

COMMUNICATION

Dépistage, au moyen de l'examen testiculaire, des volailles castrées par administration *per os* d'œstrogènes de synthèse.

par J. PANTALÉON, J. BILLON et J. MORRE

La castration hormonale des volailles a fait l'objet d'une étude générale, englobant ses aspects zootechnique, toxicologique, anatomique et histologique, réalisée dans les Laboratoires du Service Vétérinaire de la Seine avec la collaboration de nos Confrères ADROIT, HAUTEFORT, MAUGARD, RICHOU et ROSSET. Un mémoire d'ensemble fera l'objet d'une présentation ultérieure à l'Académie Vétérinaire de France.

Notre propos actuel est de dégager les acquisitions obtenues pour le dépistage simple et rapide de poulets ayant été l'objet d'un chaponnage pharmacodynamique par l'administration *per os* d'œstrogènes ajoutés au régime.

Sans doute il est possible par une méthode biologique de détermination : épreuve d'ASTWOOD (1) fondée sur l'augmentation du poids de l'utérus de la souris ou de la rate impubères, de mettre en évidence et de doser les substances hormonales administrées, au niveau du foie et du muscle de ces poulets (2). Cependant cette technique est longue, délicate et n'apporte pas de preuve formelle lorsque l'alimentation supplémentée en œstrogènes est interrompue plusieurs jours avant la sacrification des animaux : observation de BELLANI et TIECCO (3) confirmée par nous-mêmes.

Notre hypothèse de travail est partie du fait que les œstrogènes utilisés pour la castration visent comme tissu cible le testicule, c'est donc bien au niveau de cet organe récepteur électif qu'il convient de rechercher les effets d'ordre macroscopique et histologique.

PROTOCOLE D'ESSAIS.

Des coquelets hybrides Sussex-Wyandotte ont été mis en expérimentation à l'âge de 6 semaines (expérience 1963) et à l'âge de 8 semaines (expérience 1964). Pour chaque essai nous disposons de 30 animaux témoins alimentés avec une nourriture normale constituée par une farine composée, et de 30 autres sujets qui recevaient des œstrogènes ajoutés au régime (la farine était additionnée de 30 milligrammes de diethylstilboestrol et de 30 milligrammes d'hexoestrol par kilogramme).

Il a été calculé que dans l'expérience 1963 d'une durée de 5 semaines, chaque sujet traité avait absorbé 200 mg d'œstrogènes et que dans l'expérience 1964, d'une durée de 6 semaines la quantité ingérée s'élevait à 290 mg.

Pour la moitié des volailles traitées nous avons interrompu la ration expérimentale 48 heures avant la sacrification, en sorte que les carcasses étaient représentatives de 3 lots d'animaux :

Lot A : sujets témoins recevant une nourriture normale.

Lot B : poulets alimentés avec une ration supplémentée en œstrogènes durant la période d'engraissement et mis au régime normal 48 heures avant le sacrifice.

Lot C : poulets nourris jusqu'au jour de l'abattage avec l'aliment supplémenté.

1° EXAMEN MACROSCOPIQUE DES TESTICULES

Nos études ont été effectuées sur les sujets de nos deux séries d'expérimentation ainsi que sur des animaux du commerce.

L'aplasie testiculaire des volailles traitées s'objective d'une manière évidente chez certains sujets ; cependant pour d'autres la régression apparente des glandes génitales est parfois plus discrète. L'observation directe, sans élément de comparaison, ne permettant pas toujours une conclusion formelle, il fallait recourir à des méthodes basées sur des données pondérales ou sur les examens histologiques.

Etude des modifications pondérales.

Pour chaque lot de poulets nous avons déterminé la moyenne arithmétique du *poids des carcasses* (C) et celle du poids des *paires de testicules* (T). Pour objectiver d'une manière générale la relation entre ces deux valeurs, nous avons déterminé le rapport $\frac{T \text{ (en g)} \times 1000}{C \text{ (en g)}}$ que nous désignons sous le vocable *d'indice testiculaire*.

Les résultats sont rassemblés dans les tableaux I et II.

