

SOBRE LOS EFECTOS DEL "LARGACTIL" (2 - Cloro - 10 (3 - Dimetilaminopropil) - Fenotiazina) EN LAS AVES

Por Bernabé Sanz Pérez

En un trabajo anterior (SANZ PEREZ, 1964) escribíamos que para eliminar los inconvenientes del manejo de animales nerviosos y excitables y con el fin de mejorar su rendimiento cárnico, lechero, etc., se han utilizado los tranquilizantes por vía parenteral y "per os".

Desde hace aproximadamente siete años son muchos los trabajos dedicados al estudio de estas drogas en experimentación aviar sin que los resultados sean en absoluto concordantes; posiblemente los experimentos con clorpromacina en las aves sean a este respecto los más demostrativos: Así, mientras FRITZ y colaboradores (1959) y VAN THIENHOVEN (1959) señalan que produce un efecto promotor del crecimiento, en otros casos se ha negado incluso su acción tranquilizante (CRAIG, 1959; BURGER *et al.*, 1959).

De otra parte la concentración de la droga en la carne y sus posibles efectos en el consumidor de la última preocupa tanto a la industria cárnica como a la salud pública.

El presente experimento se planteó con el fin de estudiar el efecto de la clorpromazina sobre el crecimiento de los pollos, sus acciones sobre la profundidad de la sangría y las cantidades residuales de la droga que aparecen en los tejidos de las aves cuando se les administra "per os" o parenteralmente a dos niveles diferentes.

MATERIAL Y METODOS

Animales: Se emplearon pollitos Leghorn machos, de un mes de edad, procedentes de una explotación avícola industrial de absoluta garantía.¹ Con el fin de facilitar su adaptación a las condiciones del experimento y para seleccionar tres lotes de pollos de características análogas (diez animales por lote), se mantuvieron una semana en baterías de paredes y suelo metálicos, debajo de los últimos existen bandejas metálicas colectoras de excrementos. Estas mismas baterías servían de alojamiento a los animales durante el período experimental. El pienso que recibieron era el mismo que constituiría la ración básica; pusieron en todo tiempo de alimento y agua "*ad libitum*". La humedad y temperatura del entorno se mantuvieron constantes mientras duró el experimento.

Transcurrida una semana se hicieron, como se ha dicho, tres lotes (A, B y C) de diez animales. Una vez anillados, en el momento de la separación, e igualmente cada tres días a partir de entonces, cada animal se pesó independientemente utilizando una balanza automática "Mobba" (error < 0,1 gr.). El peso fue siempre determinado por la misma persona y a la misma hora del día.

El lote A (control o testigo) recibió durante todo el experimento un pienso comercial equilibrado en todos sus componentes (P. G., 2A, elaborado por CILNA, León) y agua "*ad libitum*". Los lotes B y C pusieron también "*ad libitum*" del mismo pienso al que se adicionó clorpromazina.²

Sacrificio: A las cuatro semanas de iniciado el experimento se sacrificaron los animales por yugulación externa de los vasos del cuello, determinándose el tiempo de coagulación de la sangre y el necesario para un desangrado completo. Se hicieron frotis de sangre para el conteo posterior de sus elementos siguiendo la técnica de OLSON (1948).

Cuando se juzgó que la sangría era completa se procedió al desplumado manual de los animales y a su evisceración, prestando especial atención al aspecto de las vísceras y cavidades internas.

(1) Avícola Leonesa, El Ferral (León).

(2) Se ha utilizado 2-cloro-10-(3-dimetilaminopropil)-fenotiazina (Largactil[®]), elaborado por la «Société Parissienne d'Expansion Chimique, S. A. (S. P. E. C. I. A.)», cuya identidad y pureza se sometió a comprobación espectrofotométrica y cromatográfica. Los resultados (ver Figs. 1, 2, y 3) coinciden con los de Salzmann y Brodie (1956).

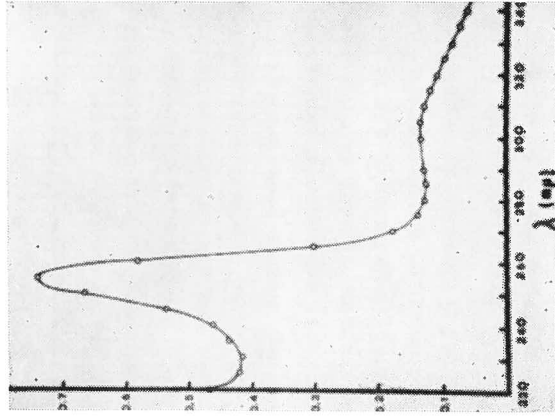


Figura 1:
Espectro de absorción ultravioleta del clorhidrato de clorpromazina en CH 0,1 N. (Se siguió la técnica de Salzmann y Brodie, 1956, utilizando un espectrofotómetro Beckman modelo DU 400).

