

Hematologická vyšetření krve jelení zvěře z oblasti Krušných Hor

Cílem řešení předkládané práce bylo prostřednictvím hematologických vyšetření identifikovat deficity a disbalance v potravě, přijímané jelení zvěří na vybraných lokalitách. Ty mohou v řadě případů iniciovat výše zmíněné poškození lesních porostů.

Metodika

Analýzy plazmy zaměřené na vybrané parametry krevní plazmy i minerální profil byly provedeny na přístroji Flexor XL (výrobce Vital scientific, Holandsko) za použití standardních fotometrických metod. Pro stanovení vápníku a hořčíku se jednalo o fotometrii s arsenaro III, což je set od firmy Pliva – Lachema. Fosfor byl pak stanoven UV molybdatovou metodou.

Výsledky byly zpracovány základními matematicko-statistickými metodami a statistická průkaznost mezi soubory byla stanovena jednostranným i dvojstranným T-testem na hladině významnosti 5% ($p < 0,05$) tj. 95 % pravděpodobnosti (Drápela, 2000).

Výsledky

U samičí zvěře je v době gravidity velká spotřeba kalcia, protože v jejím průběhu vznikají a vyvíjejí se kostry plodů, obdobně lze konstatovat, že vyšší požadavek na daný prvek je v období laktace. U jelenů je zase zvýšená potřeba vápníku v období parožení.

Průměrná koncentrace kalcia v krvi jelení zvěře byla v souboru bez rozlišení stáří zvěře ve volných honitbách $2,20 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($+ 0,29$) oproti výsledkům z obory Fláje $2,13 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($+ 0,06$), přičemž rozdíl byl na základě jednostranného T-testu průkazný ($p < 0,04$).

Mnoho autorů považuje hořčík za velmi důležitý faktor řady enzymových systémů a uvádí, že ionizovaný hořčík (Mg^{2+}) výrazně ovlivňuje nervosvalovou aktivitu vápníku, takže lze říci, že je přirozeným antagonistou kalcia. Tento prvek zabraňuje tvorbě ložisek vápníku, včetně usazování v cévách. Je nezbytný pro vnitřní metabolickou rovnováhu a iontovou výměnu vápníku, sodíku, draslíku a fosforu. Má svou nezastupitelnou úlohu prakticky ve všech biochemických procesech probíhajících v živočišném organismu. Dále také utiňuje nervový systém, reguluje svalovou a nervovou rovnováhu. Je nezbytný pro účinnou funkci nervů a svalů, hraje velkou úlohu v procesu srážení krve. Zpevňuje mimo jiné i kostní tkáň a omezuje ztrátu vápníku močí. Hlavní vliv hořčíku se soustřeďuje na regulaci růstu, na látkovou přeměnu a na činnost buněk. V buňkách pomáhá štěpit glukózu, a tak uvolňovat energii. Zúčastňuje se všech enzymatických činností v těle, je nutný pro přenos nervových podnětů do svalů. Deficit zvyšuje propustnost buněčných membrán a na druhé straně hromadí vápník v buňkách.

Fosfor je podstatným minerálním prvkem výživy zvěře. Význam fosforu spočívá v metabolismu a má důležitou fyziologickou funkci. Působí na rozvoj a udržení kosterní tkáně, využití energie a na udržování osmotické a kyselinové rovnováhy. Nejobvyklejšími příznaky jeho nedostatku je pokles přírůstku živé váhy způsobený nechutenstvím, nižší počet mláďat, nižší plodnost a náchylnost k některým nemocem.

Fosfor se převážně nachází v kostech a zubech. V krvi se nachází většinou v erytrocytech a je vázáný ve fosfatidech a fosfátových esterech. V krevním séru se nachází jako anorganický fosfát a je snadno využitelný pro biochemickou reakci. Prvek se resorbuje zvláště v tenkém střevě, u přežvýkavců i ve slezu. Vstřebává se jako anorganický fosfát. Přbytek iontů vápníku, hořčíku a hliníku v krmné dávce tvoří ve střevech nerozpustné a neresorbovatelné fosfáty.

