

INFLUENCE OF FEEDING OF NATURALLY MOULDED DIETS ON LEVEL OF HEPATIC ENZYMES

VLIV ZKRMOVÁNÍ PŘIROZENĚ ZAPLESNIVĚLÝCH DIET NA HLADINU JATERNÍCH ENZYMŮ

Vašátková A., Křížová Š., Zeman L.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic

E-mail: A.Vasatkova@seznam.cz, Zeman@mendelu.cz

ABSTRACT

In 28-days experiment we tested effect of naturally moulded diets on level of hepatic enzymes and on performance of Wistar albino rats. For this experiment were used four level naturally mouldy wheat – 0, 33, 66 and 100 %. This experiment was conducted to determine influence of moulded wheat in experimental mixtures on health condition, growth performance and feed conversion of rats. For testing were used selected male laboratory rats of Wistar Albino strain at age of 28 days. These were divided in four groups with seven rats each and passed plastic cages with slotted floor in vivarium. All rats were marked by zootechnical colour which make possible to individual monitoring and weighing. At the very end the animals were putted to death and blood were sampled. Alkaline phosphatase (ALP) and aspartate transaminase (AST) level was determined by differential biochemical analyses. The results of our experiment showed us, that weight of rats weren't significant differences between groups. Control group had the highest average weight gain from 1st till 28th day, which was 227.91 ± 22.24 g. The group fed mixture with 100 % mouldy wheat had the worst weight gain, which was 186.46 g. We found out that the control group had the best feed conversion, which was 2.7 and the worst feed conversion had the group fed mixture with 100 % mouldy wheat and it was 3.24. The results of biochemical analyses showed us, that level of hepatic enzymes from 1st till 28th day about control group it was 255.83 ± 57.61 U/I for ALP and 111.68 ± 69.23 U/I for AST. The group fed mixture with 33% mouldy wheat had the worst level of hepatic enzymes which was 278.25 ± 103.85 U/I for ALP. The group fed mixture with 100 % mouldy wheat had the level of AST which was 290.33 ± 78.47 U/I.

Keywords: hepatic enzymes, growth performance, aspartate transaminase, alkaline phosphatase

Acknowledgments: IG280091

ÚVOD

Růst plísní na obilovinách není v České republice ojedinělým jevem. Plísňová kultura může kontaminovat zrna jak na poli, tak při skladovacím procesu. Je velmi problematické kontrolovat růst plísní, zejména díky neschopnosti člověka ovlivnit počasí. Důležité je, že růst hub nemusí být vždy viditelný pouhým okem, protože první stádium růstu plísní je mikroskopické. Hlavními rody, které můžeme na obilninách detekovat jsou *Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium* a *Fusarium* (Marquart, 1996). Tyto rody plísní jsou také zároveň v našich podmínkách označovány jako plísně toxinogenní, což znamená, že jejich sekundární metabolity (mykotoxiny), jsou látky, které nacházíme v krmivech jako kontaminanty.

Zaplísňená krmiva i s nízkými hladinami mykotoxinů mohou u hospodářských zvířat způsobovat různé dietetické poruchy, vyvolávat alergické reakce, negativně ovlivňovat imunitu zvířat a při silné kontaminaci může docházet i k poškození jaterního parenchymu. Už malé poškození hepatocytů způsobuje změnu aktivity ALT a AST.

MATERIÁL A METODIKA

Pokus byl proveden v experimentálním zařízení Ústavu výživy zvířat a pícninářství AF MZLU v Brně (v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb).

V laboratoři byly sledovány mikroklimatické podmínky, které jsou limitovány především teplotou, jež byla měřena „DATA LOGGEREM S 3120“ a byla udržována v rozmezí $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Dále byla stejným přístrojem monitorována stálá vlhkost vzduchu a udržována na hladině 60 % klimatizační jednotkou. Fotoperioda byla řízena uměle dle schématu 12hod. den a 12hod. noc o max. intenzitě 200 lx a konečně z podmínek chemických byl sledován obsah CO_2 ve stájovém vzduchu – max. 0,25 %, NH_3 max. 0,0025 %.