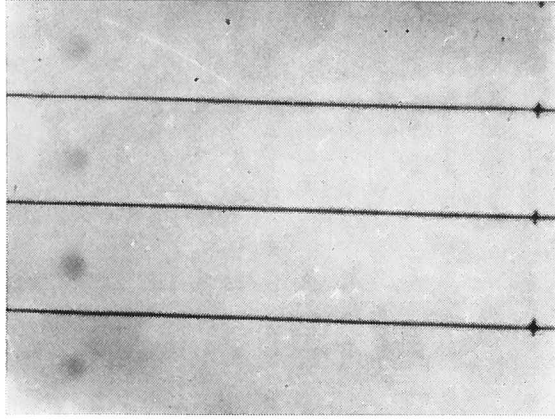


Figura 2:
Cromatograma del clorhidrato de clorpromazina obtenido por cromatografía en papel, técnica ascendente empleando como soporte papel Whatman número 1, como solvente una mezcla de N-butanol : agua : ácido acético (50:50:12) y como revelador ácido sulfúrico 50 por 100.

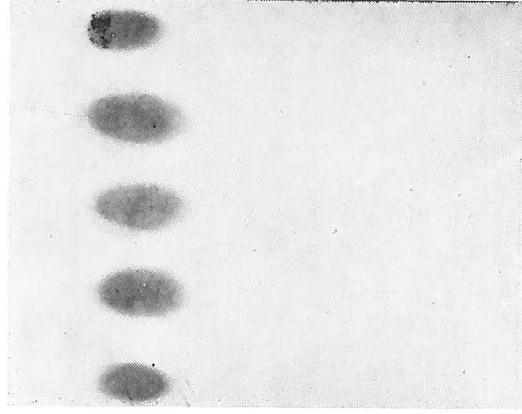


Figura 3:
Cromatograma del clorhidrato de clorpromazina obtenido por cromatografía en capa fina, utilizando como soporte óxido de aluminio G «Merek» y como solvente y revelador los mismos productos utilizados en la técnica anterior.

Determinación del pH: Se llevó a cabo como indican LOPEZ LORENZO *et al.* (1964).

Profundidad del desangrado: La profundidad del desangrado (grado de sangría) se estimó mediante la técnica de SCHOENBERG en los músculos de la pierna, según indica MANTOVANI (1961).

Administración parenteral de la clorpromazina: Cuando se empleó esta vía de administración, la clorpromazina en solución acuosa se inyectó intramuscularmente en la pierna a dos niveles diferentes: 1 mgr/Kgr de peso (lote C₁) y 0,5 mgr/Kgr de peso vivo (lote B₁).

Congelación y almacenamiento: Las canales y el hígado de los diferentes animales se envasaron en bolsas de plástico (cloruro de polivinilo) impermeables que se cerraron a vacío con ayuda de una trompa de agua y se congelaron a -25° C en un congelador "Elektro-Helios". Hasta el momento de su análisis se mantuvieron a la temperatura citada.

Determinación de la clorpromazina: a) Clorpromazina libre en heces. Se llevó a cabo según la metodología del Departamento Técnico de "Specia" (1962), que es una modificación del proceder de FORREST y FORREST (1957) y que se basa en la aparición de un color rojo cuando el fármaco se pone en contacto con ácido sulfúrico concentrado.

