

La pagina scientifica

A vantaggio della filiera dell'allevamento del bovino da carne

Progetto Myo-screen

Unicarve, Università di Padova e Istituto Zooprofilattico delle Venezie insieme per la ricerca di un dispositivo di screening rapido in grado di rilevare trattamenti illeciti sui bovini. I risultati del progetto presentati nel corso di un convegno a Aquae Venezia 2015

I prodotti di origine animale costituiscono la parte più rilevante dell'alimentazione dei paesi industrializzati e si registra un continuo aumento della richiesta, in particolare per quelli a base di carne. Le imprese italiane specializzate nell'allevamento del bovino

da carne fanno fronte ricorrendo all'importazione di carni macellate e di vitelli da ristallo provenienti in particolare da paesi UE, anche se nuovi scenari di importazione di bovini da paesi extraeuropei diventano sempre più probabili nel futuro (Figura 1). Veneto, Lombardia e Pie-

monte sono le regioni protagoniste nell'allevamento bovino; importano complessivamente l'86% dei bovini e il Veneto rappresenta da solo quasi il 50% del totale delle importazioni.

Viste le norme vigenti, i controlli dei sistemi sanitari nazionali, i parametri dettati dai disciplinari



Giovanni Di Genova, del Ministero delle Politiche Agricole, Giuliano Marchesin, direttore di Unicarve, Associazione produttori carni bovine del Triveneto, Maria Pia Rizzi, Andrea Galli, Italbovini, e François Tomei, direttore Assocarni.

di produzione istituzionali e di *private label* sempre più diffusi, è indispensabile per le aziende e le filiere del settore disporre di sistemi di autocontrollo in grado di garantire la salubrità del bestiame importato, soprattutto per quanto riguarda l'impiego improprio di prodotti ad effetto anabolizzante, e che permettano inoltre di monitorare lungo la filiera produttiva la corretta applicazione delle norme di autodisciplina.

Stesso discorso vale anche per le aziende di trasformazione, in quanto anche loro sono tenute ad applicare piani di autocontrollo, il più delle volte affidati a laboratori esterni opportunamente attrezzati, con tempi e costi che non sempre soddisfano le esigenze di efficienza ed efficacia richieste.

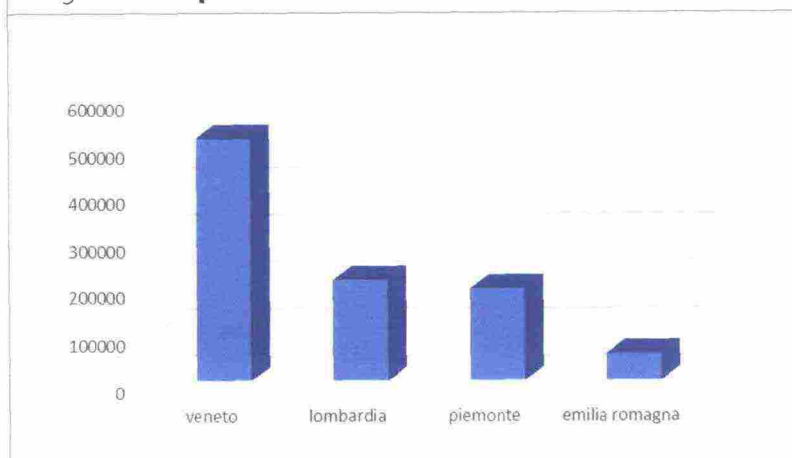
Risulta pertanto di notevole interesse per tutto il settore individuare un metodo d'indagine che permetta uno *screening* di massa, utilizzabile direttamente sui capi vivi, dall'allevatore e dal trasformatore, durante le fasi di ingrasso, riducendo ad esempio il rischio di inserimento in stalla di animali precedentemente trattati, ma anche di verificare la "purezza" dei mangimi e monitorando eventuali controindicazioni dei farmaci di uso quotidiano, concentrando nel dubbio la ricerca di sostanze ad effetto anabolizzante solo sui campioni risultati sospetti allo *screening*.

Il progetto

Myo-screen nasce da un'intuizione dei ricercatori del Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università degli Studi di Padova (DSB), in collaborazione con l'associazione produttori carni bovine UNICARVE, e dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe), e ha lo scopo di realizzare un prototipo da utilizzare per lo *screening* rapido sui bovini in grado di segnalare se l'animale è stato sottoposto a trattamenti anabolizzanti illeciti, a prescindere dalla specifica sostanza utilizzata per il trattamento.

Questo innovativo dispositivo di *screening*, da utilizzare sul campo, si pone quindi l'obiettivo di offrire

Figura 1 – Importazione bovini vivi 2014



all'intera filiera dell'allevamento bovino da carne uno strumento in grado di garantire un attento monitoraggio dello stato sanitario degli animali allevati, con caratteristiche tecniche ed economiche tali da poter essere utilizzato direttamente dagli operatori del settore, riducendo notevolmente i tempi e i costi di analisi, ma soprattutto consente di andare a risolvere il problema della corsa all'uso di sempre nuove sostanze anabolizzanti, per le quali gli enti di controllo si trovano a non avere procedure di test specifiche.

