

**Analisi ematiche innovative in allevamento ed in laboratorio:
risultati preliminari in cinque allevamenti cunicoli**

G. Masoero¹, G. Bergoglio¹, S. Giraud², G. Sala¹, P. Barge³, L. Bardi⁴, R. Chicco¹

¹CRA - Istituto Sperimentale per la Zootecnia, Via Pianezza 115 – 10151 Torino; ²ASL 17, Corso Trento 12 – 12037 Saluzzo (CN); ³DISCIZO, Fac. Agraria, Università degli Studi di Torino, Via Leonardo da Vinci 20 – 10095 Grugliasco (TO); ⁴CRA - Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante, Via Pianezza 115 – 10151 Torino

Corresponding Author: Dr. Giorgio Masoero, CRA - Istituto Sperimentale per la Zootecnia, Via Pianezza 115 – 10151 Torino, Italy. Tel. & Fax +39 011731689
Email: giorgio.masoero@isz.it

ABSTRACT: New blood analyses in herd and in laboratory: preliminary results in five rabbit herds. *New attempts to assess hematological status in rabbits using a minimum amount of blood were investigated. By first, capillary haematocrites of 135 rabbits in five herds on two seasons were scanned by FT-NIR Spectroscopy. Significant validated relationships ($R^2_{val}=0.93$) between herds were enhanced. By second, on a restricted number of rabbits ($N=14$) a small volume of blood was immediately analysed by an i-STAT instrument (HESCA) measuring the following parameters: Na, K, Cl, blood urea nitrogen (BUN), glucose, haematocrit (HCT), pH, partial pressure of carbonic anhydride (pCO_2), and calculating: haemoglobin (HB), base excess (BE_{ecf}), anions difference ($An.Gap=(Na+K)-(Cl+HCO_3^-)$), total carbonic anhydride (TCO_2) and bicarbonate (HCO_3^-). In April vs October Na (142 vs 139) and BUN (51 vs 35) were increased, while An.Gap, pCO_2 and glucose (135 vs 144) appeared reduced. Significant differences between herds affected Na, BUN, An.Gap, HCO_3^- , BE_{ecf} and pCO_2 . The interferograms were significantly related to all parameters (R^2_{val}): K:0.88; pH:0.84; An.Gap:0.73; TCO_2 :0.67; BE_{ecf} :0.66; HCO_3^- :0.65; Cl:0.56; BUN:0.53; Glucose:0.52; HB:0.51; Na:0.47; pCO_2 :0.39. The study emphasize the relevance of BUN, Glucose and haemogas parameter, as well as of NIR Spectroscopy in blood capillary as sign of environmental and multifactorial causes of variation.*

Keywords: Rabbit, rapid analyses, blood, NIR Spectroscopy.

INTRODUZIONE – Gli accertamenti clinici di natura zootecnica non sono praticati nell'allevamento del coniglio da carne. Il rapporto costo/benefici è infatti proibitivo per la cura del singolo animale. Anche nella diagnostica di allevamento parametri ormai consueti in altri comparti zootecnici, non da affezione, come l'urea ematica, lo stato elettrolitico, la glicemia, lo stato ossidativi, ecc. sono ignorati. Eppure uno studio giapponese (Saito e Hasegawa, 2003) condotto su 198 conigli ospedalizzati nel periodo 1998-2001 ha dimostrato che quando il valore di urea aveva superato 27 mg/dl scaturivano disordini enterici (54 casi), seguiti nell'ordine da casi di malocclusione (denti lunghi) e disturbi epatici, totalizzandosi esito mortale prematuro (90 d) nel 48,9% dei soggetti. Lunghi dunque dalla pratica, nella sperimentazione si avverte una crescente esigenza di predisporre analisi poco invasive e possibilmente non solo rispettose del benessere, ma anche indicative proprio di tale stato. In questa ottica si è

inteso valutare due sistemi innovativi. Il primo rappresenta un metodo rapido che utilizza poche gocce di sangue e fornisce un *check-up* dei profili idro-elettrolitico, acido-base, ureico e glicemico. Il secondo è il metodo NIR, le cui possibilità erano già state dimostrate (Masoero *et al.*, 2004) per ricavare indicazioni somatiche (rapporto carne/osso). Si è inteso in questa sede approfondire quanta informazione può essere racchiusa nello spettro NIR di animali apparentemente sani, differenziati solo per allevamento-tipo genetico e per stagione di crescita. Tale metodo, da tempo allo studio, pare sarà ora applicabile in umana con piccoli strumenti, sia *in vivo* per la misura glicemica, che *in vitro*, su poche gocce di sangue, per tre check-up di emergenza (<http://www.nirdiagnostics.com>): la diffusione è prevista per il 2007.

