

INTERVALLI DI RIFERIMENTO DI ALCUNI PARAMETRI BIOCHIMICI IN SCROFE

REFERENCE VALUES OF HAEMATOLOGICAL PARAMETERS IN SOWS

S. ROTA NODARI, I. ARCHETTI, O. GUERRA, P. CANDOTTI

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia
e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", Brescia
email: sara.rotanodari@bs.izs.it*

Parole chiave: scrofa, intervallo di riferimento, ematochimica

Key words: sow, reference interval, haematochemistry

Riassunto. In tre allevamenti commerciali del Nord Italia, sono stati selezionati 41 scrofe ibride in gestazione che erano risultati sani ad un esame clinico. Da tutti gli animali sono stati eseguiti dei campioni ematici che sono stati analizzati per diversi parametri biochimico clinici (Proteine totali, Albumina plasmatica, Globuline plasmatiche, Glucosio, Colesterolo, Trigliceridi, β -idrossibutirato, Alanino aminotransferasi, Aspartato aminotransferasi, Fosfatasi alcalina, Gamma-glutamilttransferasi, Amilasi, Urea, Creatinina, Creatinchinasi, Lattico deidrogenasi, Bilirubina totale, Calcio, Fosforo, Magnesio, Sodio, Potassio, Cloro, Rame, Ferro, Zinco). I dati raccolti sono stati elaborati per ricavare gli intervalli percentili di riferimento. Un preliminare confronto con quelli pubblicati in letteratura ha mostrato differenze che sottolineano l'importanza che ogni laboratorio stabilisca valori e intervalli di riferimento da utilizzare a fini diagnostici e di ricerca in funzione delle caratteristiche del patrimonio zootecnico di interesse.

Abstract. 41 healthy breeders were selected in commercial farms of Northern Italy. Blood samples were collected from animals and tested for several parameters (Total proteins, Albumine, Globulin, Glucose, Cholesterol, Triglycerides, β -hydroxybutyrate, Total bilirubin, Alanine aminotransferase, Aspartate aminotransferase, Alkaline phosphatase, gamma-glutamyltransferase, Amylase, Urea, Creatinine, Creatine kinase, Lactate dehydrogenase, Calcium, Phosphorus, Magnesium, Sodium, Potassium, Chlorine, Copper, Iron, Zinc). Collected data were used to calculate percentile reference intervals for the selected haematochemical parameters. The differences found in comparing our results with published data suggested that each laboratory should establish reference values and intervals for diagnostic and research purposes.

INTRODUZIONE

La misurazione dei parametri biochimici del sangue può fornire informazioni importanti sulla salute e sul metabolismo degli animali (Friendship R.M. and Henry S.C., 1992) ed è uno strumento diagnostico pratico per valutarne le condizioni patologiche o per monitorare lo stato sanitario di gruppo (Verheyen A.J.M. et al., 2007). La biochimica

è utilizzata maggiormente nella diagnosi clinica in bovini e pecore, mentre per valutare la produttività degli allevamenti suinicoli vengono utilizzati tradizionalmente indicatori quali le *performance* riproduttive, l'incremento ponderale giornaliero, l'indice di conversione alimentare e la mortalità. Tuttavia, la misurazione del livello di determinati metaboliti può fornire interessanti informazioni aggiuntive sul profilo sanitario e metabolico di gruppi di suini (Morris R.S., 1998), purché si abbiano a disposizione valori di riferimento specifici per la categoria di interesse.

L'obiettivo del presente lavoro era quello di determinare valori di riferimento per i parametri biochimici nella categoria delle scrofe in gestazione.

MATERIALI E METODI

In 3 allevamenti commerciali del Nord Italia sono state selezionate 41 scrofe che erano in buono stato di nutrizione e clinicamente sane. Tutti gli animali erano a circa 60 giorni di gestazione.

Dopo aver sottoposto a contenimento gli animali, sono stati collezionati campioni ematici dalla vena giugulare in provette contenenti anticoagulante LH (Vacutainer®, Becton, Dickinson) e sono stati mantenuti alla temperatura di 4°C fino all'arrivo in laboratorio. Il plasma è stato poi separato mediante centrifugazione (3000 rpm per 15 minuti) e congelato (-20°C). Tutti i campioni sono stati eseguiti al mattino e processati il giorno stesso.

