

ALOJZY RAMISZ, STANISŁAW NIEDŹWIADEK * WALTER SAMBETH **, ALEKSANDRA BALICKA- LAURANS

Badania nad przydatnością salinomycyny (Hoechst) w profilaktyce kokcydiozy u królików w warunkach fermy towarowej

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul Brodowicza 13a, 31-518 Kraków

* Zakład Hodowli i Chowu Zwierząt Futerkowych, Instytut Zootechniki, 32-083 Balice

** Hoechst Aktiengesellschaft, Landwirtschaftliche Entwicklungsabteilung, Hessendamm 1-3, 6234 Hattersheim, RFN

Summary

Studies on the usefulness of salinomycin (Hoechst) in prophylactic of coccidiosis in a large scale farm of rabbits

The observations were done on 800 rabbits, White New Zealand, in two experimental groups consisting of 400 animals each. Salinomycin as a food additive was used during fattening (35—90 days of life) at a dose of 20 ppm. Coprological examinations by the method of Willis-Schlaaf and McMaster were done three times: at day 35, 63 and 89, 90 of life. The weight of rabbits was determined before and after the experiment. Consumption of food was also calculated. At day 90 in each group weight of liver in 120 rabbits was determined. Totally 9 species of *Eimeria* were found including 8 species parasitizing in the alimentary canal and one in the liver. Salinomycin at a dose of 20 ppm appeared to be very effective coccidiostatic protecting fully rabbits against coccidiosis. Using salinomycin a significant economical effects were noted: increase of body weight by 226 g/animal, decrease of food intake by 0,3 kg/animal, decrease of death rate by 5,18% comparing to a control group.

Pierwotniaki z rodzaju *Eimeria* stanowią jeden z głównych czynników patogennych w wielkotowarowych fermach królików. Są one przyczyną poważnych strat wynikających z jednej strony z wysokiej śmiertelności, z drugiej zaś obniżenia przyrostów masy ciała królików. Stąd w wielu krajach w oparciu o różnego rodzaju kokcydiostatyki stosuje się w fermach towarowych programy profilaktyczne przeciwko kokcydiozie. We Francji (1, 8) oraz Belgii (12, 13, 17) duże uznanie znalazła Robenidyna, która jako dodatek do paszy wykazuje silnie działanie kokcydiostatyczne. W Stanach Zjednoczonych (4) stosowano Amprol i Monensin, na Węgrzech (21) Rofenon. Ponadto prowadzono badania nad przydatnością Clopidolu (17) oraz Narasinu (14) w profilaktyce kokcydiozy królików.

W ostatnich latach coraz więcej uwagi poświęca się salinomycynie, która należy do grupy antybiotyków jonoforowych. Szeroko zakrojone badania prowadzone w RFN (6, 18, 19), a ponadto w Austrii (5), Belgii (15) i na Węgrzech (20) wykazały dużą przydatność tego preparatu w profilaktyce kokcydiozy królików.

Na terenie naszego kraju od wielu lat stosowany jest Vetocox, którego aktywną substancją jest metronidazol. Badania przeprowadzone na południu Polski (10) wykazały jednak niską skuteczność tego preparatu.

Celem badań była ocena przydatności salinomycyny w profilaktyce kokcydiozy królików utrzymywanych w warunkach fermy towarowej.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w towarowej fermie królików Zootechnicznego Zakładu Doświadczalnego Instytutu Zootechniki w Chorzelowie, w której stado podstawowe liczyło około 3200 samic. Materiał doświadczalny stanowiło 800 królików rasy białej nowozelandzkiej. Badania przeprowadzono w okresie tuczu młodych królików w wieku od 35 dni (okres odsadzania od matek) do 90 dni. Zwierzęta odchowano w klatkach z siatki metalowej, w budynku zamkniętym.