Jako experimentální model pro tento pokus byli použiti rostoucí samci laboratorního potkana outbredního kmene Wistar albino. Zvířata byla do pokusu zařazena ve věku 28 dní a skupiny jsme sestavily tak, aby bylo vše v souladu s normou požadující maximální rozdíly ve hmotnosti mezi pokusnými skupinami 5g (KACEROVSKÝ, 1990).

Pokusné sledování trvalo 28 dní a bylo rozděleno do 4 týdnů. Potkani byli ustájeni v plastových klecích po 4 skupinách a pro přehledné sledování barevně označeni. V každé skupině bylo ustájeno 7 samců.

Krmné směsi byly sestaveny z přirozeně zaplesnivělé pšenice, jež byla do diet přidávána v zastoupení 0 %, 33 %, 66 % a 100 % viz. schéma pokusných krmných směsí. Tato pšenice byla pošrotována a po dobu 14ti dní byla vlhčena pomocí rozprašovací techniky vodou v dávce 4litry / 100kg. Před vlastním mícháním pokusných diet byl u této pšenice proveden rozbor na zastoupení a hladin mykotoxinů. Poté byly kompletně sestaveny pokusné krmné směsi a byly odebrány vzorky krmiv a provedeny rozborů na obsah základních organických živin (NL, vlákniny, tuku, BNLV a popela). Analýzy a chemická stanovení byla provedena podle zásad, které uvádí KACEROVSKÝ a kol. (1990) a podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 124/2001 Sb., která stanovuje požadavky na odběr vzorků a principy metod laboratorního zkoušení krmiv, doplňkových látek a premixů a způsob

uchování vzorků podléhající zkáze. Vlhčené krmné směsi a zdravotně nezávadná voda byly podávány ad libitum, spotřeba směsí byla sledována skupinově.

V průběhu pokusu byly individuálně sledovány tyto ukazatele: čistý příjem pokusných krmných směsí, zdravotní stav zvířat, hmotnostní přírůstky, příjem a konverze krmiva.

Zvířata byla 1x týdně přestýlána. Zbytky nesežraných krmiv a výkaly byly skupinově odebírány, váženy a sušeny. Z nich byl stanoven: čistý příjem pokusných krmných směsí a výkaly pro stanovení koeficientů stravitelnosti organických živin (v % - sušiny, NL, vlákniny, BNLV, tuku a popela).

První den pokusu byla kontrolním zvířatům punkcí odebrána krev ze srdce, která byla podrobena biochemickému vyšetření na Ústavu morfologie fyziologie a genetiky zvířat naší univerzity. Pro potřeby biochemického vyšetření bylo odebráno 150 μ l krve do zkumavky bez antikoaguantní složky. Po sražení byla krev odstředěna a z krevního séra stanoveny hladiny aspartátaminotrasferázy (AST) a alkalické fosfatáza (ALP).

Po ukončení experimentu byla zvířata podrobena pitvě, při které jim byla vyjmuta játra a z nich odebrán vzorek 1 x 1 x 1 cm, který byl uložen po dobu 24h v 10% roztoku formaldehydu a po té přenesen do 5% roztoku formaldehydu. Takto fixovaný vzorek byl použit k tvorbě trvalého histologického preparátu, který bude vyfotografován a analyzován světelným mikroskopem s použitím imerzního oleje (Olympus BH2, Olympus optical Co., Ltd, Tokyo, Japan) při tisícinásobném zvětšení.