Le analisi sono state eseguite mediante analizzatore automatico Synchron CX® della ditta Beckman Coulter (Fullerton, CA, USA).

Per ogni campione sono state prese in esame ventisette variabili ematochimiche: proteine totali, albumina, globuline, rapporto albumina/globuline, glucosio, colesterolo, trigliceridi, β -idrossibutirato, bilirubina totale, alanina amino transferasi (ALT), aspartato amino transferasi (AST), fosfatasi alcalina (ALP), gamma-glutamilttransferasi (γ -gt), amilasi, urea, creatinina, creatinchinasi (CK), lattico deidrogenasi (LDH), calcio, fosforo, magnesio, sodio, potassio, cloro, rame, ferro, zinco.

Analisi statistica

Per il calcolo degli intervalli di riferimento è stato applicato un metodo non parametrico, individuando per ciascun parametro il 2.5° e il 97.5° percentile della distribuzione dei valori osservati.

I dati sono presentati come 2.5° (P.025), 50° (mediana) e 97.5° (P.975) percentile. I limiti inferiore e superiore dell'intervallo così definito includono il 95% dei valori osservati per ciascun parametro.

L'analisi dei dati è stata realizzata utilizzando il software statistico R versione 2.8.0 rilasciata il 20 ottobre 2008 (r).

RISULTATI

I risultati degli esami condotti sui campioni ematici sono riportati in tabella 1.

Nonostante l'accuratezza con cui è stato effettuato il prelievo, alcuni campioni di plasma hanno presentato un evidente stato di emolisi e sono poi stati esclusi dall'elaborazione statistica.

Tabella 1. Intervalli di riferimento dei parametri biochimici in scrofe

Parametri	Unità di misura	n	P.025	mediana	P.975
Proteine totali	g/L	38	58.9	74.0	83.1
Albumina	g/L	38	31.3	39.1	45.4
Globuline	g/L	38	25.6	33.9	42.4
A/G		39	0.9	1.2	1.5
Glucosio	mmol/L	37	3.1	4.85	5.55
Colesterolo	mmol/L	41	1.37	2.36	2.89
Trigliceridi	mmol/L	29	0.3	0.45	0.89
β -idrossibutirato	mmol/L	30	0.04	0.13	0.29
Bilirubina totale	μ mol/L	29	2.73	4.24	6.41
ALT	UI/L	36	28.6	45.5	67.8
AST	UI/L	35	31.3	47	83.1
ALP	UI/L	36	50.8	107	166
γ -GT	UI/L	38	22.9	39.5	58.1
Amilasi	UI/L	36	768	1038	1562
Urea	mmol/L	41	2.92	4.28	6.24
Creatinina	μ mol/L	25	102	157	202
CK	UI/L	26	390	967	4270
LDH	UI/L	41	715	1313	2439
Calcio	mmol/L	40	2.16	2.39	2.63
Fosforo	mmol/L	39	1.98	2.70	3.63
Magnesio	mmol/L	40	0.71	0.83	1.08
Sodio	mmol/L	38	136	141	144
Potassio	mmol/L	36	4.16	4.65	5.77
Cloro	mmol/L	30	101	105	109
Rame	mmol/L	34	36.5	43.1	57.1
Ferro	mmol/L	30	8.56	19.2	26.7
Zinco	mmol/L	27	5.02	7.4	10.8

n= n° di campioni utilizzati per il calcolo dei percentili

P_{0.25} e P_{97.5}= percentile 2.5° e 97.5° della distribuzione

DISCUSSIONE

La presente prova ha confermato come la fase vera e propria di prelievo del sangue rappresenti un punto critico per l' idoneità del campione ematico. Nonostante, infatti, i prelievi siano stati eseguiti in questa prova dal medesimo operatore con esperienza specifica, molti campioni sono comunque risultati emolitici e quindi non analizzabili per alcuni parametri.