MATERIALI E METODI – Nell’ambito di una ricerca interdisciplinare promossa dalla Regione Piemonte dal titolo “*Benessere animale: alternativa all’eccessiva medicalizzazione dell’allevamento cunicolo*” sono stati esaminati i parametri emato-clinici di alcuni giovani soggetti cresciuti in 4 allevamenti cunicoli, a ciclo completo, situati nel Saluzzese (ASL 17) e nell’allevamento del CRA - Istituto Sperimentale per la Zootecnia, di Caramagna P.te (CN). In complesso, da 68 soggetti, sono state prelevate dalla vena marginale dell’orecchio, con siringa da 2 ml ed ago ipodermico, poche gocce di sangue, anzitutto assorbite in capillare eparinizzato da ematocrito, rapidamente microcentrifugato a 20.000 g per 15’; i capillari sono quindi riposti in apposite cannuce identificate, conservate sotto ghiaccio. L’analisi del capillare è stata realizzata con apparecchio da banco Spectrum IdentiCheck FTNIR System (PerkinElmer, Wellesley, MA 02481-4078, USA) con lettura in transriflettanza a duplice scansione (parte cellulare e parte plasmatica). Gli spettri, consistenti di 3001 punti fra 1000 e 2500 nm, sono stati elaborati con il programma NIRS-2 (ISI) dopo importazione. Il metodo di calibrazione MPLS adattava separatamente gli spettri trasformati ai seguenti valori fissi: stagione: 1=estate/2=inverno; allevamento: valori assegnati da 1 a 5.

Per un numero limitato a 14 casi favorevoli – a causa di inopportune immissioni di microbolle d’aria - veniva raccolta dalla siringa, un’ulteriore piccola quantità di sangue, immediatamente inserita in una cartuccia di tipo EC8+ dell’apparecchio portatile i-STAT (HESCA, Fort Collins, CO 80525, USA), che forniva in 60’’ i seguenti parametri: Na, K, Cl, urea, glucosio, ematocrito (HCT), pH, pressione parziale di anidride carbonica (pCO₂), dai quali si calcolavano: emoglobina (HB), eccesso di base (BE_{ecf}), differenza anionica (An.Gap=(Na+K)-(Cl+HCO₃⁻)), anidride carbonica totale (TCO₂) e bicarbonato (HCO₃⁻). Per l’analisi statistica dei valori ematici osservati (PROC GLM del SAS-System) sono stati considerati i fattori stagione (estate/inverno) ed allevamento, ignorando l’interazione perché mai significativa.

RISULTATI E CONCLUSIONI – Nella Tabella 1 si riportano le medie stimate. Con riferimento ai valori significativamente *minus/plus* devianti, si osserva che rispetto alla stagione, in estate sono risultati incrementati il Na⁺ (142 vs 139) e l’urea (51 vs. 35), mentre sono apparsi ridotti il divario anionico, la pCO₂ e la glicemia (135 vs 144). Rispetto agli allevamenti, sono comparse deviazioni significative relativamente a: Na⁺, urea, divario anionico, HCO₃⁻, BE_{ecf} e pCO₂. L’apparente iponatriemia invernale e quella dell’allevamento N1 si può collegare ad una controtendenza in eccesso della glicemia (all. N1: glicemia 155 mg/dl) parametro in stretta correlazione funzionale negativa. L’ipernatriemia estiva o la situazione media degli allevamenti N3 e N4 potrebbe attribuirsi a insufficiente introduzione di acqua. L’eliminazione del calore

superfluo avviene tramite respirazione accelerata con emissione di una maggiore quantità di vapore acqueo e CO₂, che dunque si abbassa nel sangue venoso. In sostanza durante l'estate, o in certi allevamenti (es. N3 e N4), l'organismo si alcalinizza e il gap anionico aumenta, mentre in altri ciò non succede, per esempio in N1, rappresentativo di una situazione più favorevole all'ingestione di solidi e di liquidi, dunque allo sviluppo di un potenziale di accrescimento maggiore (peso di vendita maggiore) con una minore necessità respiratoria (ambiente più condizionato). L'urea ematica è parsa notevolmente più elevata in estate (P<0,03) e negli allevamenti N2 e N4 (55,6 e 45 mg/dl rispettivamente). I dati raccolti pur numericamente limitati consentono alcune considerazioni. Un livello insolitamente alto di BUN indica disfunzione o un'insufficienza renale (caso dell'estate) associato all'elevato tenore di sodio riscontrabile nello stesso periodo. Il glucosio in genere è molto stabile nel coniglio. Le differenze apparenti fra l'allevamento N1 e l'allevamento N2 sono apparse in qualche modo proporzionali alla velocità di crescita ed al peso medio raggiunto alla vendita. Inoltre si è manifestata una riduzione estiva quasi significativa (P<0,11), che bene si accorda, secondo le attese, con il ridotto accrescimento. In riferimento ai fattori allo studio, emerge un profilo dell'equilibrio acido-base differente fra stagioni e fra alcuni dei quattro allevamenti.