Fosfor je vylučován výkaly a močí, což závisí na jeho množství v krmné dávce. Koncentrace fosforu je řízena obdobně jako koncentrace vápníku. Pro přežvýkavce i zvěř je fosfor potřebný na rozmnožování a rozvoj bachorové mikroflóry, má vliv na produkci mléka a obsah tuku, jeho poměr k vápníku má úzký vztah k plodnosti (Kudrna, 1998).

Ze zjištěných skutečností vyplývá, že odpovídající množství makro a mikroprvků v základních krmivech doplňovaných minerálně vitamínovými směsmi je důležité pro chov kvalitní a zdravé zvěře. Průměrná koncentrace fosforu v krvi jelení zvěře z volných honiteb činila 3,17 mmol.l-1 (+ 0,16) a u jedinců z obory Fláje byla podstatně vyšší 3,90 mmol.l-1 (+ 0,88). Statistický rozdíl však byl u obou testů nevýznamný (p 0,61 a p 0,12).

Koncentrace draslíku v krvi jedinců z volných honiteb a obory Fláje byla naprosto rozdílná. Obě získané hodnoty jsou vysoko nad referenční hranicí uváděnou pro jelení zvěř. S největší pravděpodobností se zde projevil vliv stresu v době odlovu tak jak je popisováno u jiných druhů zvěře (Bukovjan a Páv, 1989). Proto tyto výsledky nelze považovat za směrodatné, včetně průkaznosti mezi soubory.

Naopak u sodíku byly zaznamenány rozdílné koncentrace u obou sledovaných souborů. Vyšší hodnoty byly zjištěny ve volných honiteb (132,46 mmol.l-1 + 6,34) oproti oboře Fláje (118,11 mmol.l-1 + 12,38). Statistický rozdíl byl v rámci jednostranného testu průkazný (p 0,02) a v případě dvojstranného T-testu pak byl těsně nad hranicí průkaznosti (p 0,052).

Obdobná situace pak byla i v případě koncentrací chloridů. Průměrná hladina u jedinců z volných honiteb byla vyšší (96,96 mmol.l-1 + 1,07) oproti situaci v oboře Fláje (94,80 mmol.l-1 + 2,10).

Aktivita alkalické fosfatázy byla u obou souborů podstatně odlišná. Vyšší aktivita byla u jedinců z volných honiteb (4,22 ukat.l-1, + 0,20) oproti jedincům z obory Fláje (3,83 ukat.l-1 + 0,21). Rozdíl byl mezi oběma skupinami statisticky významný při obou použitých T-testech (p 0,01 a 0,04).

Ze skupiny jaterních enzymů byla pozornost zaměřena na aktivitu transferáz majících vztah jak k akutnímu poškození jaterní tkáně tak i změnám vznikajícím v důsledku dlouhodobého průběhu.

Mezi základní sledované transferázy patřila u obou vyhodnocovaných souborů asparátaminotransferáza (AST). Vyšší aktivita tohoto enzymu byla zaznamenána u zvěře pocházející z obory Fláje (19,41 ukat.l-1 + 13,30) oproti jedincům z volných honiteb (5,01 ukat.l-1 + 3,91). Mezi skupinami byl na základě jednostranného T-testu zjištěn statisticky významný rozdíl (p 0,029) a v případě dvojstranného T-testu byla průkaznost mezi soubory těsně nad stanovenou hranicí (p 0,057). V rámci vyhodnocení je nutno konstatovat, že daná aktivita AST je u obou souborů nad horní hranici referenční hodnoty udávané pro jelení zvěř.

Obdobná situace (tab.č.7, graf č.7) byla i v případě aktivity alaninaminotransferázy (ALT). Vyšší koncentrace tohoto enzymu byly zaznamenány v krvi jedinců pocházejících z obory Fláje (1,14 ukat.l-1 + 0,49) v porovnání se zvěří z volných honiteb (0,62 ukat.l-1 + 0,13). Na základě jednostranného T-testu byl prokázán významný statistický rozdíl mezi oběma sledovanými soubory (p 0,03), v případě dvojstranného T-testu byla průkaznost těsně nad stanovenou hranicí (p 0,055).