Il progetto *Myo-screen* è stato presentato durante un convegno organizzato lo scorso 18 giugno ad *Aquae Venezia 2015*, la grande esposizione universale dedicata all'acqua ed evento collaterale di Expo Milano, in occasione dell'assemblea Unicarve.

Come funziona

Il principio di funzionamento del sistema di *screening* non è quello di andare a individuare la presenza di specifiche sostanze in un campione fisiologico dell'animale, ma quello di verificare la reazione di una coltura di cellule muscolari, integrata

nel sistema di *screening*, messe a contatto con il campione d'urina prelevato dal bovino da testare. In presenza di sostanze anabolizzanti nel campione di urina, le cellule subiranno un effetto ipertrofico. Grazie ai moderni strumenti offerti dalle biotecnologie, queste cellule possono essere modificate geneticamente e "programmate" per secernere acido lattico in corrispondenza dell'effetto ipertrofico indotto dalle sostanze anabolizzanti nel campione. A questo punto, il sistema di *screening* rileva la concentrazione di acido lattico mediante un sensore elettrochimico delle dimensioni di una comune pennetta USB. In pratica, quando la concentrazione di acido lattico supera un livello basale, il sistema segnala la presenza di sostanze anabolizzanti nel campione d'urina testato. La specifica sostanza anabolizzante potrà in seguito essere individuata con i tradizionali metodi di laboratorio, in seconda sede, solo sui campioni che abbiano dato risposta positiva allo *screening*.

La coltura cellulare geneticamente modificata, utilizzata per verificare la "reazione" ad eventuali

"Questo innovativo dispositivo di screening si pone l'obiettivo di offrire all'intera filiera dell'allevamento bovino da carne uno strumento in grado di garantire un attento monitoraggio dello stato sanitario degli animali allevati, con caratteristiche tecniche ed economiche tali da poter essere utilizzato direttamente dagli operatori del settore"

Funzionamento del sistema di screening

Campione d'urina


Prelievo di un campione d'urina del capo di bestiame da testare

Cellule muscolari geneticamente modificate


Aggiunta del campione alla coltura cellulare e conseguente sovrapproduzione di acido lattico in caso di stimolo ipertrofico (in presenza di anabolizzanti nel campione)

Sensore di acido lattico


Rilevazione elettrochimica della concentrazione di acido lattico e segnalazione se maggiore a concentrazione basale



Variazione di intensità del picco di ossidoriduzione per la quantificazione del lattato presente in soluzione e indirettamente della concentrazione della sostanza ipertrofica

Soluzione biologica prodotta dalle cellule ingegnerizzate destinate alla sovrapproduzione di lattato in presenza di sostanze ipertrofiche

Sensore microelettronico per la quantificazione del lattato mediante tecniche elettrochimiche

trattamenti, è stata ottenuta da cellule di topo dotate di recettori per la maggior parte delle famiglie di sostanze anabolizzanti. Queste cellule sono poi state studiate per individuare quali geni rispondessero maggiormente alla presenza delle diverse famiglie di sostanze. Una volta individuati, i geni sono stati modificati per causare la produzione di acido lattico nelle cellule e la sua espulsione dalle membrane cellulari.

Il sensore per acido lattico si compone invece di una soluzione contenente un enzima che, in presenza di acido lattico, catalizza la conversione di una molecola biochimica detta NAD in una corrispondente molecola detta NADH. La soluzione viene poi posta in contatto con un elettrodo di carbonio e, in corrispondenza di opportune condizioni elettrochimiche, il

NADH formatosi si riconverte in NAD generando una debole corrente elettrica. La corrente elettrica viene quindi misurata e permette di calcolare a ritroso la concentrazione di acido lattico che ha dato luogo prima alla formazione del NADH e poi alla corrente elettrica stessa. In questo modo il valore di corrente misurato risulta proporzionale alla concentrazione di acido lattico presente nel campione analizzato e di conseguenza, grazie alle cellule ingegnerizzate, alla concentrazione di sostanza anabolizzante.

Le misure condotte in laboratorio hanno fin qui dimostrato la validità di questo approccio di rilevazione, consentendo l'individuazione di esigue quantità di acido lattico disciolto in soluzione, pari a circa 10 milionesimi di mole per litro. Grazie alla sensibilità della misurazione elettrochimica, la quan-

tità di campione da analizzare per ciascun capo di bestiame sospetto sarà anch'essa molto ridotta, quantificabile in pochi millesimi di litro.

Il metodo di quantificazione dell'acido lattico si è rivelato essere molto rapido e quindi compatibile con la prevista applicazione allo *screening* di massa: infatti, per l'analisi di un singolo campione sono sufficienti dai trenta ai sessanta secondi.

Al momento è in corso l'ottimizzazione della componente cellulare del sistema di *screening*, conducendo una sperimentazione per identificare il protocollo in grado di minimizzare i tempi necessari per la rilevazione della risposta delle cellule alle sostanze anabolizzanti in presenza di matrici complesse e ricche di molecole interferenti, con particolare attenzione alle urine.