Numerosi fattori possono influenzare i valori dei parametri ematochimici dei suini. Oltre alla variabilità individuale occorre considerare fattori quali sesso (Wilson G.D. et al., 1972), età (Wilson G.D. et al., 1972; Friendship R.M. et al., 1984; Reese D.E. et al., 1984; Tumbleson M.E. et al., 1986; Groth Von W. et al., 1986; Heath M.F., 1991; Dubreuil P. and Lapierre H., 1997; Egeli A.K. et al., 1998; Prasad P.E. and Dilip Kumar G., 2002), razza (Wilson G.D. et al., 1972; Groth Von W. et al., 1986), gravidanza e lattazione (Tewes H. et al., 1979; Reese D.E. et al., 1984; Verheyen A.J.M. et al., 2007), alimentazione (Wilson G.D. et al., 1972), stress (Dubreuil P. et al., 1990). Anche l'esperienza dell'operatore che esegue il pre-

lievo (tempo impiegato, contenimento) può influenzare i valori ematici osservati così come le procedure di campionamento e le metodiche di analisi (Tumbleson M.E. et al., 1986; Framstad T. et al., 1989; Dubreuil P. et al., 1990). Differenze significative nella valutazione di variabili ematochimiche sono state rilevate in relazione a processi emolitici di vario grado a carico dei campioni esaminati (Dorner J.L. et al., 1983; Tumbleson M.E. et al., 1986; Lippi G. et al., 2006).

L' **albumina** rappresenta la componente maggiore delle proteine plasmatiche, è essenziale per la regolazione e il mantenimento della pressione colloidale-osmotica del sangue ed è coinvolta nel trasporto di metaboliti scarsamente solubili. L'albumina è prodotta nel fegato e catalizzata in tutti i tessuti metabolicamente attivi. La sua concentrazione plasmatica può risultare diminuita durante la gravidanza e nei primi giorni di lattazione o in caso di epatopatie, con conseguente diminuzione della protidemia totale (Kaneko J.J. et al., 1997).

Le **globuline**, distinte in α , β e γ -globuline in base alla loro mobilità elettroforetica, svolgono numerose funzioni. Si osserva un lieve aumento della concentrazione ematica di globuline all'inizio della gravidanza e un forte aumento delle γ -globuline in prossimità del parto, che condiziona un aumento delle proteine totali (Kaneko J.J. et al., 1997). Patologie infettive e processi infiammatori inducono un aumento della globulinemia, stati immunodepressivi la diminuiscono (Kaneko J.J. et al., 1997).

Il **glucosio** è il principale nutriente cellulare e tissutale, la cui concentrazione ematica può essere influenzata da numerosi fattori fisiologici o patologici. La valutazione di questo parametro risulta significativa in numerose condizioni, in particolare in caso di carenze alimentari e di disordini endocrini dato che la glicemia è il risultato di un meccanismo bilanciato di interazione ormonale che condiziona la sua introduzione e rimozione dal circolo ematico (Kaneko J.J. et al., 1997).

Il **colesterolo** è veicolato nel sangue sotto forma di lipoproteine il cui livello ematico può essere alterato da disturbi endocrini o del metabolismo dei carboidrati (Kaneko J.J. et al., 1997). Faustini M. et al. (2002) ha rilevato in scrofe gravide valori di colesterolemia significativamente superiori a quelli di animali non gravidi. Arantes V. et al. (2004) ha misurato i valori di glicemia e colesterolemia a 0, 35, 70 e 105 giorni di gravidanza, osservandone una diminuzione verso la fine del primo terzo della gestazione. Reese D.E. et al. (1984) ha riscontrato una diminuzione della glicemia e un aumento della colesterolemia nel corso della lattazione.

I **trigliceridi** sono componenti delle lipoproteine plasmatiche che svolgono un ruolo importante nel metabolismo in quanto fonti di energia e la cui sintesi nei tessuti adiposi è regolata da meccanismi ormonali oltre che dalla disponibilità di substrati (Kaneko J.J. et al., 1997). La concentrazione dei trigliceridi nelle scrofe è più alta durante la gravidanza che durante la lattazione (Reese D.E. et al., 1984).

Sia il colesterolo che i trigliceridi possono diminuire in relazione a patologie epatiche (Kaneko J.J. et al., 1997).

Il **β -idrossibutirato** è un elemento importante nel metabolismo animale. Valori aumentati rivestono importanza clinica poiché vengono considerati indicativi di patologia da carenza energetica (Kaneko J.J. et al., 1997).

