

PATOLOGIA I TERAPIA

STANISŁAW PATYRA, STEFAN KOSSAKOWSKI, JANUSZ STRYCZEK

Badania hematologiczne u bydła rasy nizinnej czarno-białej po naskórnym stosowaniu Neguvonu

Z Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynarii
AR w Lublinie

Z Ośrodka Naukowo-Badawczego Służby Weterynaryjnej
w Puławach

Preparaty fosforoorganiczne mają charakter inhibitorów esterazy cholinowej i jako takie przedłużają czas i efekt działania acetylocholinę a tym samym zmieniają prawidłową regulację wielu układów organizmu (3, 10, 22). Do grupy tych związków należy Neguvon, stosowany głównie przy zwalczaniu hypodermatozy (4, 5, 12). Mechanizm jego działania jak i innych związków fosforoorganicznych jest podobny zarówno u ssaków jak i ich pasożytów (5, 8). Toteż przy niszczeniu pasożytów zdarzają się przypadki zatruc zwierząt a nierzadko i ludzi (2, 4, 5, 18). Jednak ze względu na skuteczność działania tych związków w zwalczaniu chorób inwazyjnych u zwierząt stało- i zmiennoocieplnych, są one coraz szerzej stosowane w praktyce (17, 19, 21).

Istnieje przy tym duże zróżnicowanie wrażliwości na toksyczne działanie tych preparatów u poszczególnych gatunków zwierząt, zależne od wielu czynników środowiskowych, osobniczych, rodzaju preparatu, dawki i drogi wprowadzenia (3, 4, 14, 21, 23, 24). Zachodzi więc potrzeba stałego pogłębiania i poznania działania tych inhibitorów esterazy cholinowej na różne układy organizmu zwierzęcia. Najczęściej stosowana ocena aktywności AChE i ChE, oraz objawów klinicznych, chociaż informuje o niebezpieczeństwie grożącego zatrucia, nie wyjaśnia zmian narastających w poszczególnych układach (12, 14, 16, 20). Między innymi zmiany te znajdują swoje odbicie w układzie komórkowym i składnikach osoczowych krwi. Biorąc to pod uwagę, jak i ze względu na łatwość uzyskania dużego materiału bez szkody dla zdrowia zwierzęcia, niektórzy autorzy poddali ocenie wskaźniki hematologiczne u różnych gatunków zwierząt przy podawaniu preparatów fosforoorganicznych. Wykazali oni, że związki te w większym lub mniejszym stopniu, zmieniają skład komórkowy i osocza krwi (1, 11, 14, 23, 24).

W poprzedniej pracy wykazano, że naskórne stosowanie Neguvonu w dawkach leczniczych powoduje istotne zmiany w kształtowa-

niu się aktywności AChE i ChE krwinkowej oraz osoczowej. Obserwowano również mniej lub więcej nasilone objawy kliniczne zależnie od stosowanej dawki (12).

W oparciu o dane z piśmiennictwa i własne spostrzeżenia, postanowiono w tej pracy prześledzić, czy dawki lecznicze Neguvonu stosowane przy hypodermatozie wpływają na kształtowanie się składników komórkowych i osoczowych krwi.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono w okresie wiosennym na 30 krowach rasy nizinnej, czarno-białej, w wieku 3—4 lat, zacielenych (2—6 mies. ciąży). Krowy były dobrej kondycji, przebywały na ustalonym żywieniu pastwiskowo-oborowym. W tym okresie poszczególne krowy dawały przeciętnie od 12 do 15 l mleka.

Do przeprowadzania badań krwi podzielono losowo na trzy grupy: I grupa kontrolna obejmowała 10 krow, II grupa doświadczalna, złożona z 10 krow, otrzymywała jednorazowo 2% roztwór Neguvonu, w ilości 500 ml/szt. (około 20 mg/kg), a więc w dawce stosowanej na wiosnę przy zwalczaniu podskórnych larw gza, III grupa doświadczalna obejmowała również 10 krow, otrzymywała jednorazowo 4% roztwór Neguvonu, w ilości 500 ml/szt. (około 40 mg/kg), a więc w dawce stosowanej jesienią przy zwalczaniu wędrujących larw gza. Neguvon podawano zewnętrznie, przez wtarcie w skórę grzbietu zwierzęcia. Roztwór przygotowywano bezpośrednio przed zabiegiem.