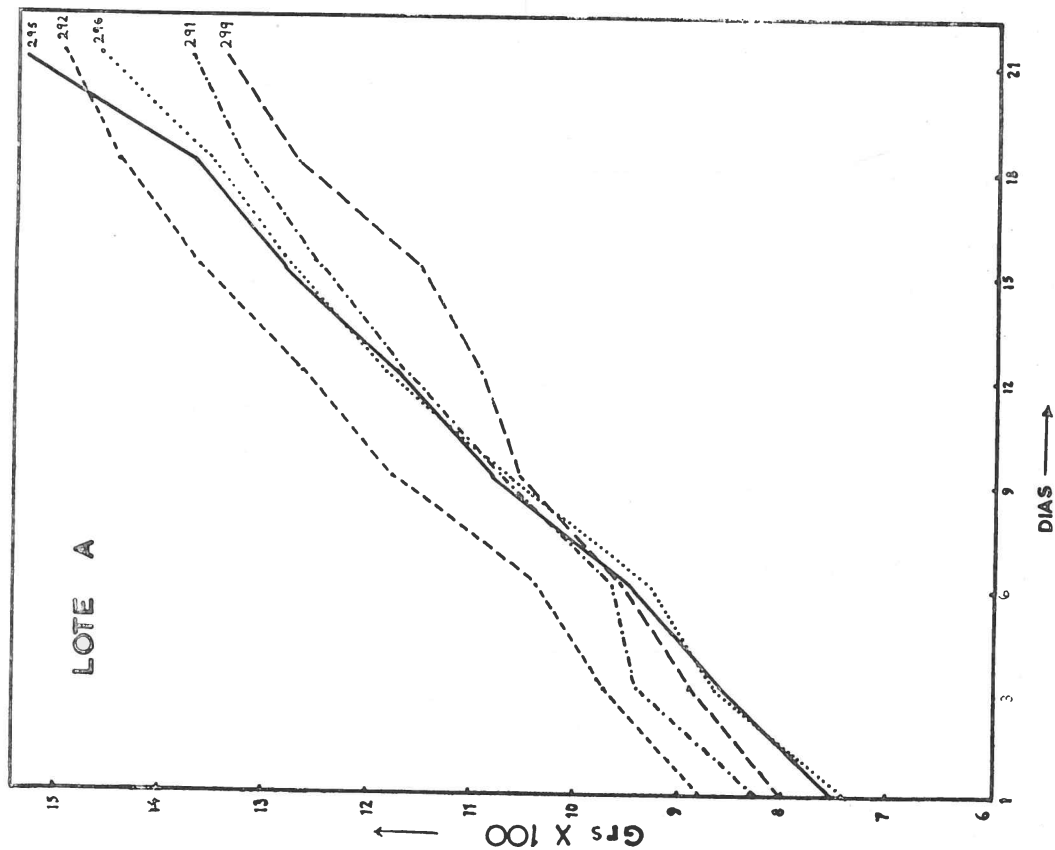
b) Clorpromazina total en heces: Se estimó siguiendo el procedimiento citado, después de hidrolizar las heces con ácido clorhídrico (heces-HCl-agua, 5:4:1 en peso) y neutralizar el hidrolizado con hidróxido sódico 0,2 N.

c) Clorpromazina en carne e hígado: Se siguió el método de SALZMAN y BRODIE (1956).

Todos los reactivos utilizados proceden de la B. D. H., calidad "Analar" para análisis.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las tablas I, II y III y en las gráficas 1, 2 y 3 se expresa la ganancia ponderal de los pollos de los distintos lotes empleados en este experimento. En la gráfica 4 puede apreciarse la ganancia media de cada lote, expresada "*in toto*". Tanto en las tablas como en las gráficas resalta claramente la mejor respuesta de los animales del lote testigo que la de los que recibían "Largactil".



Según se deduce de la gráfica 4 durante los primeros seis días disminuye continuamente el peso de los animales de los lotes B y C, es decir, el incremento ponderal es negativo; después el último aumenta muy lentamente en el lote C hasta los nueve días, y desde entonces, y a partir del día 6 en el lote B, el aumento es paralelo al del lote testigo (A), sin que en ningún momento se alcancen los pesos del lote últimamente citado.

TABLA I

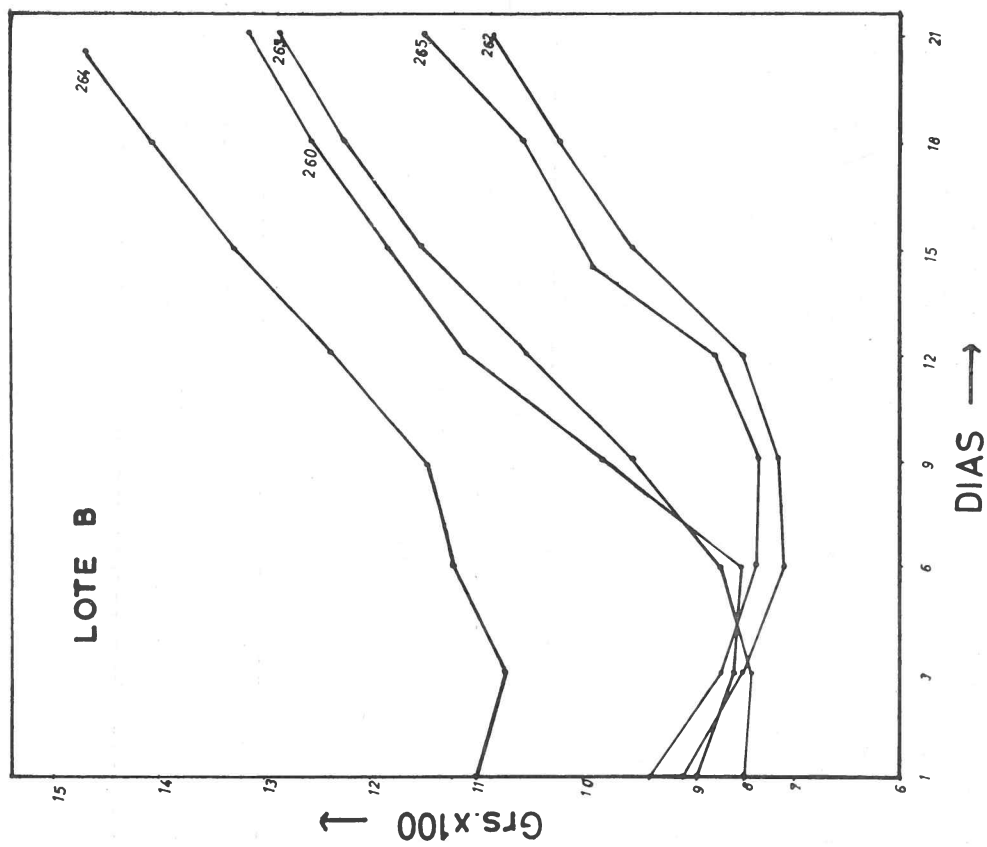
Ganancia ponderal de los pollos del lote A (control o testigo)

