

FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA
DIPARTIMENTO DI PATOLOGIA ANIMALE
CATEDRA DI TOSSICOLOGIA VETERINARIA

TOSSICITA' CRONICA SPERIMENTALE
DA ETILENBISDITIOCARBAMATO DI ZINCO NEL VITELLO:
VALUTAZIONE DEI RESIDUI TISSUTALI

NEBBIA C. - RE G. - FOGLIATO T. G. - FERRERO E.



Estratto da:
Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria di Torino
Vol. XXXII - 1987

RIASSUNTO. — Nel quadro di un programma di ricerche volte a valutare gli effetti dell'esposizione cronica allo Zineb, sono stati determinati i residui del fungicida negli organi di bovini sperimentalmente trattati con 4 e 40 mg di Zineb/Kg p.v./die.

I risultati ottenuti depongono per un organotropismo dello Zineb nei confronti di tiroide e pancreas.

I residui riscontrati negli organi e nella muscolatura degli animali trattati con la dose superiore sono al di sopra dei limiti consentiti dalle leggi vigenti in Italia.

SUMMARY. — Male Fresian calves aging 4 months were chronically exposed to either 4 or 40 mg Zineb/Kg b.w./day for 600 and 270 days respectively.

The residues of the fungicide were determined in the major organs.

Thyroid gland appears to accumulate Zineb to a greater extent than any other organ, thereby confirming what has been previously observed in other animal species.

The relatively high amounts of Zineb found in pancreas and testes might be related to the ability of these organs to accumulate the zinc moiety of the fungicide.

Finally, while the residues found in all edible portions from the 40 mg/Kg group are all beyond the allowed tolerance levels, meat and organs from the group at lower Zineb dosage should not give rise to risks for the consumers.

Nonetheless the occurrence of Zineb dangerous metabolites which will be determined in a further study, should not be overlooked.

RÉSUMÉ. — Les Auteurs ont déterminé les résidus du fongicide Zineb dans les organes de veaux traités expérimentalement.

Les dosage utilisés ont été de 4 et 40 mg/Kg p.v., respectivement par 600 et 270 jours.

Parmi les différents organes-cibles des DTC, c'est dans la thyroïde qu'on retrouve la plus grande quantité de résidus.

On a aussi déterminé des teneurs élevées dans le pancreas et les testicules.

En considérant la loi italienne les risques d'une toxicité de relais sont envisagés seulement pour les veaux traités avec 40 mg/kg p.v.

Introduzione.

Tra gli anticrittogamici maggiormente impiegati in agricoltura l'etilenbisditiocarbamato di zinco (Zineb) ed altri ditiocarbamati (DTC) costituiscono tuttora principi attivi di elezione nella lotta contro le malattie fungine di numerose colture (1). Secondo dati piuttosto recenti i DTC, da soli o in associazione con composti di Cu o di S, costituiscono circa il 22% di tutti i fungicidi impiegati sul territorio nazionale (ISTAT, 1978).

Nel corso di questi ultimi anni si è andata accumulando una cospicua letteratura sugli effetti tossici attribuibili sia ai DTC sia ai loro metaboliti, tra i quali l'etilentiourea (ETU) e il solfuro di carbonio (CS₂) (2). La tendenza all'intensificazione del numero dei trattamenti agricoli (1) e la durata dell'emivita fisiologica di tali composti, stimabile intorno alle due settimane (3), giustificano ampiamente il sospetto di una possibile contaminazione delle derrate destinate sia all'alimentazione umana sia a quella animale.

Inoltre residui di DTC sono stati reperiti in tiroidi di feti bovini abortiti (4). È stato pertanto ritenuto di notevole interesse intraprendere uno studio sugli effetti legati all'esposizione protratta a dosi scalari di Zineb nel bovino, verificandone le azioni a carico dei vari organi bersaglio (5, 6, 7). Scopo del lavoro è stato valutare i residui presenti nei tessuti, al fine di correlare la quantità di fungicida rinvenuta con gli effetti patologici. Inoltre è stata nostra intenzione verificare se l'esposizione prolungata a piccole dosi di Zineb potesse dare luogo ad accumuli pericolosi per la salute umana.

Materiali e metodi.