W badaniach wzięto pod uwagę ocenę hematologiczną, oznaczając liczbę krwinek białych, czerwonych, hemoglobinę, obraz Schillinga, białko całkowite, frakcje globulinowe i albuminowe, oraz jony Na^+ , K^+ , Ca^{++} . Składniki komórkowe oznaczano według ogólnie przyjętych zasad, hemoglobinę metodą Drabkina, białko całkowite mikrometodą tanninową (15), frakcje białkowe elektroforetycznie, odczytując ilość densitometrem Zeissa, a jony przy pomocy fotometru płomieniowego.

Krew do oznaczeń pobierano z żyły jarzmowej, zawsze w tych samych godzinach. We wszystkich grupach krow określano najpierw wartości wyjściowe badanych wskaźników. Następne oznaczenia przeprowadzono po wtarcu preparatu, po 3, 6, i 24 godzinach oraz po 5 i 14 dniach w grupie II i III. Podobnie w tych samych okresach robiono oznaczenia w grupie I — kontrolnej. Wyniki poddano analizie statystycznej. Istotność różnic obliczano przy pomocy testu Studenta, w odniesieniu do wartości wyjściowych poszczególnych parametrów.

Wyniki

Znamienne zmiany były obliczane przy $t_0 >_{0,05}$. W tabelach zaznaczano je znakiem (+).

Grupa I kontrolna.

Obserwacje w tej grupie miały na celu stwierdzenie, czy czynniki środowiskowe nie powodują zmian w badanych parametrach. W całym okresie doświadczalnym wszystkie oceniane wskaźniki hematologiczne kształtowały się w granicach wyjściowych i wartościach podobnych jak w grupie II i III przed podaniem Neguvonu.

Grupa II i III — doświadczalna.

Zastosowanie u krów 2% Neguvonu powodowało istotny spadek tylko jonów Ca^{++} w 3 godz. od podania preparatu. W tym czasie nieznamienne zmniejszała się także liczba krwinek białych. Inne wskaźniki kształtowały się w wartościach wyjściowych.

podany pestycyd nie wywoływał zmian w białku całkowitym i jego frakcjach (tab. 1, 2).

Omówienie

Przed podaniem Neguvonu krowom grupy II i III, a w toku całego doświadczenia w grupie I — kontrolnej, wartości ocenianych składników krwi kształtowały się podobnie i pozostawały w granicach normy fizjologicznej (6, 7).

Naskórne stosowanie 2% Neguvonu, w ilości około 20 mg/kg, powodowało tylko krótkotrwały, istotny spadek jonów Ca^{++} w pierwszych godzinach po podaniu preparatu. Równocześnie nastąpił nieistotny, ale wyraźny spadek liczby krwinek białych z 11000 do 9700 w mm^3 . Inne oznaczane parametry kształtowały się w wartościach normalnych.

Z kolei podanie 4% Neguvonu, w ilości 40 mg/kg, wywoływało znacznie większe i dłużej

Tab. 1. Liczba krwinek białych, czerwonych i hemoglobiny przed i po podaniu Neguvonu

Czas pobierania krwi przed i po podaniu Neguvonu	Grupa II Neguvon 2%			Grupa III Neguvon 4%		
	krwinki białe tys/ mm^3	krwinki czerwone mln/ mm^3	Hb g%	krwinki białe tys/ mm^3	krwinki czerwone mln/ mm^3	Hb g%
Przed podaniem	11,4	5,92	11,9	10,1	5,56	11,34
Po 3 godz.	10,4	5,84	11,8	10,5	5,23	11,63
Po 6 godz.	9,7	5,83	11,3	11,2	5,31	11,35
Po 24 godz.	9,7	6,30	11,9	8,2 *)	4,95 *)	10,70
Po 5 dniach	9,7	6,14	11,1	10,5	5,39	11,80
Po 14 dniach	11,2	6,24	11,8	10,7	5,58	11,65