L'elaborazione degli spettri NIR dei capillari ematici secondo il fattore allevamento ha fornito valori elevati sia in calibrazione ($R^2_{cal}=0,98$) che in validazione ($R^2_{val}=0,93$). La figura 1 evidenzia un relativo *overlapping* per i campioni dell'allevamento N1. Il fattore stagione è stato apprezzato dal NIR con valori nettamente inferiori ($R^2_{cal}=0,37$; $R^2_{val}=0,33$), ma pur sempre molto significativi. In sostanza le differenze spettrali corrispondono a variazioni reali fra i parametri ematici, come dimostrato dal fatto che l'adattamento degli spettri NIR ai valori HESCA ha prodotto i seguenti R^2_{val} : K:0,88; pH:0,84; ANGap:0,73; TCO₂:0,67; BE_{ecf}:0,66; HCO₃:0,65; Urea:0,53; Glucosio:0,52; HB:0,51.

In conclusione, queste analisi preliminari evidenziano un quadro di notevole variabilità in giovani soggetti sani, rispetto ai parametri emo-gas, elettrolitici ed energetici, fra i quali ci pare di segnalare l'urea e il quadro elettrolitico, introducibili in un'eventuale diagnostica di allevamento. Le indagini con il sangue e la NIR rimangono certamente per ora sul piano della ricerca, ma meriterebbero una maggiore - quasi *capillare* - diffusione fra gli attori della ricerca cunicola, a titolo di indicatore rapido di effetti sperimentali o di disturbo.

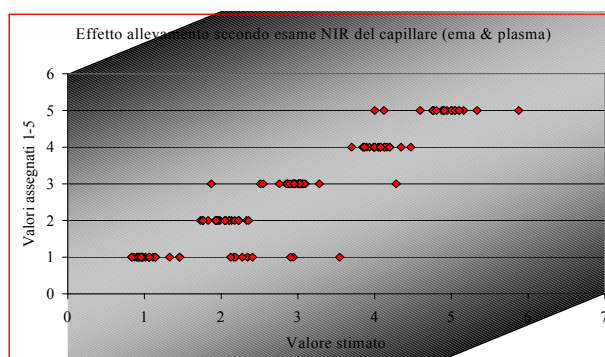


Figura 1: Spettrometria in capillare di ematocrito e plasma: fattore Allevamento.

Tabella 1: Risultati dell'analisi statistica dei parametri ematici, fattori stagione e allevamento.

		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Urea BU	HCT	An.Gap	HB	TCO ₂	Glucosio	pH	PCO ₂	HCO ₃	BE _{ef}
Stagione	1est	142,53	5,14	107,90	51,05	37,10	19,73	12,63	20,93	135,41	7,47	27,19	20,18	-3,30
	2inv	139,16	5,55	104,87	35,15	35,97	15,92	12,12	25,58	143,80	7,47	32,98	24,83	1,12
Prob F>		0,023	0,440	0,312	0,034	0,265	0,050	0,203	0,098	0,117	0,957	0,069	0,098	0,160
Allevamento	1	137,50	5,13	103,25	35,75	35,50	9,75	12,00	30,5	155,25	7,52	36,40	29,50	6,75
	2	140,66	5,28	107,30	55,61	36,69	16,82	12,35	22,86	127,84	7,46	30,90	21,86	-1,96
	3	142,90	5,36	105,51	35,98	36,52	20,63	12,42	24,34	135,15	7,51	28,95	23,34	0,64
	4	142,31	5,61	109,48	45,05	37,43	24,10	12,74	15,32	140,19	7,38	24,09	15,32	-9,79
Prob F>		0,039	0,960	0,570	0,078	0,639	0,002	0,685	0,042	0,006	0,148	0,120	0,051	0,052
DSE		3,23	0,75	4,82	6,39	16,27	14,21	1,61	0,06	6,33	6,25	7,01	5,88	0,63

BIBLIOGRAFIA – Masoero G., Brugiapaglia A., Bergoglio G., Chicco R., 2004. FT-NIR spectroscopy of treated blood plasma to predict carcass and meat quality of young female rabbits. 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico, 7-10 september 2004: 1403-1408. Saito K, Hasegawa A., 2003. Diseases and outcomes in rabbits with high BUN levels. J Vet Med Sci., 65(5):625-8.