L'écart quadratique montre que pour des carcasses sensiblement équivalentes le poids testiculaire présente une certaine variation, cette constatation vaut d'une manière manifeste pour les animaux normaux (0,200 à 0,500) et à un moindre degré pour les sujets traités (0,100). Cette observation implique la nécessité de ne calculer le poids moyen des testicules et l'indice testiculaire que sur des lots comportant au minimum 10 poulets et non pas sur un nombre plus restreint d'individus, ce qui conduirait à de larges erreurs d'interprétation.

Ce point fondamental étant précisé, on constate que les poulets traités ont un indice testiculaire très bas (0,217 et 0,227) alors que les poulets normaux, lorsque leur poids est nettement supérieur à 1.000 g, présentent régulièrement un indice beaucoup plus élevé : 0,352-0,358-0,372-0,412-0,441-0,564. Les conclusions de ces premières études sont les suivantes :

— Un indice testiculaire supérieur à 0,350 se rencontre chez les poulets dont le développement testiculaire est normal.

— Un indice testiculaire inférieur à 0,230 correspond à des volailles en état d'aplasie ou d'involution testiculaire obtenu par castration chimique.

— Un indice compris entre 0,230 et 0,300 constitue un indice de présomption en faveur d'une administration d'œstrogènes, il justifie une enquête sur les conditions d'élevage et le recours à des méthodes d'expertise complémentaire plus précises.

2° EXAMEN HISTOLOGIQUE DES TESTICULES

La coupe de *testicule normal* se présente à l'examen microscopique sous l'aspect de conduits constitués par les tubes séminifères séparés par le tissu interstitiel. En employant le grossissement 320, utilisé pour les microphotographies ci-jointes on distingue :

1° a la base des tubes séminifères une paroi propre ou vitrée formée de lamelles conjonctives disposées concentriquement puis,

2° un revêtement épithélial qui s'implante sur la précédente et dont les éléments se rapportent aux cellules de SERTOLI et aux cellules séminales souches ou spermatogonies,

3° enfin, jusqu'au centre du tube séminifère les cellules de la lignée séminale aboutissant aux spermatozoïdes.

Le revêtement épithélial qui porte le nom de syncytium de SERTOLI à l'aspect d'une lame cellulaire épaisse. Constitué d'éléments très polymorphes, semé de larges cavités comblées par les cellules sémi-

nales souches il constitue le tissu nourricier et de soutien pour ces dernières.

Entre les tubes séminifères on note en différents endroits la présence de faibles plages de tissu interstitiel avec les cellules de LEYDIG. Les coupes colorées par l'hémalum, éosine-orange G montrent nettement cette structure ; celles qui sont traitées par la méthode au bleu trichrome de MASSON (microphotographie n° 1) indiquent surtout le caractère fonctionnel des différents éléments cellulaires par la coloration très marquée des noyaux qui fixent fortement l'hématéine, surtout chez les cellules de la lignée séminale.

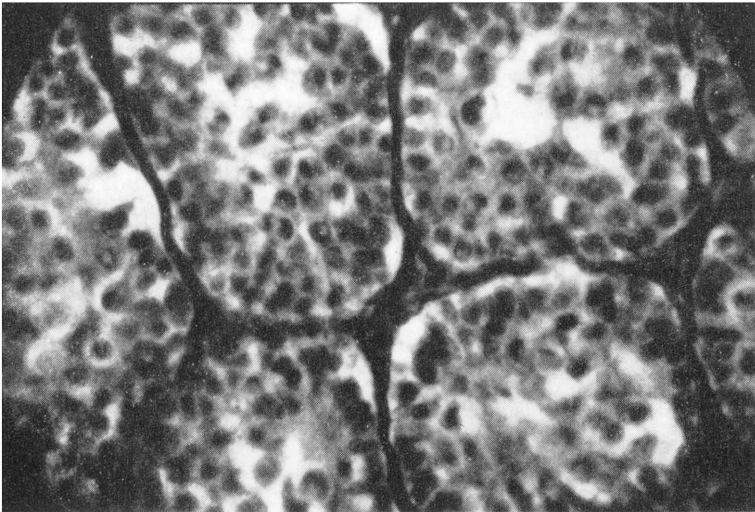


FIG. 1.

Rappelons que tous les éléments du testicule ont des rôles bien définis :

— *Le syncytium de SERTOLI* remplit une fonction double : *trophique*, c'est la nutrition des cellules souches de la lignée séminale ; *hormonale*, c'est la sécrétion d'œstrogènes ainsi que l'ont montré LACY et LOFTS (4).