Objaśnienie: *) zmiany statystycznie znamienne

Zastosowanie 4% Neguvonu, powodowało po 24 godz. istotny spadek liczby krwinek białych i czerwonych oraz nieistotne zmniejszenie się hemoglobiny. W tym czasie wzrosła procentowa ilość granulocytów kwasochłonnych z 6% do 11%, a ich podwyższona liczba utrzymywała się przez 5 dni. Po 24 godz., przez okres 5 dni, istotnie zmniejszała się ilość Na^+ , a nieistotnie podwyższała się ilość K^+ . Natomiast istotny spadek ilości Ca^{++} zaznaczył się już po 3 godz. od podania Neguvonu i utrzymywał się przez okres 5 dni. W tej grupie zwierząt,

trwające przesunięcia, w ocenianych składnikach krwi. Przy tym podobnie jak po podaniu 2% preparatu najwcześniej zaznaczył się istotny spadek ilości jonów Ca^{++} . Spadek ten utrzymywał się przez okres 5 dni. Nieco później, bo po 24 godz., obniżała się znamienne ilość jonów Na^+ , a wzrosła chociaż nieistotnie ilość jonów K^+ . W tym samym czasie miał miejsce również istotny, krótkotrwały spadek liczby krwinek białych oraz krwinek czerwonych i hemoglobiny. Równocześnie nastąpił także procentowy wzrost granulocytów kwasochłon-

Tab. 2. Ilość jonów Na^+ , K^+ , Ca^{++} w mg% przed i po podaniu Neguvonu

Czas pobierania krwi przed i po podaniu Neguvonu	Grupa II Neguvon 2%			Grupa III Neguvon 4%		
	Na	K	Ca	Na	K	Ca
Przed podaniem	335,4	26,9	8,72	342,8	24,78	9,98
Po 3 godz.	366,6	24,4	8,25 *)	337,4	23,94	8,52 *)
Po 6 godz.	361,6	26,5	8,59	348,2	24,09	8,42 *)
Po 24 godz.	364,0	25,7	8,29	330,3 *)	25,78	8,55 *)
Po 5 dniach	357,8	26,5	9,10	326,0 *)	24,94	8,45 *)
Po 14 dniach	354,8	27,1	8,96	342,2	23,78	9,83

Objaśnienie: *) zmiany statystycznie znamienne

nych a zwiększona ich ilość utrzymywała się przez okres 5 dni. Jednorazowe podanie 4% Neguvonu nie powodowało zmian ilościowych w białkach krwi.

Należy sądzić, że charakter i wielkość zmian w układzie jonów i składnikach komórkowych krwi w grupie II i III wiąże się ściśle z większym lub mniejszym przedłużeniem czasu i efektu działania acetylocholino, a co zależało od wielkości spadku aktywności esterazy cholinowej (3, 10, 22). Z kolei wartość tego spadku zależała od ilości podanego inhibitora fosforoorganicznego. Wykazano bowiem poprzednio, że podanie 2% Neguvonu powodowało tylko krótkotrwały spadek ChE o około 20%, natomiast 4% Neguvon spadek ten pogłębiał do 50%, utrzymując stan obniżonej aktywności przez kilka dni (12).

Przedłużony czas działania acetylocholino zwiększał również aktywność motoryczną mięśni, co musiało znaleźć swoje odbicie w przesunięciu jonów Na^+ i K^+ , związanych z przeniesieniem pobudzenia i jonów Ca^{++} , niezbędnych w aktywacji kurczliwych białek (3).