Diciotto vitelli di razza Frisona dell'età di circa 4 mesi vennero suddivisi in 3 gruppi di 6 soggetti ciascuno. Lo Zineb (Zineb tecnico 92%, Farnoplant, Milano) fu somministrato miscelato con uno sfarinato del commercio rispettivamente alle dosi

di: 0 (controllo), 4 (gruppo A) e 40 (gruppo B) mg/kg p.v. al giorno. La durata del trattamento fu di 600 giorni per il gruppo A e di 270 giorni per il gruppo B. Il gruppo di controllo fu sacrificato dopo 600 giorni. Nel corso del trattamento la dieta degli animali venne completata con foraggio fresco, fieno ed insilato di mais. Campioni di tali alimenti furono analizzati per escludere la presenza di residui di DTC.

Al termine della durata prevista per ciascun trattamento, gli animali sono stati sacrificati 16 ore dopo l'ultima somministrazione e campioni dei principali organi sono stati prelevati e conservati a —20 gradi centigradi fino al momento dell'analisi.

La determinazione del radicale ditiocarbamico è stata effettuata con il metodo spettrofotometrico di CULLEN (8) modificato da KEPPEL (9), come descritto da GENNARO SOFFIETTI (10). Le letture dei campioni furono eseguite per mezzo di uno spettrofotometro B & L Spectronic 2000.

Alcuni campioni di organi dei soggetti di controllo vennero utilizzati come bianchi.

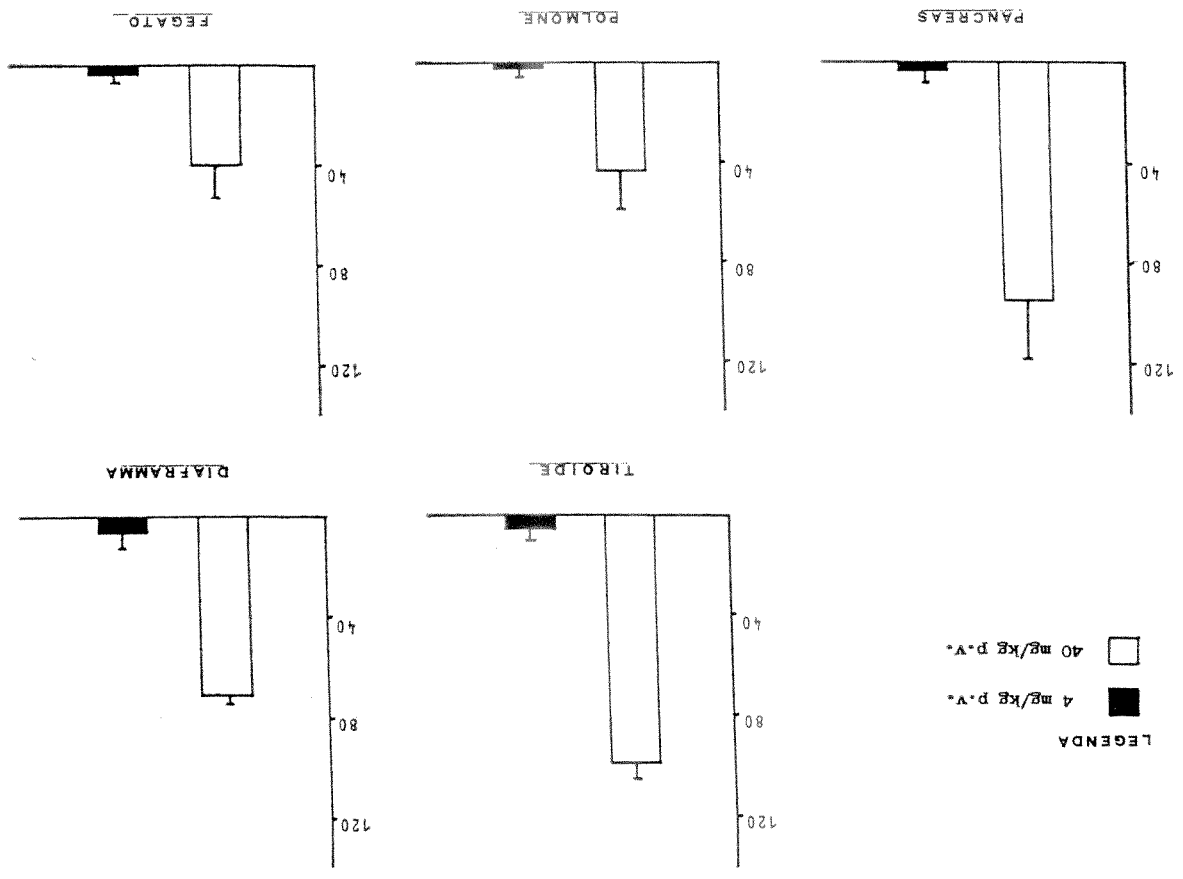
Risultati e discussione.

