

## Ricerca corrente IZS VE 01/12

**Esplorazione della metabolomica come approccio innovativo per discriminare animali trattati con promotori della crescita: standardizzazione di un protocollo sperimentale per un metodo analitico e un'analisi statistica multivariata**

**Responsabile Scientifico: Dr. Giancarlo Biancotto**

L'impiego di **trattamenti illeciti** degli animali destinati al consumo umano con promotori della crescita o con sostanze farmacologiche vietate è ancora un motivo di preoccupazione per i consumatori e gli organismi deputati al controllo della sicurezza della filiera alimentare.

È noto, come dimostrato dai riscontri dei piani di monitoraggio, che ormoni, steroidi,  $\beta$ -agonisti e chemioterapici vietati sono talvolta ancora impiegati illegalmente nelle aziende zootecniche a scopo anabolizzante o terapeutico preventivo. Lo stato dell'arte per la sorveglianza di queste sostanze prevede l'analisi di un elevato numero di campioni da sottoporre a sistematico controllo per la ricerca dei residui delle sostanze utilizzate nella filiera produttiva mediante tecniche rapide di screening (tipicamente basate sull'interazione specifica antigene/anticorpo come l'ELISA). I campioni sospetti, devono quindi essere sottoposti ad analisi di conferma con tecniche analitiche basate sulle caratteristiche chimico-fisiche (e non più biologiche) delle molecole per il loro riconoscimento inequivocabile.

Tuttavia, una delle maggiori limitazioni di questo approccio è rappresentato dall'estrema selettività sia dei test di screening che delle analisi di conferma con il rischio di non evidenziare sostanze analoghe a quelle ricercate che producano tuttavia il medesimo effetto. È quindi di estremo interesse lo sviluppo di una metodologia di screening alternativa in grado di misurare l'effetto di possibili trattamenti prescindendo dallo specifico composto impiegato ma piuttosto in grado di evidenziare il possibile uso di una o più famiglie di sostanze analoghe. In tal senso si stanno affermando tecniche "omiche" (genomica, proteomica, metabolomica) che mirano all'individuazione di marcatori indiretti di trattamento.

In questo studio si intende avviare la messa a punto di **un approccio metabolomico** che "misuri" la complessa variazione della risposta dell'organismo in termini di popolazione di metaboliti a seguito della sollecitazione con un agente esogeno quale una o più sostanze anabolizzanti.

Questo approccio, basato su analisi con spettrometria di massa ad alta risoluzione, genera una elevata e complessa quantità di dati analitici che devono essere successivamente elaborati mediante un'analisi statistica multivariata (PCA, PLS, ecc.) che, a sua volta, richiede una fase di sviluppo e calibrazione. Dal confronto di dati provenienti da fluidi biologici o tessuti animali appartenenti a popolazioni di animali di controllo o trattati e dall'analisi statistica si dovrebbe pervenire all'individuazione di parametri (metaboliti) sovra o sottoespressi presenti in modo statisticamente significativamente diverso tra i due gruppi. Qualora tali molecole diversamente regolate nei gruppi a confronto fossero anche identificate strutturalmente e spiegate biologicamente, si potrebbero definire biomarcatori di trattamento. Quest'ultimo step è tuttavia di difficile realizzazione e a riguardo si prevede di riuscire ad effettuare solo tentativi preliminari.