Króliki doświadczalne podzielono na dwie grupy po 400 sztuk (200 samic i 200 samców) w każdej. Zwierzęta grupy I żywiono mieszanką z dodatkiem salinomycyny w dawce 20 ppm. W grupie drugiej kontrolnej — króliki otrzymywały mieszankę granulowaną bez kokcydiostatyku. Stosowano żywienie do woli przy stałym dostępie wody pitnej (poidła automatyczne). Ocena zastosowania salinomycyny na efekty produkcyjne przeprowadzono w oparciu o następujące parametry: przyrosty masy ciała z uwzględnieniem przyrostów dziennych, spożycie paszy na 1 kg masy ciała, które rejestrowano przez ważenie podanej i nie zjedzonej paszy oraz liczbę padnięć.

Króliki ważono przed rozpoczęciem badań (w wieku 35 dni) i po ich zakończeniu (90 dni). Kał na obecność oocyst badano trzykrotnie — przy rozpoczęciu doświadczenia, po 28 dniach, tj. w wieku 63 dni i po zakończeniu tuczu — w wieku 89—90 dni. Badanie kału wykonano przy użyciu metody Willis-Schlaafa i McMastera. Z każdej grupy pobierano każdorazowo 100 prób kału. W 90 dni ubijano po 120 królików z grupy w celu kontroli masy wątroby. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Istotność różnic sprawdzano poprzez analizę wariancji i wielokrotnego testu rozstępu.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań wskazują na wysoką ekstensywność i intensywność zarażenia kokcydiami królików w fermie towarowej (tab. 1). Ogółem stwierdzono występowanie 9 gatunków pierwotniaków z rodzaju *Eimeria*, w tym 8 jelitowych oraz jeden wątrobowy. Dominującymi były 3 gatunki: *E. perforans*, *E. media* i *E. magna*, których ekstensywność wahała się średnio od 70 do 95%. Intensywność inwazji tymi trzema gatunkami w 35 dniu życia królików wynosiła 11 000 do 14 500 oocyst w 1 g kału. Ekstensywność zarażenia pozostałymi 5 gatunkami bytującymi w przewodzie pokarmowym wahała się od 7,5% do 26%, a intensywność od 150 do 2000 oocyst w 1 g kału. Stosunkowo rzadko stwierdzano *E. stiedaii*, którą wykazano tylko u 16% badanych królików, przy średniej intensywności wynoszącej 3500 oocyst w 1 g kału. Należy podkreślić, że u wszystkich królików objętych badaniami wykazano obecność oocyst w kale. O szerokim rozprzestrzenianiu kokcydiozy u królików i to zarówno w fermach towarowych, jak rów-

Tab. 1. Liczba oocyst różnych gatunków *Eimeria* w 1 g kału w różnym wieku królików

Gatunek <i>Eimeria</i>	Wiek królików (dni)					
	35		63		90	
	Grupy żywieniowe *					
	I	II	I	II	I	II
<i>E. perforans</i>	10500	11000	150	27500		56000
<i>E. media</i>	14500	14000	110	39600	240	76600
<i>E. irresidua</i>	600	1400		2100	100	5200
<i>E. magna</i>	11500	12000	100	26500	150	54200
<i>E. intestinalis</i>	500	450		1500		2500
<i>E. flavescens</i>	170	100		400		800
<i>E. piriformis</i>	140	150		350		1300
<i>E. coecicola</i>	2760	2800		4000	100	6200
<i>E. stiedaii</i>	3500	3500		5500		7200

Objaśnienia: * I — salinomycyna, II — kontrolna.

niez doświadczalnych donoszą autorzy z Włoch (3), Węgier (20), RFN (9), Francji (2, 8) i Belgii (16). Stwierdzone w badaniach własnych występowanie u królików 9 gatunków *Eimeria* znajduje potwierdzenie w badaniach Couderta (2), Licois i wsp. (8), Vargi (20) oraz Sambetha (18).