Dall'esame delle figure 1 e 2 si può notare come i residui di Zineb risultino, come era lecito attendersi, quantitativamente maggiori nel gruppo trattato con 40 mg/kg p.v.

È tuttavia interessante rilevare che la distribuzione dei residui di Zineb in rapporto ai singoli organi assume un andamento sostanzialmente simile nei due gruppi sperimentali. I valori considerevoli riscontrati nella tiroide indicano come anche nella specie bovina tale ghiandola costituisca una delle sedi principali di accumulo dei radicali ditiocarbamici, in analogia a quanto osservato in animali da laboratorio (11), polli (12) e conigli (13).

Inoltre la presenza di una maggiore quantità di Zineb nella tiroide degli animali del gruppo B è verosimilmente correlabile con l'intensa depressione della funzionalità tiroidea e con la maggiore gravità dei danni istologici osservati in tali soggetti rispetto al gruppo A (4).

Il cospicuo rinvenimento di residui in sede pancreatica e testicolare, oltre ad indicare un particolare tropismo dello Zineb per tali organi, fa supporre che la molecola del fungicida possa agire quale vettore di zinco.



Somministrazioni di zinco nella dieta di bovini in quantità eccedenti i valori normali, ma decisamente non tossiche (200 ppm), determinano infatti una localizzazione preferenziale di tale metallo in pancreas e testicolo (14).

