frequenti comportamenti aggressivi nei confronti di tutti gli altri congeneri presenti nel box, i quali subiscono senza alcuna reazione in quanto subordinati (Collis, 1976). L'assenza di effetti del desametasone sui comportamenti aggressivi dei vitelloni conferma quanto precedentemente osservato da Tavakoli (2005) in un precedente studio.

4.5 Frequenza respiratoria

Il rilievo di un indicatore fisiologico di stress, come la frequenza respiratoria, non ha fatto rilevare differenze tra gli animali diversamente trattati (Figura 10). In media la frequenza rilevata è risultata pari a 26 atti/min e questo dato rientra nei normali valori riportati da Aguggini e coll. (1998) per bovini in condizioni di riposo. Quanto rilevato per le due tesi trattate con prodotti illeciti sembra confermare l'assenza di manifestazioni particolari che possano essere segno di uno status di stress dell'animale.

Figura 10. Frequenza respiratoria media rilevata nei vitelloni considerati.

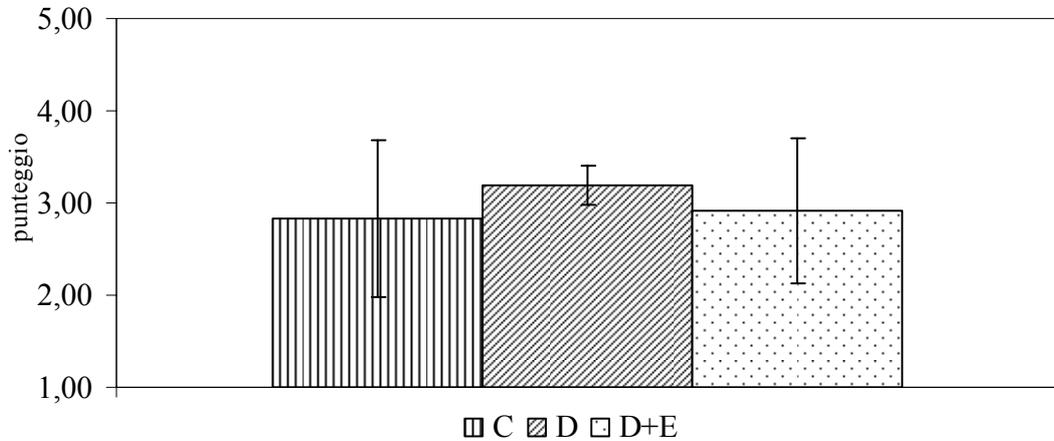


4.6 Analisi delle feci

Un ulteriore rilievo teso ad evidenziare eventuali differenze tra le tre tesi a confronto, ha riguardato l'analisi della consistenza e della composizione particellare delle feci. I dati riguardanti il primo rilievo vengono illustrati nella Figura 11 e sottolineano la sostanziale corrispondenza nella consistenza dei campioni prelevati dai vitelloni di Controllo e da quelli trattati. Il valore medio rilevato per l'intero set di campioni è stato pari a 3, corrispondente ad una consistenza intermedia nella scala proposta. Considerando come anomali gli estremi della stessa scala, possiamo affermare che quanto rilevato rappresenta una condizione di buona alimentazione degli animali.

Figura 11. Consistenza media delle feci.

Legenda: 1 = dura; 2 = molto consistente; 3 = soffice ma che conserva la sua forma; 4 = molle (tipo budino); 5 = liquida



Una conferma diretta e oggettiva della sofficità delle feci raccolte è venuta dall'analisi del contenuto di sostanza secca che per tutte le tesi si è attestata intorno al 19.0% (Tabella 4.4).

Tabella 4.4 Contenuto di sostanza secca delle feci e loro ripartizione in base alle dimensioni delle particelle.