Pollo n.º	Días transcurridos desde que se inició el experimento									
	1	3	6	9	12	15	18	21		
	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.
291	829	942	965	1.073	1.165	1.250	1.323	1.375		
292	881	974	1.061	1.180	1.265	1.365	1.442	1.495		
295	754	863	950	1.076	1.175	1.280	1.376	1.510		
296	741	866	932	1.091	1.184	1.278	1.355	1.460		
299	802	890	957	1.052	1.095	1.155	1.275	1.340		
Media	781	907	973	1.094	1.173	1.265	1.352	1.436		

TABLA II

Ganancia ponderal de los pollos del lote B (2,5 mgr/Kgr. pienso).

Pollo n.º	Días transcurridos desde que se inició el experimento									
	1	3	6	9	12	15	18	21		
	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.
260	795	758	750	880	1.009	1.082	1.156	1.214		
262	807	749	710	715	750	853	922	985		
263	746	741	770	851	950	1.052	1.123	1.185		
264	1.021	971	1.020	1.046	1.135	1.230	1.306	1.367		
265	837	768	736	732	775	886	935	1.009		
Media	841	797	797	845	904	1.020	1.088	1.152		



Por lo que se refiere a los efectos de la inclusión de clorpro-mazina en la dieta de las aves, hemos de concluir que en las condiciones de nuestro experimento, tal adición es contraproducente. Recientemente (1964) MAYMONE llega a la conclusión de que si bien en bóvidos y óvidos (corderos) se observa algún beneficio, los resultados en general son muy poco prometedores, lo que está de acuerdo con las observaciones de MARCOS BARRADO (1964) que ha demostrado la inhibición

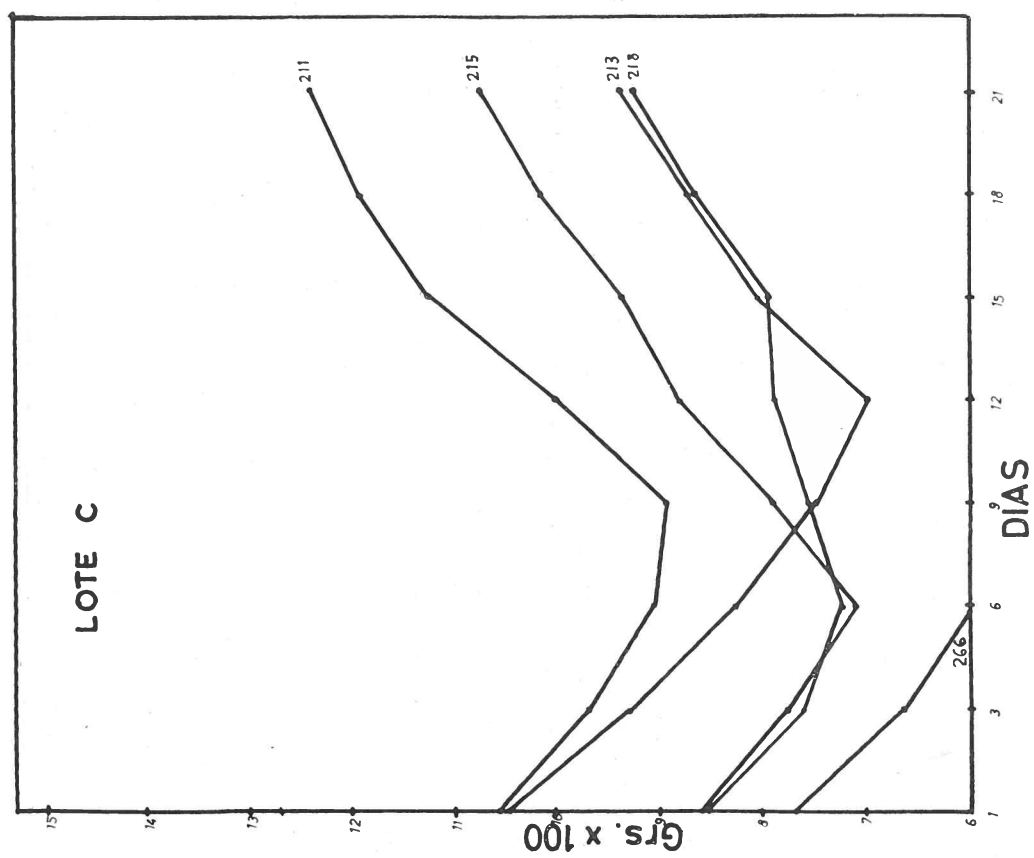


TABLA III

Ganancia ponderal de los pollos del lote C (5 mgr/Kgr. pienso)