La **bilirubina** è un prodotto del catabolismo dell'emoglobina e, in misura minore, della mioglobina che viene legata all'albumina per essere trasportata nel plasma fino a raggiungere il fegato ed essere quindi escreta nella bile. L'aumentata bilirubinemia conferisce a cute e mucose la colorazione giallastra definita ittero. Questa condizione clinica può essere provocata da emolisi o da insufficienza epatobiliare (Kaneko J.J. et al., 1997). Una diminuzione

significativa si può rilevare all'inizio della gravidanza (Kaneko J.J. et al., 1997).

La **alanino aminotransferasi** (ALT) è una transaminasi ampiamente presente in tutti i tessuti dell'organismo, comunemente considerata un indicatore di danno epatico, anche se meno epato-specifica nel suino rispetto ad altre specie (Wilson G.D. et al., 1972; Boyd J.W., 1983; Kaneko J.J. et al., 1997).

L'**aspartato aminotransferasi** (AST) è un enzima considerato praticamente ubiquitario, il cui livello ematico aumenta all'inizio della gravidanza e che si trova in concentrazioni molto elevate nel plasma in seguito a gravi danni tissutali di origine muscolare o epatica (Kaneko J.J. et al., 1997). Dubreuil P. e Lapierre H. (1997) hanno rilevato una diminuzione della concentrazione ematica di ALT e AST nel corso della lattazione.

La **fosfatasi alcalina** (ALP) è presente all'interno degli epatociti e a livello di reni, intestino, tessuto osseo e placenta. Consente l'esplorazione del danno epatocitario e dell'induzione enzimatica (aumentata produzione di enzima) (Kaneko J.J. et al., 1997). La fosfatasi alcalina aumenta durante la gravidanza tornando a valori normali nella settimana precedente il parto (Verheyen A.J.M. et al., 2007), è normale che sia maggiormente presente nei soggetti giovani, essendo indispensabile nella loro spinta mineralizzazione ossea (Framstad T. et al., 1991; Kaneko J.J. et al., 1997; Egeli A.K. et al., 1998), ma può aumentare anche in corso di patologie ossee (Kaneko J.J. et al., 1997).

La **gammaglutamiltransferasi** (γ -GT) si trova in alte concentrazioni nel fegato, soprattutto nei dotti biliari, ma può avere anche origine pancreatica e renale. Valori elevati sono solitamente correlati a patologie epatiche o colestasi (Gresham A.C.J., 1994; Kaneko J.J. et al., 1997). Aumenta significativamente dopo il parto (Dubreuil P. and Lapierre H., 1997; Kaneko J.J. et al., 1997; Verheyen A.J.M. et al., 2007).

L'**amilasi** è un enzima che catalizza l'idrolisi di zuccheri complessi, prodotto principalmente nel pancreas ed eliminato attraverso le vie urinarie. Un aumento del suo livello ematico può essere causato da patologie pancreatiche o da insufficienza renale (Kaneko J.J. et al., 1997).

L'**urea** è il prodotto finale del catabolismo delle proteine che viene prodotto nel fegato ed escreto dal rene. La sua concentrazione plasmatica è espressione di 2 processi: capacità di formazione e capacità di eliminazione. Un suo aumento può pertanto riflettere aumentato catabolismo proteico o diminuita escrezione renale (Gresham A.C.J., 1994; Kaneko J.J. et al., 1997). Verheyen A.J.M. et al. (2007) ha rilevato un aumento della sua concentrazione ematica da tre settimane prima fino a tre settimane dopo il parto.

La **creatinina** è un prodotto del metabolismo della creatina che si forma a livello muscolare e viene eliminato attraverso le urine. La creatininemia viene utilizzata come indicatore della funzionalità renale. L'iperfiltrazione glomerulare provoca ipocreatininemia, l'insufficienza renale provoca ipercreatininemia (Gresham A.C.J., 1994; Kaneko J.J. et al., 1997). La sua concentrazione risulta inoltre più alta durante la gravidanza che durante la lattazione poiché diminuisce dopo il parto (Reese D.E. et al., 1984; Verheyen A.J.M. et al., 2007).