Hodnoty naměřené v rámci souboru jelení zvěře z obory Fláje poukazují obdobně jako v případě asparátaminotransferázy na střední až těžké poškození jaterní tkáně což by se dalo potvrdit doplňkovým patohistologickým vyšetřením. Na základě rozborů krve lze usuzovat na počínající degenerativní procesy, případně akutní záněty jater či intoxikace např. mykotoxiny.

Gama-glutamyltransferáza je jaterní enzymu jehož aktivita vzrůstá u zvěře především při chronickém poškození jater. Rovněž jako v obou předešlých případech byla zhruba trojnásobně vyšší koncentrace tohoto jaterního enzymu v krvi jelení zvěře z obory Fláje (0,66 ukat.l-1 + 0,38) oproti jedincům z volných honiteb (0,22 ukat.l-1). Také rozdíl mezi soubory byl jako v předchozích případech statisticky významný v případě jednostranného T-testu (p 0,02), v případě dvojstranného T-testu ležel těsně nad hranicí průkaznosti (p 0,056).

Glukóza je základní parametr který se u zvěře v rámci biochemických analýz sleduje, neboť má přímý vztah nejen ke zdravotnímu stavu, stressovým faktorům, metabolismu ale i samotné výživě. V případě glukózy byla signifikantně vyšší koncentrace v krvi jelení zvěře pocházející z volných honiteb (9,74 mmol.l-1 + 2,50) v porovnání s jedinci z obory Fláje (6,35 mmol.l-1 + 2,57). Statisticky významný rozdíl byl i v případě obou T-testů (p 0,02 a p 0,04). Koncentrace triacylglyceridů v krvi jelení zvěře z obory Fláje byla vyšší (0,38 mmol.l-1 + 0,87) oproti volných honitbách (0,26 mmol.l-1 + 0,040), přičemž rozdíl byl statisticky významný v případě obou použitých T-testů (p 0,01 a p 0,02).

Ve skupině cholesterolů které mají významný vztah k metabolismu tuků a případnému poškození jaterní tkáně byla pozornost zaměřena především na celkový cholesterol, dále pak na LDL cholesterol a HDL cholesterol.

Vyšší koncentrace LDL cholesterolu (tab.č.13) byla zaznamenána u jedinců z volných honiteb (0,18 mmol.l-1 + 0,05) oproti jelení zvěři z obory Fláje (0,11 mmol.l-1 + 0,06), přičemž rozdíl byl statisticky významný pouze při použití jednostranného T-testu (p 0,034).

Opačná situace byly v případě vyhodnocení HDL cholesterolu. Vyšší koncentrace byla zjištěna u jedinců z obory Fláje (0,82 mmol.l-1 + 0,062) oproti další sledované skupině (0,755 mmol.l-1 + 0,062). Rozdíl byl v případě jednostranného T-testu statisticky významný (p 0,048).

Naprosto shodná situace jako u HDL cholesterolu pak byla rovněž i při vyhodnocení celkového cholesterolu v krvi jelení zvěře. Vyšší koncentrace byla zaznamenána v u jedinců z flájské obory ($1,11 \text{ mmol.l}^{-1} + 0,049$) oproti volným honitbám ($1,05 \text{ mmol.l}^{-1} + 0,033$). Rovněž rozdíl byl při použití jednostranného rozdělení T-testem statisticky významný ($p 0,031$).

Na možné porušení funkce jater poukazuje i zvýšená koncentrace celkového bilirubinu v krvi jelení zvěře z obory Fláje (tab.č.16, graf.č16). Tato zvěř měla zhruba dvojnásobný ($23,31 \text{ mmol.l}^{-1} + 9,12$) obsah bilirubinu oproti jedincům z volné lokality ($11,23 \text{ mmol.l}^{-1} + 4,99$). Statisticky významné rozdíly byly zaznamenány v případě obou použitých T-testů ($p 0,015$ a $p 0,024$).