Pollo n.º	Días transcurridos desde que se inició el experimento									
	1	3	6	9	12	15	18	21		
	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.	grs.
211	1.063	970	909	896	1.004	1.127	1.193	1.251		
213	1.053	931	831	750	697	801	875	938		
215	864	779	711	790	880	938	1.014	1.076		
218	862	761	723	753	791	798	869	930		
266	769	666	596	Muerto						
Media	960	860	793	797	843	916	988	1.049		

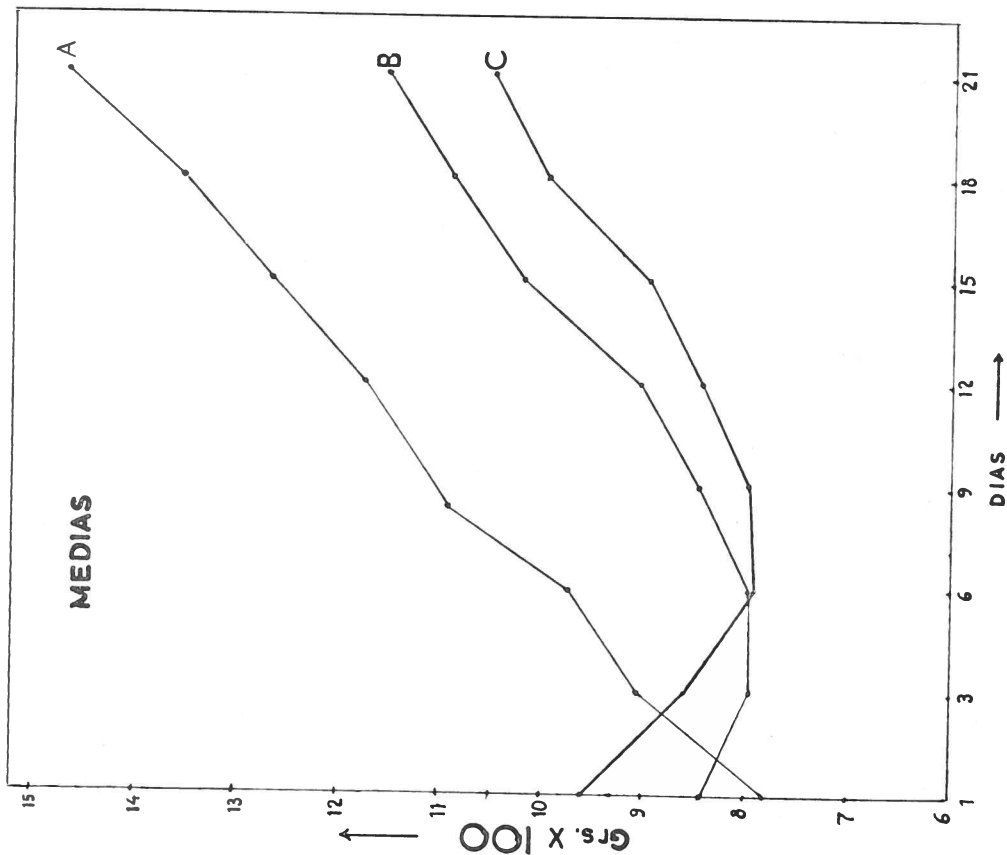
in vitro de la celulolisis y glucolisis a cargo de los microorganismos del rumen, junto con un incremento de la amilolisis y proteolisis que se acompaña de una inhibición parcial de la desanimación a nivel ruminal.

Tampoco AUXILIA y DELFORNO (1963) encontraron acciones digestivas de mención en pollos a los que administraron con la dieta otro tranquilizante (reserpina 1 mgr/Kgr de pienso) salvo un ligero aumento en el contenido lipídico de los músculos rojos de las pollas, no de los pollos.

TABLA IV

Tiempos de coagulación en pollos a los que se inyectó intramuscularmente (músculos de la pierna) Largactil.

Lote	Dosis inyectada	Tiempo de coagulación	
		Minutos	Segundos
A ₁	Ninguna H ₂ O)	4	36
B ₁	0,5 mgr/Kgr. peso	4	25
C ₁	1 mgr/Kgr. peso	4	25



En la tabla IV se comparan los tiempos de coagulación de la sangre en los tres lotes. Como puede deducirse no existen diferencias significativas a este respecto.