Wpływ salinomycyny na przebieg kokcydiozy określano po 28 i 55 dniach stosowania preparatu, tj. u 63 i 90-dniowych królików (tab. 1). U królików 63-dniowych, w grupie kontrolnej stwierdzono znaczne nasilenie inwazji, przy czym średnia intensywność zarażenia 3 najczęściej występujących gatunków kokcydii wynosiła 26,5—38,6 tys. oocyst w 1 g kału. Oocysty pozostałych gatunków stwierdzano w liczbie od 350 do 4000, a *E. stiedai* — 5500 oocyst w 1 g kału. Średnio w grupie kontrolnej stwierdzono 106 450 oocyst w 1 g kału (tab. 2). W grupie doświadczalnej po 28 dniach stosowania salinomycyny stwierdzono nieliczne oocysty 3 gatunków, tj. *E. media*, *E. magna* i *E. coecicola*, którymi ogólna intensywność zarażenia wynosiła 360 oocyst w 1 g kału.

W wieku 90 dni u królików grupy kontrolnej nastąpił dalszy, prawie dwukrotny wzrost intensywności zarażenia, przy czym w 1 g kału stwierdzano średnio 210 000 oocyst. Natomiast w grupie doświadczalnej po 55 dniach stosowania salinomycyny intensywność inwazji była nieznaczna, a w kale stwierdzono tylko oocysty 4 gatunków — *E. media*, *E. irresidua*, *E. magna* oraz *E. coecicola*. Ogólna intensywność zarażenia w tej grupie wynosiła 590 oocyst w 1 g kału. Godny podkreślenia jest fakt, że zarówno po 28 dniach, jak również po 90 dniach stosowania salinomycyny nie stwierdzono w kale oocyst *E. stiedai*.

W badaniach własnych zwrócono uwagę na wysoką skuteczność salinomycyny przeciwko gatunkom *Eimeria* występującym u królików i to zarówno w przewodzie pokarmowym, jak i w wątrobie. Otrzymane wyniki znajdują potwierdzenie w badaniach innych autorów, prowadzących doświadczenia w warunkach fermowych (5, 16, 18, 19, 20, 21), jak również na królikach eksperymentalnie zarażonych różnymi gatunkami kokcydii (11, 15, 18).

Szereg autorów (6, 13, 15) potwierdza również dużą przydatność salinomycyny w profilaktyce kokcydiozy wątrobowej, wywołanej przez *E. stiedai*. Z zagadnieniem tym wiąże się bezpośredni wpływ inwazji *E. stiedai* na masę wątroby (tab. 2). W badaniach własnych masa wątroby królików grupy kontrolnej była o 20 g wyższa aniżeli w grupie doświadczalnej ($p \leq 0,01$). Na wyższą masę wątroby u królików zarażonych *E. stiedai* zwracają również uwagę Coudert (2), Lämmli i wsp. (6), Sambeth (18) oraz Peeters i wsp. (15). Z obserwacji własnych oraz innych autorów wynika, że większa masa wątroby u królików zarażonych kokcydiami spowodowana jest zmianami w tkance wątrobowej w wyniku inwazji kokcydii. W 90 dniu królik żywione granulatem z dodatkiem salinomycyny osiągnęły masę ciała w wysokości 2432 g, a w grupie kontrolnej — 2206 g (tab. 3). Różnica między średnimi obu grup wynosiła 226 g i okazała się statystycznie istotna ($p \leq 0,01$). Z powyższego wynika, że dzienne przyrosty w grupie kontrolnej były o 4,1 g niższe w stosunku do grupy doświadczalnej ($p \leq 0,01$). Uzyskane wyniki posiadają potwierdzenie w badaniach innych autorów (7, 13, 20), a szczególnie w obserwacjach Okermana i wsp. (11).