	Unità	Tesi			RMSE ¹
		C	D	DE	
Contenuto di sostanza secca	%	19,17	18,27	19,24	1,91
Particelle trattenute da:	%				
- setaccio 2.36 mm	"	5,46	3,80	5,47	3,57
- setaccio 1.18 mm	"	11,19	9,88	11,82	3,54
- particelle non trattenute	"	83,35	86,32	82,71	3,56

¹RMSE = root mean square error

L'analisi dimensionale dei campioni fecali ha fatto rilevare per tutte le tesi una preponderante presenza di particelle molto fini non trattenute da un setaccio a maglie di 1.18 mm di diametro. Questo risultato non deve sorprendere dato che la possibilità di una particella alimentare di superare il comparto dei prestomaci appare strettamente

legata al raggiungimento di ben definite dimensioni fisiche e ponderali. La presenza di una consistente frazione di particelle fini caratterizza non solo diete con un elevato contenuto di concentrati, ma anche razioni sostanzialmente foraggere come rilevato da Luginbuhl e coll. (1990) in una ricerca condotta con manzi castrati alimentati con una dieta foraggera a base di *Cynodon dactylon*. Anche in questa prova oltre l'80% delle particelle fecali non risultava trattenuta da un setaccio di 1.0 mm.

Per quanto riguarda le frazioni di particelle più strutturate trattenute dai setacci di 1.18 e 2.36 mm non sono state rilevate percentuali diverse tra le tre tesi.

5. CONCLUSIONI

La presente prova ha avuto come obiettivo quello di valutare gli effetti di un uso non terapeutico di desametasone e dello stesso principio attivo associato ad un estrogeno ad azione anabolizzante (estradiolo) su una serie di indicatori zootecnici e comportamentali in bovini all'ingrasso. I risultati osservati non hanno messo in evidenza significative differenze tra le tre tesi a confronto, praticamente per tutti i parametri considerati nel protocollo operativo. Sulla sostanziale corrispondenza tra le performance di crescita rilevate per il controllo e i due trattamenti, ha sicuramente giocato un ruolo importante il protocollo sperimentale che ha previsto un periodo di trattamento molto breve e ad una fase molto avanzata del processo di accrescimento degli animali. I rilievi del comportamento alimentare e sociale degli animali hanno visto una netta prevalenza della variabilità individuale entro ciascun box come manifestazione della gerarchia tra i soggetti presenti. Anche alcuni rilievi di tipo fisiologico, come la frequenza respiratoria o l'analisi delle feci, si sono dimostrati del tutto inefficaci per individuare gli animali trattati rispetto ai soggetti di controllo.

Sulla base dell'insieme dei "non risultati" ottenuti è corretto affermare che gli indicatori zootecnici e comportamentali utilizzati nella ricerca non appaiono degli strumenti validi per individuare l'utilizzo illecito delle molecole considerate. Questo sostanzialmente rende impossibile una identificazione a livello aziendale degli animali trattati in modo fraudolento attraverso una rapida osservazione visiva o tramite la registrazione delle performance *infra-vitam*. Appare invece necessario un approccio di tipo analitico basato sulla ricerca delle molecole illecite, dei loro residui o metaboliti su matrici biologiche prelevate dagli animali. Quest'ultimo rappresenta sicuramente un metodo molto più oneroso, sia dal punto di vista dei costi che dei tempi richiesti. La lotta contro l'uso di queste molecole vietate nella produzione della carne bovina deve dunque basarsi su un controllo di tipo chimico-analitico, dato che gli indicatori zootecnici e comportamentali non risultano predittivi per questo tipo di frode. Il fatto che animali trattati non si comportino in modo diverso dai soggetti di controllo, purtroppo, incoraggia chi intende operare in modo non lecito ed è difficile pensare che in un mondo in cui il Dio denaro sembra l'unica divinità con un largo seguito di fedeli, la coscienza superi la bramosia del guadagno.