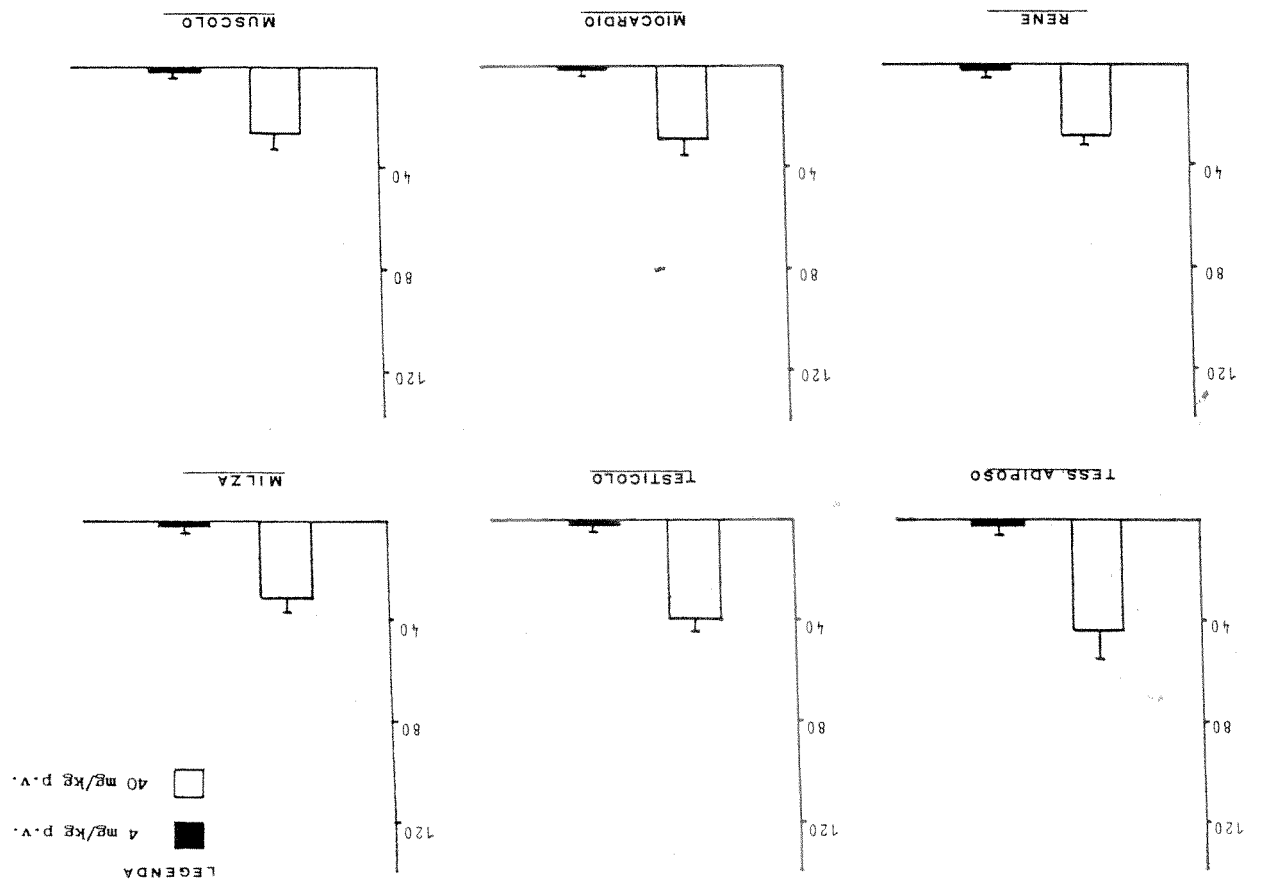


Fig. 1 e 2. - Residui di Zineb, espressi in $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ nei vitelli dei gruppi A e B (valori medi \pm ds).

Le quantità relativamente modeste di Zineb riscontrate nel fegato, in rapporto ad altri organi, depongono per una metabolizzazione epatica molto rapida del fungicida. Le differenti quantità di Zineb rinvenute a livello epatico nei due gruppi sperimentali potrebbero inoltre giustificare almeno in parte gli effetti discordanti riscontrati a carico di alcune monossigenasi microsomiali epatiche (MFO) (6).

È possibile infatti che la maggior attività delle MFO determinata nel gruppo A (4 mg di Zineb/kg p.v. pro die) sia ricollegibile ai modesti tenori residuali in ambito epatico. D'altro canto, l'accumulo di fungicida in tale sede in quantità 10 volte superiori può verosimilmente aver condizionato la diminuzione dell'attività monossigenasica evidenziata nel gruppo B.

La concentrazione relativamente alta di Zineb nel polmone, particolarmente nel gruppo B, è probabilmente correlabile con la natura polverulenta del fungicida che può averne determinato l'assunzione anche per via aerogena.

Un cenno a parte meritano i residui Zineb riscontrati nel diaframma e nel muscolo striato. La notevole disparità di valori potrebbe essere imputata sia ad una maggiore vascolarizzazione del diaframma, sia ad una accidentale contaminazione con il liquido ruminale o con il materiale intestinale verificatasi durante l'eviscerazione della carcassa.

Dal punto di vista igienico-sanitario, infine, i tenori residuali riscontrati sia nei parenchimi edibili sia nella muscolatura degli animali del gruppo B sono superiori al limite di 0,2 ppm stabilito dalla normativa vigente (O.M. 6-6-85). Sotto questo punto di vista, invece, l'assunzione di carni e visceri degli animali del gruppo A non presenterebbe pericoli per il consumatore. Tali risultati sono piuttosto confortanti se si considera che il dosaggio assunto pro die dagli animali del gruppo A è quello che maggiormente riproduce le condizioni riscontrabili « in campo ». Occorre tuttavia considerare la possibile presenza di residui tissutali di alcuni metaboliti dei DTC, fra i quali l'ETU, composto del quale sono noti effetti cancerogeni (15) e teratogeni (16). La pericolosità dell'ETU è ben rappresentata dalla dose giornaliera tollerata (ADI) pari a sole 5 ppb, mentre tale parametro per lo Zineb è 10 volte superiore (17).