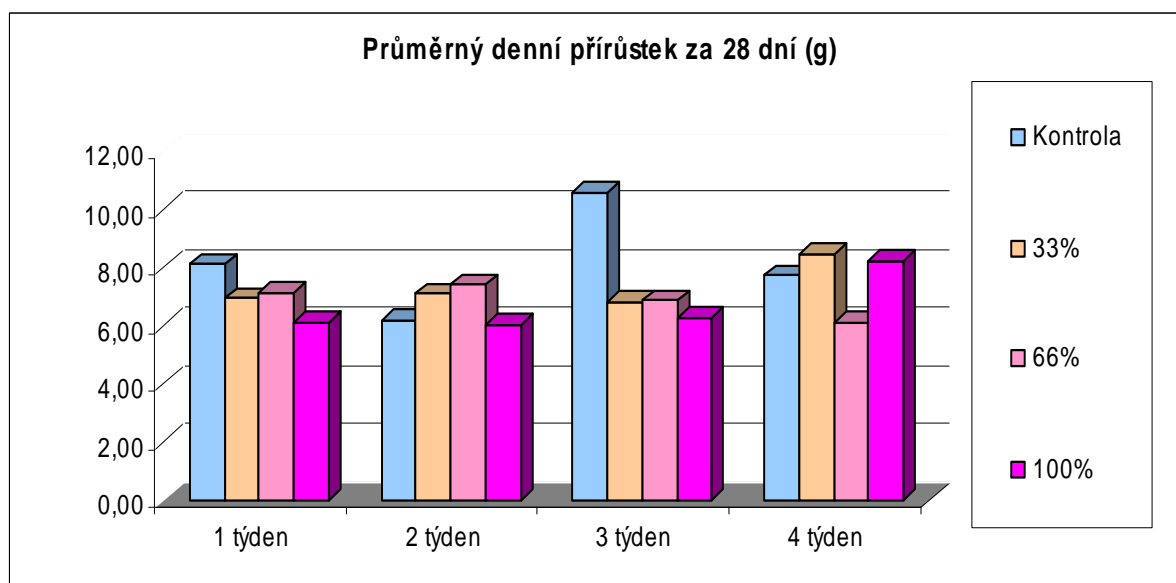
Tabulka č. 1: Složení pokusných krmných směsí

Ingredient (%)	Kontrola	33%	66%	100%
Pšenice	60	40,2	20,4	-
Pšenice zaplesnivělá	-	19,8	39,6	60
SEŠ 47,5 %	12	12	12	12
ŠKROB	22,14	22,14	22,14	22,14
Lysin 78%	0,46	0,46	0,46	0,46
MPK makro	3	3	3	3
Vitamíny	0,4	0,4	0,4	0,4
Slunečnicový olej	2	2	2	2
Suma	100	100	100	100

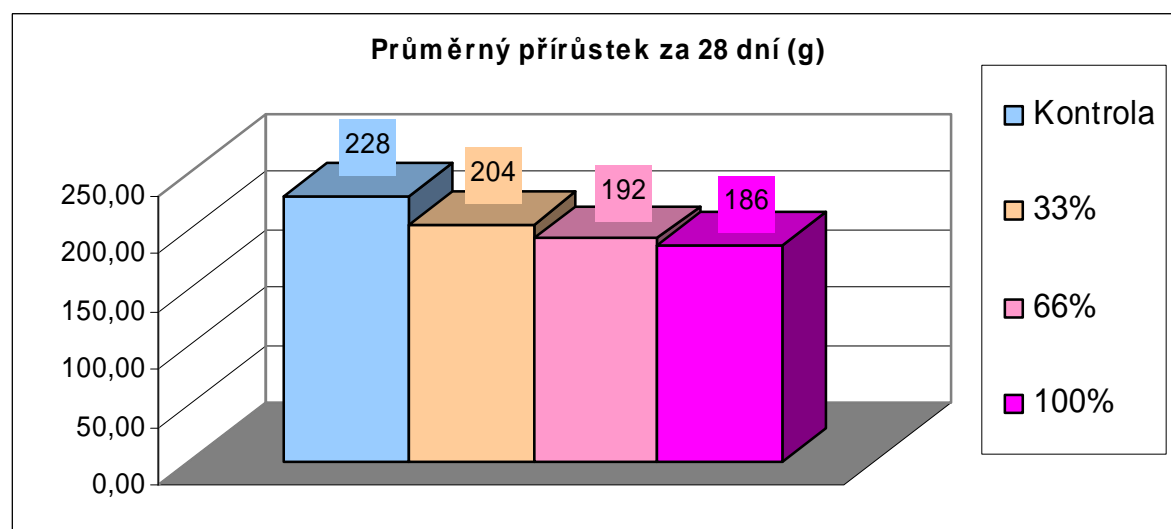
VÝSLEDKY A DISKUZE

Z hmotnostních měření vyplývá, že nejvyšší průměrné hmotnosti dosáhla skupina krmená kontrolní pokusnou krmnou směsí, která neobsahovala žádnou zaplesnivělou pšenici. Hmotnostní přírůstek u kontrolní skupiny byl $227,91 \pm 22,24$ g. Naopak, skupina krmená dietou sestavenou pouze z přirozeně zaplesnivělé pšenice, vykazovala nejnižší průměrný přírůstek, který byl $186,46 \pm 8,99$ g.