6. BIBLIOGRAFIA

- Aguggini G., Beghelli V. 1998. *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*. UTET.
- Ballarini G., 2005. *Terapia cortisonica con Desametasone negli allevamenti di bovini da carne*. *Obiettivi e Documenti Veterinari* 6: 13-24.
- Ballarini G., 2000. *Ormoni estrogeni negli alimenti*. *Eurocarni* 2 (15) : 31-33.
- Ballarini G., 2000. *Antibiotici auxinici e massima sicurezza*. *Rivista di suinicoltura* 6 (41) : 29-32.
- Biolatti B., Bollo E., Canonizzo F. T. , Zancanaro G., Tarantola M., Dacasto M., Cantiello M., Carletti M., Biolatti P. G., Barbarino G. 2005. *Effects of Low-dose Dexamethasone on Thymus Morphology and Immunological Parameters in Veal Calves*. *J. Vet. Med.* 52 : 202–208.
- Breier B.H. et al. 1991. *Influence of nutrition and bovine growth hormone (GH) on hepatic GH binding, insulin-like growth factor-I and growth of lambs*. *Journal of Endocrinology* 128 (2): 181-186.
- Brscic M. 2006. *Impiego della tecnica di spettroscopia nel vicino e medio infrarosso per l'analisi di matrici organiche finalizzata all'identificazione di trattamenti illeciti effettuati su bovini da carne*. Tesi di laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli studi di Padova.
- Campbell, C.P., Marshall, S.A., Mandell, I.B., Wilton, J.W. 1992. *Effects of source of dietary neutral detergent fiber on chewing behavior in beef cattle fed pelleted concentrates with or without supplemental roughage*. *Journal of Animal Science* 70: 894-903.
- Chizzolini R. 2002. *L'immagine della carne*. *Eurocarni* 12:65-67.
- Collis K.A. 1976. *An investigation of factors related to the dominance order of a herd of dairy cows of similar age and breed*. *Applied Animal Etology* 2: 167-173.
- *Compendium of Veterinary Products*. 1991. First Edition. pag. 791
- Corah T.J., Tatum J.D., Morgan J.B. , Mortimer R.G., Smith G.C. 1995. *Effects of a dexamethasone implant on deposition of intramuscular fat in genetically identical cattle*. *Journal of Animal Science* 73(11): 3310-3316.

- Courtheyn D., Le Bizec B., Brambilla G., De Brabander H.F., Cobbaert E., Van de Wiele M., Vercammen J., De Wasch. K. 2002. *Recent developments in the use and abuse of growth promoters*. *Analytica Chimica Acta* 473: 71–82.
- Cozzi G., Gottardo F., 2005. *Feeding behaviour and diet selection of finishing Limousin bulls under intensive rearing system*. *Applied Animal Behaviour Science* 91: 181–192
- De Wasch K., De Brabander H.F., Courtheyn D., Impens S., Vandewiele M., 2001. *Determination of mercaptobenzimidazol and other thyreostat residues in thyroid tissue and meat using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry*. *Journal of Chromatography* 912: 311–317.
- *Dizionario del medicinale veterinario*. Quarta edizione. 2003. Editore Point Veterinarie Italie: 204-205.
- Gábor G. Tóth et al. 1999. *Pharmacokinetics of High-dose Oral and Intravenous Dexamethasone*. *Therapeutic Drug Monitoring* 21 (5): 532-535
- Gallina E., 2006. *Effetti delle condizioni climatiche sul comportamento di bovini da carne in allevamento intensivo*. Tesi di laurea. Facoltà di Agraria e Medicina Veterinaria, Università degli studi di Padova.
- Gazzetta Ufficiale - 2^a Serie Speciale Comunità Europee n. 36 del 10/05/1999: Regolamento n. 508/1999 della Commissione, del 4 marzo 1999, che modifica gli allegati da I a IV del regolamento n. 2377/90 del Consiglio che definisce la procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui di medicinali veterinari negli alimenti di origine animale.
- Gazzetta Ufficiale - Serie Generale n. 230 del 30-9-1999: D. Lgs. 4 agosto 1999, n. 336 Attuazione delle direttive 96/22/CE e 96/23/CE concernenti il divieto di utilizzazione di sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze β -agoniste nelle produzioni di animali e le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti.
- Grieshop C., Flickinger E., Fayer G., 2002. *Oral administration of arabinogalactan affects immune status and fecal microbial populations in dogs*. *Journal of Nutrition* 132(2): 478-482.
- Hafez E.S.E. 1984. *Biologia e tecnologia della riproduzione nelle specie animali di interesse zootecnico*. Editoriale Grasso.