— *La lignée séminale* qui pour le testicule normal parvient presque à combler la lumière du tube séminifère représente la succession des stades évolutifs aboutissant aux spermatozoïdes.

— *Le tissu interstitiel* a un rôle purement hormonal : production des androgènes au niveau des cellules de LEYDIG.

Comment peut s'expliquer, au niveau des testicules, l'action des œstrogènes administrés pour réaliser la castration pharmacodynamique ?

Elle intervient de manière indirecte par une inhibition de la fonction gonadotrope hypophysaire (F S H et I C S H), de cette façon la lignée séminale et les cellules de LEYDIG régressent puis dégèrent pour être remplacées par des fibroblastes. En outre, d'après ARON (5) il y aurait également une activité inhibitrice directe des œstrogènes sur la lignée séminale.

Le testicule des sujets castrés (lots B et C) présente d'une façon évidente les phénomènes d'aplasie ou d'involution que nous venons d'évoquer.

Les images qui s'objectivent immédiatement sont celles d'un testicule atrophié et non fonctionnel (microphotographie n° 2) :

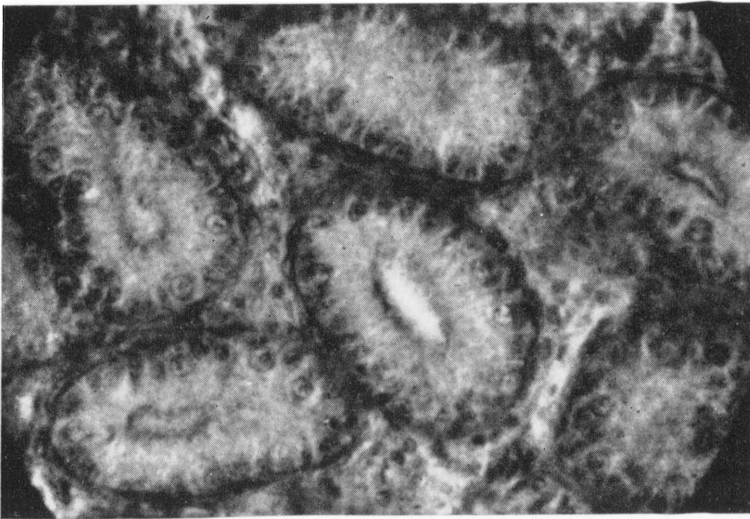


FIG. 2.

— au lieu de juxter comme dans le testicule normal, les tubes séminifères sont disjoints par un dense tissu cloisonnaire.

— Le diamètre des tubes séminifères est réduit : il n'est que les trois-quarts, voire la moitié de celui des tubes des sujets normaux.

— Les tubes séminifères présentent au centre une lumière bien évidente, à contour irrégulier, alors que chez les sujets témoins

celle-ci est le plus souvent inapparente car comblée de spermatozoïdes en voie d'expulsion.

L'examen approfondi révèle la disparition de la lignée séminale, remplacée par des éléments cellulaires peu différenciables, sans noyau apparent, et uniformément colorés en rose à la coloration hémalum, éosine-orange G. Seul persiste le syncytium de SERTOLI nettement élargi où se distinguent les noyaux cellulaires groupés contre la paroi tubulaire sur une ou deux rangées concentriques.

Par ailleurs, se décèlent des manifestations de sclérose régressive :

— épaissement de la membrane basale dont les éléments conjonctifs apparaissent fortement colorés en bleu par la coloration de MASSON,

— hypertrophie scléreuse de la trame interstitielle.

Ces images histologiques univoques permettent de déceler immédiatement et en toute certitude la fraude de l'éleveur qui aurait supplémenté la ration avec des œstrogènes, même si cette manœuvre avait été interrompue quelques jours avant la sacrifice.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le chaponnage pharmacodynamique des poulets peut tenter certains éleveurs afin d'augmenter la rentabilité de leurs élevages. Cette pratique au sens de la loi constitue une fraude, par ailleurs, elle est dangereuse pour la santé des consommateurs ingérant la chair des animaux traités.

Par la méthode biologique d'ASTWOOD il est possible de déceler et de doser les œstrogènes dans le foie et le muscle des volailles traitées, malheureusement la technique est longue, délicate et n'apporte pas de preuves formelles lorsque l'alimentation supplémentée en œstrogènes est interrompue plusieurs jours avant la sacrifice des animaux.