La **creatinchinasi** (CK) è un enzima citoplasmatico che ha accesso al sangue a seguito della modificazione della membrana di un certo numero di cellule muscolari. Valori elevati di CK sono indice di danno muscolare, ma anche iniezioni intramuscolari possono indurre aumenti rilevabili della sua concentrazione ematica (Kaneko J.J. et al., 1997). Nelle scrofe è stato riscontrato in quantità maggiori sia durante la gravidanza che durante la lattazione (Reese D.E. et al., 1984).

La **lattico deidrogenasi** (LDH) è ampiamente distribuita nell'organismo perciò un suo aumento è riscontrabile in numerose patologie tissutali, oltre che fisiologicamente all'inizio della gravidanza (Kaneko J.J. et al., 1997).

I livelli ematici di **Calcio** e **Fosforo** tendono a diminuire durante la gravidanza, come quelli del **Potassio** (Kaneko J.J. et al., 1997). Il **Magnesio**, all'opposto di questi, diminuisce all'inizio della gravidanza per tornare a livelli normali verso la fine (Kaneko J.J. et al., 1997). Numerosi lavori pubblicati in letteratura riportano i valori e gli intervalli di riferimento calcolati per la maggior parte dei parametri ematochimici di più comune utilizzo nella pratica clinica (Friendship R.M., 1984; Reese D.E. et al., 1984; Groth Von W. et al., 1986; Tumbleson M.E. et al., 1986; Odink J. et al., 1990; Heath M.F. et al., 1991; Elbers A.R.W. et al., 1994; Dubreuil P. et al., 1997; Kaneko J.J. et al., 1997; Egeli A.K. 1998; Faustini M. et al., 2000). Da una prima osservazione emergono discrepanze tra questi e quelli determinati in questo lavoro per alcuni dei parametri presi in esame. Rispetto, ad esempio, ai valori di riferimento pubblicati da Kaneko J.J. et al. (1997) per la categoria "pig" i valori da noi osservati sono analoghi per ALT, AST, γ -GT, Calcio, Fosforo, Sodio, Potassio, Cloro, ma appaiono più bassi per proteine totali, globuline, glucosio, bilirubina totale, ALP, urea, creatinina, Magnesio, Ferro e più alti per albumina, colesterolo, LDH, Rame.

CONCLUSIONI

Sebbene la numerosità del campione da noi utilizzato non sia elevata, gli intervalli calcolati possono rappresentare un punto di partenza per ottenere un valido riferimento per la clinica. I risultati ottenuti verranno ampliati in futuro con l'inserimento nello studio di altri soggetti adeguatamente selezionati e appartenenti anche ad altre categorie zootecniche dell'allevamento suinicolo.

Bibliografia

- Arantes V., Ribeiro P.R., Borges A., Marcelino E.L., Barros V., Ribeiro F.M., Mundim A.V., Tavares M. (2004) "Glucose, cholesterol and triglycerides of gestating sows". In: "Proceedings of the 18th International Pig Veterinary Society Congress", Amburgo, Germania, 27 giugno – 1 luglio 2004, 626.
- Boyd J.W. (1983) "The mechanisms relating to increases in plasma enzymes and isoenzymes in diseases of animals". *Vet Clin Pathol.* 12, 9-24.
- Dorner J.L., Hoffmann W.E., Filipov M.M. (1983) "Effect of in vitro haemolysis on values for certain porcine serum constituents". *Vet Clin Pathol.* 12, 15-19.
- Dubreuil P., Couture Y., Tremblay A., Martineau G.P. (1990) "Effects of experimenters and different blood sampling procedures on blood metabolite values in growing pigs". *Can J Vet Res.* 54, 379-382.
- Dubreuil P., Lapierre H. (1997) "Biochemistry reference values for Quebec lactating dairy cows, nursing sows, growing pigs and calves". *Can J Vet Res.* 61, 235-239.
- Egeli A.K., Framstad T., Morberg H. (1998) "Clinical biochemistry, haematology and body weight in piglets". *Acta Vet Scand.* 39, 381-393.
- Elbers A.R.W., Geudeke M.J., van Rossem H., Kroon M.C., Counotte G.H.M. (1994) "Haematology and biochemistry reference values for sows kept under modern management conditions". *Vet Q.* 16, 127-130.