Sono in programma ulteriori indagini allo scopo di quantificare l'eventuale presenza di tale metabolita nei tessuti degli

animali del presente esperimento, valutandone il rapporto con i residui del composto originario.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ZANINI E., CIGNETTI A. (1983) - *Lo studio della diversificazione degli antiparassitari in uso in frutticoltura come strumento base per la prevenzione dei rischi occupazionali. II Diffusione e importanza relativa dei principi attivi dichiarati in uso su melo e pesco in Piemonte nel biennio 1980-81.* Atti del quarto convegno sulla patologia da tossici ambientali ed occupazionali, Cagliari, 26-27 maggio 1983, pp. 181-186.
- 2) BORIN C., PERROUET A., MITTAVILLA S. (1985) - *Studies on the mechanism of Nabam and Zineb reduced inhibition of the hepatic microsomal monoxygenases of the male rat.* Toxicology and Applied Pharmacology, 81, 460-468.
- 3) NASH R. G., BEALL M. L. JR. (1980) - *Fate of Maneb and Zineb fungicides in microaerobic system chambers.* J. Agric. Food Chem., 28, 322-330.
- 4) GENNARO SOFFIETTI M., NEBBIA C., BIOLATTI B., ANGELIETTI E. (1981) - *Determinazione di residui di tireostatici in tiroidi di feti bovini abortiti e rilievi anatomico-istopatologici.* Schweiz. Arch. Tierheilk., 123, 655-662.
- 5) GENNARO SOFFIETTI M., NEBBIA C., RE G., FOGLIATO T. G., CASTRANARO M., CORTINO F., GUARDA F. - *Chronic Zineb toxicity in calves: effects on thyroid and clinic-pathological findings.* Proc. EUROTOX '87, Strasbourg 17-19 Sept. 1987. (In corso di stampa su: Archives of Toxicology).
- 6) NEBBIA C., BURDINO E., BOSIO A., BRANDO C., GENNARO SOFFIETTI M., UGAZIO G. - *Effetti dell'esposizione cronica allo Zineb su alcuni parametri epatici nel bovino.* Atti VI Convegno P.T.A.O. Torino, 30-31 ottobre 1987.
- 7) PANCANI I., GENNARO SOFFIETTI M., GUARDA F., BIOLATTI B., CORTINO F., GARBBEROGGIO R., CANESE M. G. - *Ricerche preliminari morfologico-funzionali sulla tiroide del bovino nella intossicazione cronica da ditio-carbammati.* Atti Soc. Ital. Buiatria, XVIII, 211, 1986.
- 8) CULLEN T. E. (1964) - *Spectrophotometric determination of ditio-carbammate residues on food crops.* Anal. Chem., 36, 221.
- 9) KEPPEL E. (1971) - *Collaborative study of the determination of ditio-carbammate residues by a modified carbon disulfide evolution method.* J.A.O.A.C., 54, 528.
- 10) GENNARO SOFFIETTI M. (1978) - *Determinazione dei residui nei muscoli e negli organi di polli nell'intossicazione da etilen-bis-ditio-carbammato di zinco.* Ann. Fac. Med. Vet. Torino, XXV, 206-213.
- 11) IVANOVA L., MARKOV D. V., DASHEV G. (1971) - *Light and electron microscopic observations on rat thyroid after administration of some ditio-carbammates.* Environ. Res., 4, 201.
- 12) BESTETTI G., GENNARO SOFFIETTI M. (1975) - *Sullo struma tiroideo spe-*

- rimentale nel pollo dopo prolungato trattamento con etilenbisditio-
carbamato di Zinco. Ann. Fac. Med. Vet. Torino, XXII, 315.*
- 13) GUARDA F., GENNARO SOFFIETTI M., NEBBIA C. (1985) - *Experimentelle und spontane Toxikologie und Pathologie des Zinkaethylendithiokarbamats bei Tieren. Wiener Tierärztliche Monatschrift, 72, 161-165.*
 - 14) MILLER W. J. (1973) - *Dynamics of absorption rates, endogenous excretion, tissue turnover and homeostatic control mechanism of zinc, cadmium, manganese and nickel in ruminants. Fed. Proc., 32, 1915-1920.*
 - 15) GRAHAM S. L., HANSEN W. H., DAVIS K. J., PERRY C. H. (1973) - *Effects of one-year administration of ethylenethiourea upon the thyroid of the rat. J. Agr. Food Chem., 21, 324.*
 - 16) RUDDICK J. A., KHERA K. S. (1975) - *Pattern of anomalies following single oral doses of ETU to pregnant rats. Teratology, 12, 277.*
 - 17) F.A.O. - *Pesticides residues in food: 1980 evaluations. F.A.O. plant production and protection paper. Supp. 26, Roma, 180, 1981.*