Stwierdzony spadek liczby krwinek białych, czerwonych i hemoglobiny a wzrost procentowy granulocytów kwasochłonnych, potwierdził obserwacje niektórych autorów nad działaniem preparatów fosforoorganicznych na składniki komórkowe krwi u bydła (19).

Inni autorzy (19, 23, 24, 25), badając działanie związków fosforoorganicznych na składniki osocze, zwrócili uwagę na przesunięcia w ilości białek całkowitych i poszczególnych frakcji, nie znalazło to jednak potwierdzenia przy stosowaniu Neguvonu u bydła. Z kolei wykazany wzrost ilości jonów Ca^{++} i K^+ , po zastosowaniu Chlorofosu u cieląt (1), został potwierdzony tylko w odniesieniu do jonów K^+ , natomiast odwrotnie ilość Ca^{++} ulegała obniżeniu, zarówno po zastosowaniu 2% jak i 4% Neguvonu.

Dane z piśmiennictwa dotyczące składników komórkowych i osoczowych krwi są jednak dość rozbieżne, co jest niewątpliwie uwarunkowane wieloma czynnikami, takimi jak klimat, środowisko, pora roku, rodzaj i gatunek zwierząt, ich wiek, czy też użyty preparat fosforoorganiczny (3, 14, 20). Zagadnienia te wskazują na potrzebę dalszych badań w tym kierunku.

Natomiast fakt, że po podaniu Neguvonu szybko następuje spadek ilości jonów Ca^{++} , a wielkość tego spadku zależy od ilości podanego pestycydu, może być wykorzystany jako jeden ze wskaźników przy ocenie niebezpieczeństwa zatruć pestycydami z grupy pestycydów fosforoorganicznych.

Wniosek

1. Neguvon w roztworze 2%, stosowany jednorazowo, naskórnice u bydła, w ilości 20 mg/kg, powodował istotny spadek ilości jonów

Ca^{++} o 5,4%, w pierwszych godzinach po podaniu preparatu.

2. Neguvon w roztworze 4%, stosowany jednorazowo naskórnice u bydła w ilości 40 mg/kg, powodował istotny spadek jonów Ca^{++} o 14,6% a jonów Na^+ o 4%, przy równoczesnym wzroście ilości jonów K^+ o 4%. Zmiany w układzie jonów utrzymywały się przez 5 dni od podania preparatu.

3. Neguvon w roztworze 4%, w pierwszej dobie po podaniu powodował spadek liczby krwinek białych o 20%, krwinek czerwonych i hemoglobiny o 10%, oraz wzrost procentowy granulocytów kwasochłonnych z 6,4% do 10,6%, który utrzymywał się przez okres 5 dni.

Piśmiennictwo

1. Beliojew W. J.: Veterinarija 45, 58, 1969.
2. Bubiń Z.: Medycyna Wet. 27, 611, 1971.
3. Faff J.: Acta Physiol. Polonica 23, 685, 1972.
4. Furmaga S., Pinkiewicz E., Rubaj B., Uchacz S.: Medycyna Wet. 27, 542, 1971.
5. Fürst K.: Wien. tierärztl. Mschr. 52, 919, 1965.
6. Grzebula S., Madej E.: Medycyna Wet. 22, 175, 1966.
7. Irfan M.: Res. vet. Sci. 8, 137, 1967.
8. Kingsbury P. A., Curr C.: Aust. vet. J. 43, 166, 1967.
9. Kogan J. S., Sasimowicz L. M., Woronina L. J.: Gig. Sanit. 35, 36, 1970.
10. Kossakowski S., Kujawski J.: Medycyna Wet. 21, 513, 1965.
11. Kossakowski S., Patyra S.: III Sympozjum Toksykologiczne, Łódź, 1972.
12. Kossakowski S., Patyra S., Stryczek J.: Medycyna Wet. 29, 524, 1973.
13. Krause M.: Acta Physiol. Pol. Supl. 5, 23, 925, 1972.
14. Mc Corty R. T., Haufler M., Osborn M. G., Mc Beth C. A.: Amer. J. vet. Res. 30, 1149, 1969.
15. Mejsbaum Katzenellenbogen W.: Kurs praktyczny biochemii. PWN, 1936.
16. Melichar B., Hais K.: Ved Prace Vyzk. Ustavu Vet. Lek. 3, 91, 1964.
17. Patyk S.: Medycyna Wet. 22, 91, 1966.
18. Potoz D. D., Poleckij W. D., Sokolow W. P.: Veterinarija 42, 70, 1956.
19. Prost M., Studnicka M.: Medycyna Wet. 22, 321, 1966.
20. Schlinke J. C., Palmer J. S., Hunt W.: Amer. J. vet. Res. 30, 1705, 1969.
21. Studnicka M.: Pol. Arch. Wet. 13, 107, 1970.
22. Tepernour A., Perrot L.: Rev. Med. Vet. 26, 262, 1963.
23. Vartic N., Giurgea-Jacob R., Ivascu V.: Arch. exper. Vet. med. 26, 297, 1972.
24. Vartic N., Giurgea-Jacob R., Suteu E.: Arch. exper. Vet. med. 25, 831, 1971.
25. Vartic N., Suteu E., Girgea-Jacob R.: Arch. exper. Vet. med. 26, 369, 1972.