Il en est de même pour les méthodes de dosage physico-chimiques, en particulier la technique de chromatographie en couche mince qui nécessite un taux important d'œstrogènes et n'est guère utilisable qu'au niveau du foie et pour les sujets dont les rations ont été supplémentées durant toute la durée de la période d'engraissement.

Pour toutes ces raisons nous proposons deux méthodes nouvelles d'expertise :

1° L'indice testiculaire déterminé sur un lot minimum de dix animaux permet très rapidement d'écarter ou de présumer la fraude.

2° La révélation par étude histologique de très évidentes images

TABLEAU I. — *Poulets des expériences 1963 et 1964*

Année	Lot	Nombre de poulets	Moyenne arithmétique du poids des carcasses (C)	Moyenne arithmétique du poids des paires de testicules (T)	Ecart quadratique de T	Indice testiculaire $\frac{T \times 1.000}{C}$
1963	Poulets Témoins Lot A.	30	1.240 g	0,700 g	0,350	0,564
1963	Poulets Traités Lots B et C	30	1.285 g	0,280 g	0,100	0,217
1964	Poulets Témoins Lot A.	30	1.796 g	0,740 g	0,500	0,412
1964	Poulets Traités Lots B et C	30	1.870 g	0,425 g	0,100	0,227

TABLEAU II. — *Poulets du commerce*

N° du lot	Nombre de poulets constituant un lot homogène	Moyenne arithmétique du poids des carcasses (C)	Moyenne arithmétique du poids des paires de testicules (T)	Ecart quadratique de T	Indice testiculaire $\frac{T \times 1.000}{C}$
1	34	2.019 g	0,891 g	0,295	0,441
2	30	1.852 g	0,655 g	0,202	0,352
3	36	1.666 g	0,621 g	0,214	0,372
4	23	1.090 g	0,391 g		0,358

d'aplasie ou d'involution testiculaire dénonce chez le poulet d'âge adulte l'application de la castration hormonale dans toutes ses modalités.

(Service Vétérinaire Sanitaire de la Préfecture de Police).

BIBLIOGRAPHIE

1. ASTWOOD (E. B.). — *Endocrinology*, 1938, 23, 25.
2. ZUNDEL (G.), RINJARD (P.) et QUEVAUVILLER (A.). — *Ann. Fals et expérimente chimique*, 1964, 57, 144.
3. BELLANI (L) et TIECCO (G.). — *Acti telle Soc. Ital. Sc. Veter.*, nota III, 1961, 15, 594.
4. LACY (D.) et LOFTS (B.). — *J. Of. Physiol. G. B.*, 1962, 161, 23.
5. ARON (M.) et ARON (C.). — *Eléments d'endocrinologie physiologique* 1 Vol. Masson, Paris, 1950.

Discussion

M. BRION. — Les photomicrographies des testicules normaux concernent-elles des animaux de 12 à 14 semaines ou les animaux de 6 à 8 semaines ?

M. PANTALÉON. — Elles concernent les animaux d'âge adulte, cependant des préparations histologiques ont été faites sur des sujets plus jeunes.

M. BRION. — Quelle est la différence au point de vue histologique avec les testicules de sujets de 6 à 8 semaines ?

M. BILLON. — Pour les poulets de 6-8 semaines, l'image histologique des testicules est très sensiblement la même que pour les sujets plus âgés : tubes séminifères étroitement accolés, non dissociés par de larges plages de tissu fibreux.

M. BRION. — Je pose cette question parce que vous avez commencé vos expériences avec des animaux de 6 semaines d'une part et de 8 semaines d'autre part, l'âge du sacrifice étant de 12 à 14 semaines. Or dans la pratique on sacrifie les animaux à l'âge de 8 ou 9 semaines. Je vous pose donc la question : est-ce que les résultats seraient aussi nets sur des animaux qui seraient plus jeunes ?

M. PANTALÉON. — Nous avons essayé de répondre à l'avance à votre question dans la première expérience. Nous avons sacrifié des poulets de faible poids puisqu'il s'agissait d'animaux de 11 semaines qui faisaient le poids mort de 1,200 kg, alors que dans la deuxième expérience nous sommes partis d'animaux plus âgés sacrifiés à 14 semaines et pesant 1,700 kg à 1,800 kg morts.