La profundidad de desangrado (grado de sangría), a juzgar por la técnica de Schoenberg que fue la utilizada, no presenta diferencias apreciables en los diferentes lotes.

Aunque FOCACCI (1961) sostiene que en los bóvidos que reciben Largactil "la sangre sale continua y regularmente durante la degollación y que el tiempo de sangría (grado de desangrado) tiende a prolongarse como si los animales sufrieran una sangría mayor y más prolongada", en las condiciones de nuestro experimento no pudo apreciarse diferencia alguna entre los animales del lote testigo y los que recibieron Largactil con el pienso o parenteralmente.

Tampoco el cuadro hemático, estimado según la técnica de Olson (*loc. cit.*) señaló diferencias aparentes entre los distintos lotes. ZOLGYE-SI (1960) sin embargo, ha puesto de manifiesto en el caballo que la inyección de un gramo de clorpromazina ocasiona una dilución de la sangre que dura de 6-12 horas, en el curso de las cuales la tasa de hemáties disminuye de un 10 a un 20 por 100. Es difícil explicar comportamiento tan diferente, sobre todo si se piensa que el aumento de la permeabilidad (GIAÓ y RICO, 1960) a cargo de la hialuronidasa se ve frenado por la acción del tranquilizante. Quizá el comportamiento diferente de las dosis utilizadas por Tölgyesi y de las muestras (unas mil veces menores) no sea otra cosa que la expresión de los efectos del Largactil sobre la permeabilidad (GEY y PLETSCHER, 1961; SPIRTER y GUTH, 1961) cuando se utiliza a dos niveles diferentes y en dos especies animales tan distintas como gallinas y équidos.

El pH, determinado sobre *pectoralis major*, osciló entre 5,40 y 5,63 en los distintos animales, sin que pudiera establecerse diferencia alguna entre los diferentes lotes. Las cifras, ligeramente superiores a las encontradas, que señala FOCACCI (1961 b) tal vez se deban al proceder menos exacto (empleo de papel indicador universal) por él utilizado, o al haber verificado su determinación en músculos distintos.

En cuanto al efecto tranquilizante conseguido por el Largactil administrado con el pienso, cabe señalar que las dos concentraciones empleadas determinaban sedación en los pollos, sin que se apreciase dificultad alguna en los animales, ni en la estación, ni caminando. Los pollos del lote control se mostraron siempre más nerviosos y miedosos que los sometidos al pienso experimental. Durante el sacrificio las sacudidas espasmódicas que siempre presentaban los animales testigo nunca las padecieron, o éstas eran mínimas, los que recibían la dieta experimental. Todo ello sugiere como indican HENRICKSON *et al.* (1960) que la liberación de adrenalina es más fácilmente estimulada en los animales testigo que en los de experimentación.

Contrariamente a lo que señalan para los bóvidos los investigadores últimamente citados, la acción irritativo-inflamatoria tisular cuando el Largactil se administraba parenteralmente era escasa, hecho que también ha comprobado FOCACCI (*loc. cit.*).

Aspecto de la canal.—Aparte del menor peso, la conformación general de los animales alimentados con la dieta experimental es inferior a la del control, destacando sobre todo la escasez de depósitos grasos —prácticamente ausentes— y su poca profundidad o grosor. Esto podría explicarse por qué *in vivo* el Largactil reduce la absorción intestinal de lípidos (SHOEMAKER *et al.*, 1957; LINDAUR y CERHOVA, 1959) y de azúcares (GÁTI y colaboradores, 1958).

Por lo que se refiere al color de los músculos rojos (pierna) no hubo diferencias apreciables entre los animales del lote testigo y los que recibieron Largactil, tanto *per os*, como parenteralmente; sin embargo, FOCACCI (*loc. cit.*) señala que el color de la carne de bóvidos tratados con Largactil es más claro que el de los animales control.

La tabla V muestra el contenido en Largactil de las heces e hígado de los lotes experimentales B y C. La determinación de Largactil en las heces se verificó únicamente el último día de la experiencia. Tanto el Largactil libre como el total alcanzaron mayores concentraciones en el lote C, que recibía 5 mgr/Kgr. de pienso que en el B (2,5 mgr/Kgr.

TABLA V

Contenido en Largactil de las heces e hígados de pollos a los que se administró una ración adicionada de Largactil.

Lote	Cantidad administrada	Libre	Total
B	2,5 mgr/Kgr. pienso	125 µg/100 grs.	194 µgr/100 grs.
C	5,0 mgr/Kgr. pienso	212 µg/100 grs.	282 µgr/100 grs.
		Largactil total en hígado	
B	2,5 mgr/Kgr. pienso	486 µgr/100 grs.	
C	5,0 mgr/Kgr. pienso	920 µgr/100 grs.	

de pienso). En ambos casos la cantidad detectada en el hígado es pequeña y muy inferior a las cifras señaladas por HENRICKSON y col. (*loc. cit.*) estando sin embargo bastante de acuerdo con las que señalan SALZMAN y BRODIE (*lot. cit.*) para este mismo órgano en el perro.