Adres autora: doc. dr hab. Stanisław Patyra, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

Патыра С., Коссаковский С., Стырчек Я. — Гематологические исследования крупного рогатого скота низменной черной породы после кожного применения Негувона.

Гематологическую оценку 30 коров провели весной после кожного применения 2 и 4% Негувона в дозировке применяемой при лечении гиподерматоза. Определяли содержание белых и красных кровяных телец, полный белок, глобулиновые и альбуминовые фракции а также ионы Na^+ , K^+ и Ca^{++} в крови из яремной вены. Сначала определяли исходные параметры а потом в 3, 6 и 24 часа, а также в 5 и 14 суток после применения препарата.

Установили, что Негувон 2% при кожном однократном применении в количестве 20 мг/кг в первые часы после кураци вызывал существенное понижение только количества ионов Ca^{++} на 5,4%; другие параметры оставались в нормальных границах. Негувон в 4% растворе после применения однократно в дозировке 40 мг/кг вызывал существенное понижение ионов Ca^{++} на 14,6% и ионов Na^+ на 4% при повышении в том же время количество ионов K^+ на 4%. Эти изменения сохранялись 5 су-

ток. Кроме того в первые сутки после применения 4% Негувона наблюдали существенное понижение количества белых кровяных телец на 20%, эритроцитов и гемоглобина на 10% и рост процента эозинофильных гранулоцитов из 6,4 до 10,6%. Этот уровень сохранялся 5 суток. Однократное применение Негувона не вызвало количественных изменений в белках крови.

Patyra S., Kossakowski S., Stryczek J. — **Haematological examinations of the low-land black and white breed of cattle after the skin application of Neguvone.**

There were performed haematological studies in 30 cows after single skin treatment with 2.0% or 4.0% Neguvone at the doses applied in the therapy of hypodermatitis. The studies were done in Spring. There was determined the number of red and white blood cells, haemoglobin, total protein, albumine and globuline fractions, Na^+ , K^+ and Ca^{++} in the blood ob-

tained from the jugular vein. The determinations were done before and 3, 6, 24 hours and 5, 14 days after the drug application. In cattle 2.0% Neguvone applied once on the skin at the dose of 20.0 mg/kg of body weight, decreased significantly the number of Ca^{++} over 5.4% in the first hours after its application. The other parameters under study were not changed. 4.0% Neguvone applied one on the skin at the dose of 40 mg/kg of body weight decreased the number of Ca^{++} over 14.6%, Na^+ over 4.0% and increased K^+ over 4.0%. The changes were observed for 5 days after the drug application. A 4.0% solution of Neguvone decreased significantly in the first 24 hours following its application the number of white blood cells over 20.0%, red blood cells and haemoglobin over 10.0%, and increased the number of acidiphilic granulocytes from 6.4% to 10.6%. The observed increase lasted for 5 days. Single application of Neguvone did not cause quantitative changes in the blood proteins.