Les valeurs de l'indice testiculaire rapportées dans le tableau I sont tout à fait comparables pour les deux expériences. Au point de vue histologique nous avons eu également des résultats tout à fait identiques. Ce qu'il faut préciser c'est que ces résultats ne peuvent être valables que pour des poulets d'âge adulte, c'est-à-dire dont le poids mort excède nettement 1 kg.

M. DRIEUX. — Il s'agit là d'expériences extrêmement intéressants et je suis très heureux que nos collègues les aient entreprises. Je voudrais cependant appeler leur attention sur le point suivant : le caractère différentiel principal

est que le testicule des castrés est aspermatogène. Evidemment dans les circonstances de l'expérience il n'est pas douteux que la cause en est l'ingestion d'œstrogènes, mais je me demande si, dans la pratique, on ne pourrait pas rencontrer des causes non hormonales faisant apparaître également un testicule aspermatogène. Il y a là je crois une vérification à faire, car il pourrait se produire un blocage du développement testiculaire en rapport avec tout autre chose que l'administration d'œstrogènes.

M. PANTALÉON. — Les images d'atrésie ou d'involution testiculaire avec transformation fibreuse très nette du tissu interstitiel objectivent l'action pharmacodynamique de substance agissant électivement sur le testicule ; dans l'état actuel de nos connaissances il y a lieu de suspecter l'action de substances bloquant la fonction androgène, c'est-à-dire tout particulièrement l'administration d'œstrogènes.

M. DRIEUX. — Il faut être attentif au fait que, dans un testicule en voie de développement qui n'a pas encore produit ses lignées séminales, le syncytium de SERTOLI constitue une masse vraiment compacte avec les noyaux sertoliens à la base, et une lumière du tube séminifère très nette, alors que dans le testicule en état de spermatogenèse le fond sertolien de la préparation histologique ressort beaucoup moins et la limite interne du tube séminifère apparaît beaucoup plus floue.

Par conséquent je ne pense pas que l'on puisse arguer d'une façon formelle de la netteté de la limite du syncytium de SERTOLI sur les testicules aspermatogènes pour dire que nous avons là une manifestation certaine de l'action des œstrogènes.

M. BILLON. — Chez le poulet qui n'a pas encore atteint l'âge de 6-8 semaines, l'administration d'œstrogènes ne se pose pas, puisque le testicule n'est pas encore parvenu au stade adulte. En fait elle ne se pose que pour les sujets que l'on garde un peu plus longtemps pour justement éviter la production de l'hormone mâle. Je crois que pour les poulets d'un certain poids, qui pèsent au moins 1,4 kg à 1,5 kg de poids vif, cette méthode a un intérêt parce qu'elle permet en testant un lot de poulets d'écarter ou de présumer une fraude.

M. DRIEUX. — Je suis d'accord avec vous, l'application de la méthode offre un très grand intérêt. Je veux seulement appeler votre attention sur le fait que dans les conditions de l'élevage industriel, jadis tout au moins, actuellement encore dans certains pays, l'administration d'œstrogènes est considérée, à tort ou à raison, comme favorisant la croissance. Par conséquent vous pouvez très bien avoir des poulets de 8 ou 9 semaines auxquels on a tout de même administré des œstrogènes dans leurs aliments, non pas pour les castrer, le testicule restant impubère jusqu'à cet âge, mais seulement pour activer la croissance. Dans ce cas la recherche de l'œstrogène offre également un certain intérêt.

M. BILLON. — Quand on a un doute à ce sujet on peut avoir recours aux autres méthodes.

M. THIEULIN. — Je voudrais ajouter un mot, non pas au point de vue de la discussion qui vient d'avoir lieu, elle est complète, mais sur l'ensemble de l'opération.

Lorsque l'on aboutit, par une méthode ou par une autre, sinon à la preuve, tout au moins à la suspicion, l'intérêt c'est de déclencher une enquête à l'origine et de pouvoir à ce moment là apporter des éléments complémentaires puisque le but final c'est d'arriver à interdire pratiquement l'emploi des œstrogènes. Que ce soit la preuve immédiatement administrée ou une suspi-

cion qui permette d'en aller à la source et de déclencher une enquête pertinente et développée, je crois que cela concourt à atteindre le but qui est celui que poursuivent les services d'inspection d'interdire et éventuellement de punir cette pratique condamnée par la réglementation.