Dado que como afirman FISHMAN y colaboradores (1962) el hígado está implicado en el metabolismo de la clorpromazina, nada tiene de extraño que los niveles de la droga en este órgano sean muy superiores a los encontrados en los músculos.

En la tabla VI se exponen las concentraciones de Largactil encontradas en el hígado de aquellos animales a los que se inyectaba, seis horas antes del sacrificio, por vía intramuscular, el tranquilizante a dos concentraciones diferentes. Se ha elegido la vía parenteral por ser la que en régimen de explotación industrial puede llevarse a cabo más rápidamente, sin necesitar personal excesivamente especializado.

TABLA VI

Restos de Largactil en los tejidos de pollos a los que se les inyectó intramuscularmente (músculos de la pierna) la droga.

Lote	Pollo n.º	Dosis	Inyección hora	Sacrificio hora	Largactil (µgr/100grs) Hígado Músculo
C ₁	212	1 mgr/Kg. peso	9 h 30'	3 h 30'	223 0
"	214	"	9 h 45'	3 h 45'	228 0
"	216	"	10 h 00'	4 h 00'	224 0
"	220	"	10 h 15'	4 h 15'	221 0
"	211	"	10 h 30'	4 h 30'	230 0
Media lote C ₁					225 0
B ₁	261	0,5 mgr/Kgr. peso	10 h 45'	4 h 45'	15 0
"	268	"	11 h 00'	5 h 00'	9 0
"	271	"	11 h 15'	5 h 15'	7 0
"	275	"	11 h 30'	5 h 30'	0 0
"	273	"	11 h 45'	5 h 45'	20 0
Media lote B ₁					10 0

Como cuando la clorpromazina se administra *per os*, la mayor concentración hepática de esta droga se encuentra en aquellos animales que reciben las dosis mayores (lote C₁, 1 mgr/Kgr. peso vivo). A ninguna de las concentraciones utilizadas se pudo poner de manifiesto el Largactil en los músculos pectorales.

Dado que a las dosis de Largactil recomendadas por la mayoría de los investigadores para conseguir efectos sedantes en las aves, aquél no se acumula en la carne cuando se administra parenteralmente, podría recomendarse su empleo a escala industrial en los animales destinados al sacrificio para evitar el "stress" que padecen inmediatamente antes y durante la matanza. La administración debería verificarse unas doce horas antes del sacrificio a concentraciones comprendidas entre 0,5 y 1 mgr/Kgr. de peso vivo; a estos niveles la droga no se detecta en la carne pero sí en el hígado.

RESUMEN

Se ha estudiado el efecto de la clorpromazina en las aves administrada a dos concentraciones distintas, *per os* y parenteralmente. En las condiciones de este experimento su adición al pienso a concentraciones de 5 mgr ó 2,5 mgr/Kgr. de pienso, es contraproducente.

Ni los tiempos de coagulación sanguínea, ni el grado de sangría, ni el cuadro hemático presentan diferencias significativas entre los lotes experimentales y el testigo.

Las dos concentraciones de clorpromazina ensayadas ejercen un manifiesto efecto tranquilizante que permite un mejor sacrificio de los animales.

Cuando el Largactil se administró *per os* la cantidad residual encontrada en el hígado fue de 486 ugr/100 grs., en los animales cuyo pienso contenía 2,5 mgr/Kgr., y de 920 ugr/100 grs., cuando la ración contenía 5 mgr/Kgr. de pienso; mientras que en las heces se hallaron respectivamente 194 ugr/100 grs. y 282 ugr/100 grs.

Cuando se inyectó intramuscularmente una dosis de 1 mgr/Kgr. de peso vivo se encontraron en el hígado 225 ugr/100 grs. de tejido y si la cantidad inyectada fue 0,5 mgr/Kgr. de peso vivo, solamente 10 ugr/100 grs. de tejido.

RÉSUMÉ

On a étudié l'effet de la Chlorpromazine administrée à deux concentrations différentes, *per os* et moyennant injection, chez la volaille. Dans les conditions de cette expérience son addition au fourrage à des concentrations de 5 mgrs./kgr. ou de 2,50 mgrs./kgr. de fourrage a des effets contraires à ceux que l'on désire.

Ni le temps de coagulation sanguine, ni le degré de saignée, ni les composés du sang, présentent des différences significatives entre les lots expérimentaux et le lot témoin.

Les deux concentrations de Chlorpromazine essayées exercent un effect tranquillisant évident qui permet un meilleur tuage de la volaille.