Graf č. 1: Průměrný denní přírůstek v průběhu pokusu

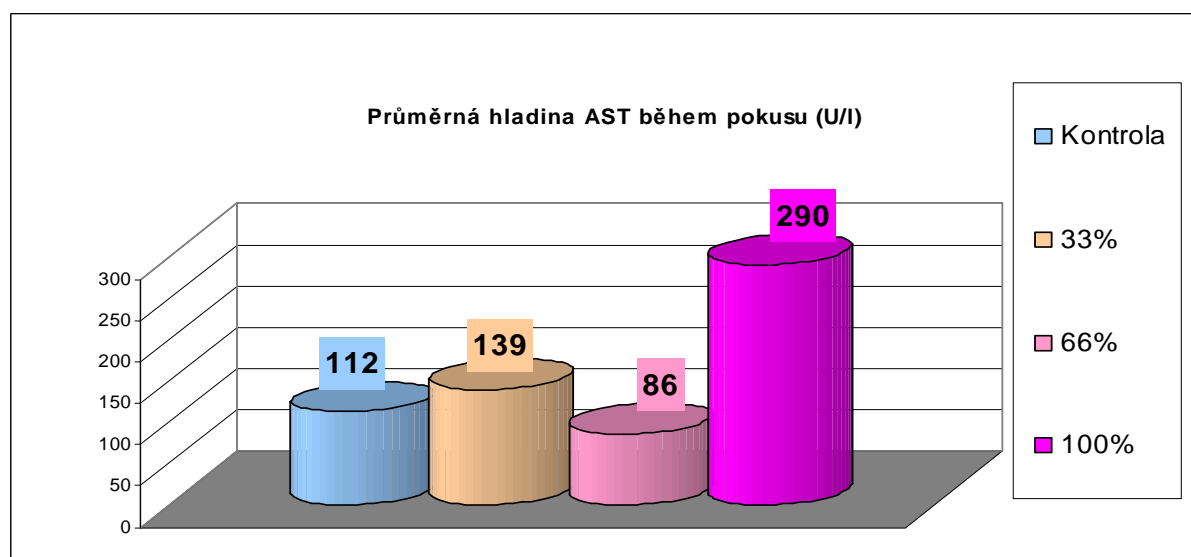


Graf č. 2: Průměrný hmotnostní přírůstek za 28 dní



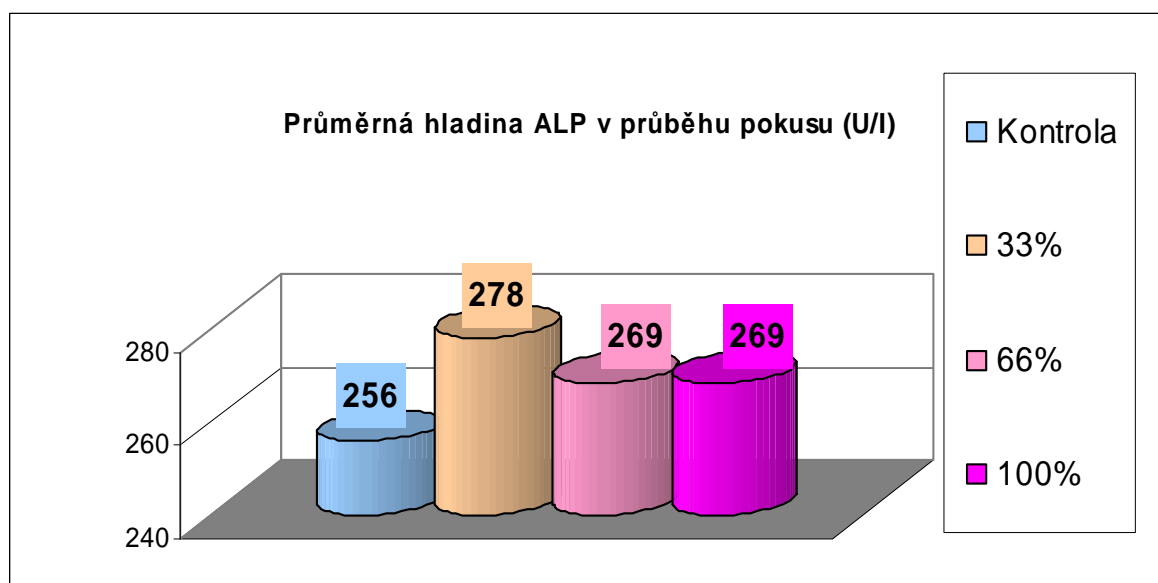
Z biochemického vyšetření krve laboratorních potkanů bylo zjištěno, že nejnižší průměrná hladina AST byla stanovena u skupiny kontrolní ($111,68 \pm 69,23$ U/I), naopak nejvyšší průměrná hladina AST byla detekována u skupiny 100%, a to ve výši $290,33 \pm 78,47$ U/I. Podle výsledků můžeme říci, že hladina AST u skupiny 100% je statisticky průkazně ($P < 0,05$) vyšší oproti skupině kontrolní a skupině 33%.