M. GUILLOT. — Je voudrais intervenir non pas au sujet de l'ingestion, mais des pellets dont l'insertion est interdite. Que se passe-t-il au point de vue testiculaire, car malgré la réglementation la question pourrait se poser dans le cas de poulets importés ?

M. PANTALÉON. — Nous avons été servis par la chance en ce sens que nous avons pu trouver, quelques sujets à pellets dans un lot de poulets exposés à la vente. Bien entendu l'indice testiculaire était effondré, inférieur à 0,2. Le pellet était absolument évident. Nous n'avons pas voulu réaliser une expérimentation sur les poulets dont la castration est obtenue par implantation d'un pellet étant donné que la fraude est tellement évidente par elle-même qu'elle se signale d'emblée.

M. GUILLOT. — Je pense au cas des lots importés lorsque la tête des volailles est coupée.

M. PANTALÉON. — De toute manière nous aurions un indice testiculaire très significatif. Je pense que dans les transactions internationales sur les volailles le fait d'ouvrir une dizaine de carcasses et de procéder en quelques minutes à l'appréciation testiculaire, permettrait de présumer ou d'écarter l'idée de fraude.

LE PRÉSIDENT. — Je voudrais poser à mes confrères une question sur le plan pratique.

Est-ce que la méthode recommandée ne causera pas une certaine détérioration de la marchandise qui pourrait faire naître des protestations de la part des commerçants ? Est-ce que la technique de prélèvements des testicules ne présente pas cet inconvénient ?

M. PANTALÉON. — Sur le plan de l'expertise il n'y a qu'une manipulation très simple à conduire : pratiquer sur le flanc de la carcasse une incision d'environ 5 cm de long permettant de recueillir les testicules.

LE PRÉSIDENT. — Combien de poulets environ examinerez-vous sur un lot important ?

M. PANTALÉON. — Je pense qu'il faut au moins examiner 10 poulets sur un lot de 2 à 300 pour avoir une opinion.

LE PRÉSIDENT. — Par conséquent les détériorations seront relativement minimes

M. DRIEUX. — Un dernier mot. Dans la préparation du poulet « prêt à cuire », on s'applique à vider le poulet intégralement, et les testicules n'échappent souvent pas à cette élimination. Dans certains pays étrangers les organes génitaux sont d'ailleurs systématiquement déclarés impropres à la consommation. Comment alors le contrôle que vous préconisez sera-t-il possible ?

M. PANTALÉON. — Actuellement les méthodes d'éviscération, aussi complètes qu'elles soient, laissent toujours les testicules : l'ablation totale représenterait alors un élément de suspicion.

M. BRION. — Je voudrais élargir un peu ce débat parce qu'il existe un texte, le décret du 20 mars 1959, qui interdit implicitement l'emploi des oestrogènes, des antimoniaux et arsenicaux dans l'alimentation des animaux et qui interdit également l'emploi de ces substances, « par quelque moyen que ce soit ». En fait, ce texte interdit de mettre en vente la viande des animaux ainsi traités, ce qui revient au même.

Or je suis extrêmement étonné de voir dans de nombreux journaux professionnels ou agricoles de la publicité pour l'implantation d'œstrogènes chez les bovins. Le texte rapporté n'est pas spécial aux volailles, il s'adresse aux animaux quels qu'ils soient, et je m'étonne que la méthode d'implantation hormonale chez les bovins soit conseillée ouvertement dans un but qui n'est pas exclusivement thérapeutique. Ces substances ne sont-elles pas aussi préjudiciables dans la viande de bœuf ? C'est une question que je pose à ceux d'entre vous qui pourraient me répondre.

LE PRÉSIDENT. — L'Académie pourrait se préoccuper de la question et émettre un vœu pour rappeler que les prescriptions légales devraient être appliquées d'une façon efficace.

Je propose que l'Académie nomme une commission qui pourrait étudier cette question d'une façon plus approfondie, et s'il y a lieu, nous proposer d'émettre un vœu à ce sujet.

L'Académie accepte cette proposition.

Sont désignés pour faire partie de la commission : MM. BRION, PANTALÉON, DRIEUX et THIEULIN.