Quand le Largactil fut administré par *route orale* ou *per os*, la quantité résiduaire trouvée dans le foie fut de 486 ugrs./100 grs. chez la volaille dont le fourrage contenait 2,5 mgrs./kgr. et de 920 ugrs./100 grs. quand la ration contenait 5 mgrs./kgr. de fourrage, alors que dans les déjections on trouva 194 ugrs./100 grs. et 282 ugrs./100 grs., respectivement.

Quand on injecta une dose de 1 mgr./kgr. poids vivant, en trouva 225 grs./100 grs. de tissu dans le foie et seulement 10 grs./100 grs. de tissu quand l'injection fut de 0,5 mgrs./Kgr. poids vivant.

SUMMARY

A study has been carried out on the effect of Chlorpromazine on the chicken at two different concentrations *per os* and by the parental route. Under the conditions of this experiment its addition to the feed at concentrations of 5 mg. or 2,5 mg./kg. of feed was counteractive.

Neither the coagulation time nor the degree or rate of bleeding, nor the blood cells showed any significant difference between the experimental and the control groups.

The two concentration of Chlorpromazine tested had an evident tranquillizing effect which allowed a better killing of fowl.

When Largactil was given or administered *per os* the residual amount found into the liver was of 486 pg./100 g. in the chicken whose

feed contained 2,5 mg./kg. and of 920 ug./100 g. when the ratio contained 5 mg./kg. of feed while the amount found into the feces was of 194 ug./100 g. and 282 ug./100 g., respectively.

When 1 mg./kg. of body weight was injected by I. M. injection 225 ug./100 g. of tissue were found and if the dosage given was of 0,5 mg./K. of body weight only 10 ug./100 g. of tissue were found.

BIBLIOGRAFIA

- AUXILIA, M. T., y DELFORNO, G., 1963. *Avicoltura*, 47, (2), 146.
 BURGER, R. E., VAN MATRE, N. S. y LORENZ, F. W., 1959.—*Poultry Sci.*, 38, (3), 512.
 CRAIG, F. R., 1959.—*XII Animal Nutr. Meet. North Carol. Coll. Agric.*, Dec. 1959.
 FISHMAN, V., HEATON, A., y GOLDENBERG, H., 1962.—*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 105, 548.
 FOCACCI, A., 1961.—a, *Veterinaria (Ital.)*, 6, 372.
 ———. 1961. b, *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.*, 15, 550.
 FORREST, F. M. y FORREST, I. S., 1957.—*Am. J. Psych.*, 113, 931.
 FRITZ, J. C., WHARTON, F. D. y CLASSEN, L. J., 1959.—*Poultry Sci.*, 38, (6), 1.104.
 GÁTI, T., HARMOS, G. y LUDANY, G., 1958.—*Arch. Int. Pharmacodyn.*, 114, 251.
 GEY, K. F. y PLETSCHER, A., 1961.—*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 133, 18.
 ———. 1962. *Nature*, 194, (4.826), 387.
 GIÁO, J. M. y RICO, T., 1940.—*C. R. Soc. Biol.*, Paris, 154, 218.
 HENRICKSON, R. L., ODELL, G. V., COSTELLO W. J. y REUBER, H. W., *J. Animal Sci.*, 19, (21), 20.
 LÓPEZ LORENZO, P., BURGOS, J. y SANZ PÉREZ, B., 1964.—*An. Bromatol.*, 16, 211.
 MANTOVANI, G., 1961.—*Ispezione degli alimenti di origine animale*, 2 vol., U.T.E.T. Turin (Italia), 1961.

- MARCOS BARRADO, A., 1964.—*Estudios in vitro sobre el efecto ejercido por el clorohidrato de 2-cloro-10-(3-dimetilaminopropil)-fenotiazina en algunas actividades metabólicas de los microorganismos del rúmen*. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
- MAXMONE, B., 1964.—*Economie Medec. Animal.*, **3**, 175.
- OLSON, C., 1948.—*Avian Hematology*, Cap. 4 de Biester y Schwarte, *Diseases of Poultry* 2.^a Ed., Iowa State College Press. Ames.
- SALZMAN, N. P. y BRODIE, B. B., 1956.—*J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **118**, (1), 46.
- SANZ PÉREZ, B., 1964.—*Medicamenta*, Ed. Farmacéut., **16**, (240) 60.
- SHOEMAKER, W. C., WASE, A. W. y CHRISTENSEN, J., 1957.—*Gastroenterology*, **32**, 899.
- SPECIA, Dept. Tech., 1962.—*Largacil* 4506 R. P., Note Technique, 13.
- SPIRITES, M. A. y GUTH, P. S., 1961.—*Nature*, **190**, 274.
- TOLCYESI, G., 1960.—*Acta Vet. Acad. Sci. Hungar.*, **10**, 111, en *Vet. Bull.*, 1961, **31**, (1), 40.
- VAN THIENHOVEN, A., 1959.—*Nutrit. Meeting. Conf. Cornell Univ.*, Nov., 1959.