JERZY SOBCZYK, ANTONI SCHOLLENBERGER

Okres karencji po stosowaniu preparatów Neovitan i Neotarchocin

Z Instytutu Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynarii AR w Warszawie

Obecnie powszechnie uznanym jest pogląd, że spożywanie przez ludzi pokarmów zawierających antybiotyki jest niebezpieczne dla ich zdrowia (9, 10, 11). Zagrożenie zdrowia ludzi spożywających takie pokarmy może być bezpośrednie przez wywoływanie uczuleń lub pośrednie przez oddziaływanie na florę bakteryjną i uczynienie jej oporną na spożyte antybiotyki. Podkreśla się ponadto możliwość przenoszenia antybiotykooporności z bakterii niechorobotwórczych zwierząt na drobnoustroje chorobotwórcze dla ludzi (6).

Wprowadzenie do lecznictwa weterynaryjnego nowego antybiotyku pociąga więc za sobą konieczność określenia jego karencji. Pod terminem tym rozumie się okres czasu po podaniu antybiotyku, po upływie którego nie można go wykazać przyjętymi metodami w tkankach spożywanych przez ludzi. Przyjmuje się, że neomycyna jest wchłaniana tylko w niewielkich ilościach z przewodu pokarmowego, ale dane te odnoszą się zwykle do zwierząt laboratoryjnych i człowieka (7).

Zwierzęta gospodarskie należące do tak różnych gatunków jak przeżuwacze, wszystkożerne i ptaki różnią się znacznie sposobem trawienia i właściwościami wchłaniania, co oczywiście może rzutować na stopień absorpcji podanych doustnie leków. Celem naszej pracy było ustalenie stopnia wchłaniania i szybkości usuwania neomycyny podawanej w preparacie Neovitan różnym gatunkom zwierząt. Ponadto

starano się zbadać, czy jednoczesne podanie neomycyny i oksytetracykliny w preparacie Neotarchocin wpływa modyfikująco na wchłanianie tych antybiotyków z przewodu pokarmowego.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na cielętach rasy nizinnej czarno-białej o wadze około 50 kg, prosiąt rasy wielkiej białej angielskiej o wadze około 20 kg i kurach rasy sussex o wadze ok. 2 kg. W czasie trwania doświadczenia zwierzęta były żywione przemysłowymi mieszankami paszowymi, nie zawierającymi antybiotyków.

Przed przystąpieniem do doświadczenia zwierzęta klinicznie nie wykazywały objawów chorobowych. Preparaty Neovitan lub Neotarchocin produkcji Tarchomińskich Zakładów Farmaceutycznych Polfa podawano indywidualnie. Neotarchocin przed podaniem rozpuszczano w niewielkiej ilości wody. Oznaczenia poziomu antybiotyków za życia zwierząt wykonywano w surowicy, kale, moczu i pobranych operacyjnie wyinkach mięśni. Po uboju zwierząt doświadczalnych oznaczenia wykonywano również w tkankach i narządach wewnętrznych. Do oznaczenia ilościowego neomycyny zastosowano metodę Pileta i Toma (8), zaś oksytetracyklinę oznaczano według metody opisanej przez Groveá i Randallá (2).

Przy pomocy użytych przez nas metod można wykazać następujące minimalne stężenia antybiotyków: neomycyna u cieląt i prosiąt: w surowicy 0,50 mcg/ml, w mięśni 1,25 mcg/g, w kale 2,500 mcg/g, w moczu 1,25 mcg/ml; u kur: w surowicy 1,25 mcg/ml, w mięśni 1,25 mcg/g w wątrobie 2,50 mcg/g, w treści jelit 0,50 mcg/ml. Dla oksytetracykliny średnia czułość metody we wszystkich przypadkach wynosiła 0,05 mcg/g.