Statisticky významné rozdíly byly rovněž zaznamenány na sledovaných hladinách významnosti i v případě močoviny ($p 0,011$ a $p 0,018$). Průměrná koncentrace tohoto biochemického parametru byla u jedinců z volné přírody $6,98 \text{ mmol.l}^{-1} + 0,31$ vyšší oproti výsledkům z obory Fláje ($6,58 \text{ mmol.l}^{-1} + 0,24$). Současně s tím lze konstatovat, že v případě honiteb ve volnosti byl zaznamenán i vyšší rozptyl hodnot v souboru.

Naopak v případě kyseliny močové byly zaznamenány v zjištěných hodnotách naprosto rozdílné výsledky. Velmi vysoká byla koncentrace u jedinců z obory Fláje ($403,83 \text{ umol.l}^{-1} + 163,78$) oproti jedincům z volnosti ($193,44 \text{ umol.l}^{-1} + 91,30$), přičemž velmi vysoký rozdíl v rozptylu souboru poukazuje na možnou metabolickou poruchu či defekty vylučovacího aparátu u některých jedinců zařazených do souboru. Mezi sledovanými soubory byly zaznamenány statisticky významné rozdíly na obou hladinách významnosti ($p 0,012$ a $p 0,030$).

Velmi významnou složkou krve je i celková bílkovina jejíž kolísání je mnohdy mimo jiné i odrazem kvalitativního, případně kvantitativního hladovění, případně působení některých škodlivin (chemické prvky, pesticidní přípravky, mykotoxiny). Vyšší byla koncentrace u jelení zvěře pocházející z flájské obory ($59,96 \text{ g.l}^{-1} + 2,42$) oproti zvěři z klášterecké honitby ($57,21 \text{ g.l}^{-1} + 2,03$). Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán v rámci použití jednostranného T-testu ($p 0,031$).

Další dva sledované ukazatele byly v rámci T-testů pod hranicí průkaznosti. Jednalo se o enzym alfa-amylázu (tab.č.10, graf č.10), kde průměrná koncentrace u jedinců z volné honitby Klášterec činila $0,29 \text{ ukat.l}^{-1} + 0,013$, oproti poněkud vyšší hladině ($0,36 \text{ ukat.l}^{-1} + 0,095$). Druhou hodnou pak byl index aterogenity (tab.č.21, graf č.21). Hodnoty u jedinců z flájí dosáhly průměru $0,35 + 0,062$ a z volné honitby Klášterec pak byly nepatrně zvýšeny ($0,40 + 0,06$), přičemž rozptyl v souborech byl naprosto srovnatelný.

V zájmovém chovu kde byly odebrány kontrolní vzorky bylo rozpětí naměřených hodnot následující. V případě močoviny $6,20 - 9,50 \text{ mmol.l}^{-1}$, kreatininu $105-139 \text{ umol.l}^{-1}$, kyseliny močové $137-362 \text{ umol.l}^{-1}$, sodíku $135,8-137,9 \text{ mmol.l}^{-1}$, draslíku $5,91-8,46 \text{ mmol.l}^{-1}$, chloridů $95,6-103,10 \text{ mmol.l}^{-1}$, vápníku $1,75-1,92 \text{ mmol.l}^{-1}$, fosforu $1,62-2,33 \text{ mmol.l}^{-1}$, celkového bilirubinu $10,2-36,60 \text{ umol.l}^{-1}$, ALT $0,47-0,81 \text{ ukat.l}^{-1}$, AST $2,06-3,68 \text{ ukat.l}^{-1}$, ALP $0,10-1,22 \text{ ukat.l}^{-1}$, alfa-amyláza $0,10-0,21 \text{ ukat.l}^{-1}$, celkový cholesterol $0,69-1,37 \text{ mmol.l}^{-1}$, HDL cholesterol $0,59-1,05 \text{ mmol.l}^{-1}$, LDL cholesterol $0,06-0,26 \text{ mmol.l}^{-1}$, triacylglyceridy $0,09-0,30 \text{ mmol.l}^{-1}$, glukóza $3,00-5,50 \text{ mmol.l}^{-1}$, celková bílkovina $48,30-62,40 \text{ g.l}^{-1}$ a index aterogenity $0,17-0,30$.