Graf č.3: Průměrná hladina aspartátaminotrasferázy v průběhu 28 dní



Při stanovování hladiny alkalické fosfatázy bylo zjištěno, že nejnižší průměrnou hladinu ALP vykazovala opět kontrolní skupina. U této skupiny byla hladina alkalické fosfatázy v krvi $255,83 \pm 57,61$ U/I. Velmi překvapivý vývoj byl zaznamenán u skupiny, která měla v krmné směsi zařazenu přirozeně zaplesnivělou pšenici v dávce 33 %. Tato skupina vykazovala v průběhu pokusu nejvyšší hladinu alkalické fosfatázy, která činila $278,25 \pm 103,85$ U/I.

Graf č.4: Průměrná hladina alkalické fosfatázy v průběhu 28 dní



ZÁVĚR

Cílem krmných pokusů na outbredním kmeni laboratorního potkana kmene Wistar albino bylo ověřit v praktických podmínkách změny hladin jaterních enzymů, v závislosti na podávané dávce přirozeně zaplesnivělé pšenice, jako indikátor možného prvopočátku patologického projevu jaterního parenchymu.

Bylo zjištěno, že různá hladina přirozeně zaplesnivělé pšenice v pokusných krmných směsích dokáže ovlivnit produkci jaterních enzymů v tom směru, že čím větší bylo procento zaplísněného krmiva ve směsi, tím vyšší byly hladiny AST a ALP. Do jaké míry došlo k viditelnému jaternímu poškození, ukáží až histologické preparáty, které prozatím čekají na vyhodnocení. Lze předpokládat, že změny hladin jaterních enzymů jsou prvním posouzením funkčnosti jaterního parenchymu.

LITERATURA

KACEROVSKÝ, O. et. al.: Zkoušení a posuzování krmiv. SNZ Praha 1990, 216s. ISBN 80-209-0098-5

MARQUARDT, R.R. 1996. Effect of koles and their toxins on livestock performance: A western Canadian perspective. Anim. Feed Sci. Tech. 58:77-89.

Zákon na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.

HOOPER, C.S. et al: Biochemical profile sof rats wistar at laboratory animals breeding center, Dostupné:

[http://www.google.com/search?q=BIOCHEMICAL+PROFILES+OF+RATS+WISTAR+\(RATTUS+NORVEGICUS\)+AT+LABORATORY+ANIMAL+BREEDING+CENTER+&sourceid=navclient-ff&ie=UTF-8&rlz=1B3GGGL_cs___CZ216](http://www.google.com/search?q=BIOCHEMICAL+PROFILES+OF+RATS+WISTAR+(RATTUS+NORVEGICUS)+AT+LABORATORY+ANIMAL+BREEDING+CENTER+&sourceid=navclient-ff&ie=UTF-8&rlz=1B3GGGL_cs___CZ216)