- Hafez, E. S. E., Bouissou, M.F., 1975. *The Behaviour of Cattle. In: The Behaviour of Domestic Animals*. Williams and Wilkins, Baltimore, pp.247-296.
- Herbst A.L., Scully R.E. 1970. *Adenocarcinoma of the vagina in adolescence. A report of 7 cases including 6 clear-cell carcinomas (so-called mesonephromas)*. *Cancer* 25(4): 745-57.
- Ingraham, R.H., Stanley, R.W., Wagner, W.C., 1979. *Seasonal Effects of Tropical Climate on Shaded and Nonshaded Cows as Measured by Rectal Temperature, Adrenal Cortex Hormones, Thyroid Hormone and Milk Production*. *Am.J.Vet.Res.*, 40, 1792-1797.
- Istasse I., De Haan V., Van Eenaeme C., Buts B., Baldwin P., Gielen M., Demeter D., Bienfait J.M., 1989. *Effects of dexamethasone injections on performance in a pair of monozygotic cattle twins*. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition* 62:150-158.
- Johnson B.H., Silcox R.W., 1986. *The utilization of dexamethasone for feedlot bulls: a preliminary investigation*. *Animal Science*. Rep. North Carolina State University, Raleigh.
- Lammers B.P., Buckmaster D.R., Heinrichs A.J., 1996. *A simple method for the analyse of particle sizes of forage and total mixed rations*. *Journal Dairy Science* 79 : 922–928.
- Le Guevel R., Pakdel F. 2001. *Assessment of oestrogenic potency of chemicals used as growth promoter by in-vitro methods*. *Human Reproduction* 16 (5) : 1030-1036.
- Leonardi, C., Armentano, L.E., 2003. *Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows*. *Journal Dairy Science* 86 : 557–564.
- Luginbuhl J.M., Pond K.R., Burns J.C. 1990. *Changes in ruminal and fecal particle weight distribution of steers fed coastal bermudagrass hay at four levels*. *J. Anim. Sci.* 68:2864-2873.
- Martin P., Bateson P., 1993. *Measuring behaviour, an introductory guide*. Cambridge University press, Cambridge, UK.
- Messieri A. , Moretti B., 1963. *Semiologia e diagnostica medica veterinaria*. Bologna Libreria Universitaria L.Tinarelli.

- McCurdy M., Buskirk D. D., Grant A., Cowley J. 2002. *Influence of supplemental sunflower oil and dexamethasone therapy on performance and adipose tissue development in earlyweaned beef steers*. Michigan State University extension. Beef Cattle, Sheep and Forage Systems Research and Demonstration Report 581.
- Pace V., Settineri D., 1996. *L'impiego degli ormoni nell'alimentazione animale: un problema aperto*. *Informatore Agrario* 46 : 47-51.
- Phillips, C.J.C., 1993. *Cattle Behaviour*. Farming Press Books, Ipswich.
- Preston R. L. and Burroughs W. 1960. *Physiological actions of diethylstilbestrol in lambs fed varying levels of protein and energy*. *Journal Appl. Physiol.* 15:97-100.
- Renaville R., Massart S., Devolder A., Sneyers M., Burney A., Portetelle D. 1993. *Effects of dexamethasone treatment on growth, sexual axis and hormonal status in finishing bulls*. *Journal of Animal Science*, 71: (suppl. 1) : 232 (abstr.).
- Renaville R., Burny A., Sneyers M., Rochart S., Portetelle D., Thewis A. 1988 *Effects of an anabolic treatment before puberty with trenbolone acetate-oestradiol or oestradiol alone on growth rate, testicular development and luteinizing hormone and testosterone plasma concentrations*. *Theriogenology* 29(2): 461-476.
- Schimmer B. P. and Parker K. L. 1996: *Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones*. In: Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9nd ed., Molinoff P. B. and Ruddon R.W. (Eds.), McGraw-Hill, New York, , 1459-1485.
- Swenson M.J, Reece W.O. 2002. *Fisiologia degli animali domestici*. Gruppo Editoriale Idelson-Gnocchi.
- Tarantola M., Schiavone A., Preziuso G., Russo C., Biolatti B., Bergero D. 2004. *Effects of low doses of dexamethasone on productive traits and meat quality of veal calves*. *Animal Science* 79(1): 93-98.
- Tavakoli Seyed Reza. 2005. *Effetto della somministrazione di desametasone sulle prestazioni produttive, sul comportamento e sulla qualità della carne di vitellone*. Tesi di laurea. Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli studi di Padova.

- Zeppelli A.,2000. *Carne agli ormoni divieti e rischi*. Eurocarni (1): 57-62.

SITI INTERNET

- <http://agricola.nal.usda.gov>
- www.anmvi.it
- <http://europa.eu>
- www.farmacovigilanza.org
- www.minerva.unito.it
- www.ministerosalute.it
- www.nuovaitaliamedica.it
- www.redilab.it
- www.torrinomedica.it