Závěr

Při vzájemném porovnání získaných výsledků dvou vzájemně srovnatelných souborů jelení zvěře pocházející z obory Fláje a volných honiteb lze vyvodit následující závěry:

Koncentrace minerálních látek byla signifikantně vyšší ve volné honitbě oproti oborně chované zvěři v případě vápníku oproti celkovému fosforu kde je situace opačná.

Signifikantně vyšší byla koncentrace sodíku a chloridů u zvěře z volných honiteb.

Výsledky draslíku nelze v žádném případě považovat za směrodatné, neboť jsou s největší pravděpodobností ovlivněny stresem v důsledku odlovu.

Statistiky nevýznamné byly rozdíly v případě obou použitých testů v případě alfa-amylázy i indexu aterogenity.

Statisticky významné rozdíly byly pak v případě aktivity ostatních enzymů tj.alkalické fosfatáty a skupiny jaterních enzymů AST, ALT, GGT.

Významné statistické rozdíly byly rovněž v koncentracích glukózy, kde prokazatelně vyšší byly hladina u jelení zvěře z volných honiteb.

Průkazně vyšší byla koncentrace celkového bilirubinu a HDL cholesterolu v krvi zvěře z obory Fláje, oproti koncentraci LDL cholesterolu, kde byla situace opačná.

Statisticky průkazné jsou výsledky v rámci vyhodnocení celkového bilirubinu, triacylglyceridů a kyseliny močové kde byly vyšší hodnoty zaznamenány u jedinců z flájské obory oproti volnosti. Ve volnosti byla zaznamenány signifikantně vyšší koncentrace močoviny a kreatininu oproti souboru zvěře z obory Fláje.

V krvi jelení zvěře z Fláji byly prokazatelně vyšší koncentrace celkové bílkoviny oproti jedincům z volnosti.

Prakticky se jedná ve většině případů o naprosto odlišnou problematiku co se týče zdravotního stavu jelení zvěře a úrovně výživy, která může mít zásadní vliv na škody na lesních porostech. V případě Flájské obory je jasné postižení funkce jater presentované zvýšenou koncentrací celkového bilirubinu a skupinou jaterních transferáz (AST,ALT,GGT) u některých jedinců zahrnutých ve vyhodnocovaném souboru, jakožto i disbalance mezi základními makroprvky tj.vápníkem a fosforem. To poukazuje mimo jiné pravděpodobně i na živinově nevyváženou krmnou dávku především v oblasti minerálních látek. S největší pravděpodobností se zde může projevit okrajově i vliv mykotoxinů, konkrétně pak aflatoxinu B1 z přijímané kontaminované potravy.

Statisticky vyšší obsah glukózy v krvi, v případě jelení zvěře z volných honiteb může být důsledkem konzumace krmiva s vyšším obsahem složitých cukrů, případně škrobu v daném období. Snížená koncentrace celkové bílkoviny pak poukazuje na možné hladovění některých jedinců a nevyváženost krmné dávky. To může mít vliv nejen na zdravotní stav zvěře ale i na iniciaci škod na lesních kulturách.

Doplňková vyšetření jako jsou v tomto případě vyšetření patomorfologická i parazitologická, by poukázala na zdravotní stav daných populací a potvrdily závěry získané vyhodnocením biochemických analýz krve.

Opatření

V obou chovech jak oborním, tak volné honitbě by bylo vhodné provést úpravu krmné dávky, především srovnat koncentrace vybraných makroprvků, dále pak zajistit v předjarním období glycidovou dietu na ochranu léčbu jater. Z tohoto důvodu byly na základě získaných výsledků navrženy dvě směsi pro jelení zvěř a to „Směs pro zimní období“ a „Směs dieta glycidová“.