Faustini M., Munari E., Colombani C., Russo V., Maffeo G., Vigo D. (2000) "Haematology and plasma biochemistry of Stamboek pre-pubertal gilts in Italy: reference values". *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 47, 525-532.

Faustini M., Scocca S., Riccardi A., Munari E., Colombani C., Russo V., Maffeo G., Vigo D. (2002) "Indicazioni su alcuni aspetti ematologici, ematochimici e della funzione riproduttiva in scrofette". *Archivio Veterinario Italiano.* 53, 41-51.

Framstad T., Havre G.N., Morberg H. (1989) "The effect of storage, separation and use of heparin on the clinical biochemical analysis of pig blood". *Norsk Vet.-T.* 101, 237-243.

Framstad T., Morberg H., Aass R.A. (1991) "Clinical biochemical analyses of pig blood. Reference ranges for sows". *Norsk Vet.-T.* 103, 807-815.

Friendship R.M., Lumsden J.H., McMillan I., Wilson M.R. (1984) "Hematology and biochemistry reference values for Ontario swine". *Can J Comp Med.* 48, 390-393.

Friendship R.M., Henry S.C. (1992) "Cardiovascular system, haematology and clinical chemistry". In: Leman A.D., Straw B.E., Mengeling W.L., D'Allaire S., Taylor D.G. (ed.) "Diseases of Swine", 7th ed., Ames, Iowa, Iowa State University Press, 3-11.

Gresham A.C.J. (1994) "Porcine clinical biochemistry". *Pig Vet J.* 32, 58-67.

Groth Von W., Kalrchreuter S., Hahn R. (1986) "Influence of breed, age, season and change of housing on enzyme activity and mineral and urea concentrations in blood plasma of boars" Teil 1. *Tierärztl. Umsch.* 41, 652-658.

Groth Von W., Kalrchreuter S., Hahn R. (1986) "Influence of breed, age, season and change of housing on enzyme activity and mineral and urea concentrations in blood plasma of boars". Teil 2. *Tierärztl. Umsch.* 41, 778-787.

Heath M.F., Evans R.J., Gresham A.C.J. (1991) "Blood biochemical reference ranges for sows under modern management conditions". *Br Vet J.* 147, 331-339.

Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. (1997) "Clinical biochemistry of domestic animals", 5a ed., San Diego, Academic Press.

Lippi G., Salvagno G.L., Montagnana M., Brocco G., Guidi G.C. (2006) "Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing". *Clin Chem Lab Med.* 44, 311-316.

Morris R.S. (1998) "The veterinarian and the livestock industries - fire in the hearth or smoke in the eyes?". *N Z Vet J.* 36, 161-166.

Odink J., Smeets J.F., Visser I.J., Sandman H., Snijders J.M. (1990) "Hematological and clinicochemical profiles of healthy swine and swine with inflammatory processes". *J Anim Sci.* 68, 163-70.

Prasad P.E., Dilip Kumar G. (2002) "Serum enzyme profile and biochemical constituents of blood in cross-bred pigs during growth". *Indian Vet J.* 79, 1141-1144.

R, The R Project for Statistical Computing.
Disponibile all'indirizzo: <http://www.r-project.org>

Reese D.E., Peo E.R., Lewis A.J., Hogg A. (1984) "Serum chemical values of gestating and lactating swine: reference values". *Am J Vet Res.* 45, 978-80.

Tewes H., Steinbach J., Smidt D. (1979) "Investigation on the blood composition of sows during the reproductive cycle. Blood changes during lactation". *Zuchthyg.* 14, 111-116.

Tumbleson M.E., Schmidt D.A., Scholl E. (1986) "Hematology and clinical chemistry" in: Leman A.D. "Diseases of Swine", 6a ed., Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 20-44.

Verheyen A.J.M., Maes D.G., Mateusen B., Deprez P., Janssens G.P., de Lange L., Counotte G. (2007) "Serum biochemical reference values for gestating and lactating sows". *Vet J.* 174, 92-98.

Wilson G.D., Harvey D.G., Snook C.R. (1972) "A review of factors affecting blood biochemistry in the pig". *Br Vet J.* 128, 596-610.