První vychází s doposud testované směsí „Jez IV gran.konc. 1:2“, která je zaměřena na možnost ovlivnění a zmírnění škod na lesních porostech. Směs je charakteristická vysokým obsahem vlákniny, kterou zajišťuje v tomto případě oves (45%), vaječkové úsušky I.jakost (15%) a otruby pšeničné (8%). Dalšími základními komponenty je pak ječmen krmný (13,7%) a kukuřice (10%), které zajišťují energetickou složku.

Potřeba minerálních látek je dostatečně pokryta Calmixem P (4,3%) i když jej lze nahradit komerčně vyráběným preparátem „Roboran pro spárkatou zvěř“. Rozdíl je však v pořizovací ceně obou preparátů.

Deklarované množství živin je v případě dodržení směsi následující: sušina max. 886,9 kg (g), NEL 6,0 MJ, NEV 6,2 MJ, A-látky 134,0 g, vláknina 96,2g, ADF 70,2 g, NDF 154,4 g, PDIN 90,5 g, PDIE 86,6 g, UDP 30,5 g, škrob 533,5 g, BNLV 550,8 g, tuk 33,7 g, Ca 13,7 g, P 5,5 g, Mg 3,4 g, Na 3,9 g, K 8,7 g, Cl 6,7 g, S 2,0g, Fe 182,4 mg, Zn 288,3 mg, Cu 48,5 mg, Se 1,4 mg, I 5,3 mg, Se 1,4 mg, Co 1,6 mg, vitamin A 24,5 tis.mj., vitamin D 4,8 tis. Mj., vitamin E 65,4 tis.mj., kyselina nikotinová 39,0 mg, B1 10,1 mg. Krmivo je třeba mít uskladněno v suché, dobře větrané místnosti. Jelení zvěři se doporučuje podávat pravidelně jako granulát po dobu zimního období v dávce 0,70-1,00 kg na ks a den.

„Směs dieta glycidová gran.konc. 1:2“ vychází z DAZ IV gran. Konc 1:2, která byla úspěšně použita při léčbě intoxikace mědí a vysokými koncentracemi dusičnanů v oboře Jabkenice. Zde došlo k lokální alopecii a vzniku aodemů v podkožní krku. Po odlovení zvěře byla odebrána krev a analyzována na koncentraci mědi a methemoglobin. Vysoké hladiny opravňovaly k výše uvedené diagnóze. Po

měsíčním zkrmování směsi došlo k úpravě metabolických pochodů a chov zvířete byl prakticky bez úhynu.

Základem směsi je nižší obsah ovsa (13%) i ječmene (10%) a zvýšený obsah cukrovských řízů (10%) a vojtěškových úsušků (20%). Energetickou složku zajišťuje dostatečně kukuřice (20%) a ječmen (10%), bílkovinnou složku pak SEŠ 47,5 NL (soja) v množství rovněž 10%. Z doplňkových složek je zařazen DCF V MNOŽSTVÍ 2,0 %. V této směsi je vyšší obsah minerálních látek (Calmix P) v množství 5%.

Deklarované množství živin, minerálií, chemických prvků a vitaminů: Sušina max. 895,9 kg(g), A-látky 155,1 g, NEL 5,9 MJ, NEV 6,1 MJ, vláknina 99,1 g, ADF 60,9 g, NDF 123 g, PDIN 99,7g, PDIE 90,1 g, UDP 45,7 g, škrob 471,5 g, BNLV 448,6 g, tuk 24,4 g, Ca 21,9 g, P 9,4 g, Mg 4,2 g, Na 4,5 g, K 10,3 g, Cl 7,7 g, S 1,9 g, Fe 204 mg, Mn 240,7 mg, Zn 332,1 mg, Cu 56,6 mg, I 6,2 mg, Se 1,7 mg, Co 2,1 mg, vitamin A 28,9 tis. M.j., vitamin D 5,6 tis. Mj., vitamin E 79,1 mg, kyselina nikotinová 45,5 mg, B1 6,1 mg. Dávkování 0,7-1,0 kg/ks a den, po dobu 4-8 týdnů.