Zużycie paszy na 1 kg przyrostu w grupie doświadczalnej wynosiło 3,45 kg i było o 0,30 kg mniejsze w stosunku do grupy kontrolnej (tab. 4). Podobne rezultaty otrzymali Lämmli i wsp. (6), Kutzer i wsp. (5), Lebas i wsp. (7), Vörös i wsp. (21) oraz Okerman i wsp. (11). Jedynie Peeters i wsp. (12, 13) nie potwierdzili w swoich badaniach korzystnego wpływu dodatku salinomycyny na zużycie paszy

Tab. 2. Intensywność zarażenia pierwotniakami z rodzaju *Eimeria* — ogólna liczba oocyst w 1 g kału oraz średnia masa wątroby

Wiek królików (dni) i masa wątroby	Liczba oocyst w 1 g kału	
	Grupy	
	I — salinomycyna	II — kontrolna
35	44170	45400
63	360	106450
90	590	210000
masa wątroby (g)	89,3 **	103,8 **

Objaśnienie: ** — różnica pomiędzy średnimi wysokoistotna $p \leq 0,01$.

Tab. 3. Wpływ salinomycyny w dawce 20 ppm na masę ciała młodych królików

Wiek (dni)	Grupy			
	I — salinomycyna		II — kontrolna	
	\bar{x}	V %	\bar{x}	V %
35	796,2	12,85	792,3	12,12
90	2432,3 **	12,02	2206,5 **	12,64

Objaśnienie: ** jak w tab. 2, przy $p \leq 0,01$.

Tab. 4. Przyrosty masy ciała, zużycie paszy na 1 kg przyrostu oraz odsetek padnięć w okresie tuczu królików

Wskaźniki produkcyjne	Grupy			
	I — salinomycyna		II — kontrolna	
	\bar{x}	V %	\bar{x}	V %
Przyrost masy ciała za okres tuczu (g)	1637 **	12,03	1414 **	13,21
Średnie dzienne przyrosty masy ciała (g)	29,8 **	11,32	25,7 **	11,86
Zużycie paszy na 1 kg przyrostu (kg)	3,45 *	11,45	3,75 *	12,08
Padnięcia (%)	16,67 *	—	21,83 *	—

Objaśnienia: * średnie różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$, ** przy $p \leq 0,01$.

przez króliki. W okresie tuczu tj. od 35 do 90 dnia życia królików intensywność zarażenia wzrosła ponad 4-krotnie z 45 tys. do 210 tys. oocyst w 1 g kału (tab. 2). Przy takim nasileniu inwazji kokcydioza może być przyczyną strat w odchowie królików. Zmniejszone o 5,18% padnięcia w grupie żywionej paszą z dodatkiem salinomycyny (tab. 4) w stosunku do grupy kontrolnej ($p \leq 0,05$) posiadają bezpośredni związek z bardzo znacznym ograniczeniem inwazji kokcydii w grupie doświadczalnej. W grupie tej pod koniec tuczu stwierdzono tylko nieliczne oocysty (590) w 1 g kału (tab. 2).

Wnioski

1. Kokcydioza może stanowić poważny problem patologiczny w towarowych fermach królików oraz może wywierać istotny wpływ na efekty produkcyjne stada.
2. Salinomycyna firmy Hoechst jako dodatek do paszy w dawce 20 ppm jest bardzo skutecznym kokcydiostatykiem i w pełni zabezpiecza króliki przed kokcydiozą jelitową i wątrobową.

Piśmiennictwo

1. Coudert P.: Proc. Intern. Symp. on Coccidia, Praga 1979, s. 159.
2. Coudert P., Licois D., Provot F.: Coccidiosis et diarrhees du lapin à l'engraissement. Inst. Nation. Rech. Agronom., Tours — Nouzilly, 1979.
3. Francalancia G., Manfredini L.: Vet. Ital. 18, 304, 1937.

4. Fitzgerald P. R.: J. Protozool. 19, 332, 1972.
5. Kutzer E., Leibetseder J., Frey H., Böhm J., Prets H.: Wien. tierärztl. Mschr. 68, 57, 1981.
6. Lämmier G., Hein B.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 93, 449, 1980.
7. Lebas F., Coudert P., Rouvier R., Rochambeau H.: The rabbit husbandry, health and production. FAO, Rzym, 1986.
8. Licois D., Coudert P.: Recl. Méd. vét. 156, 391, 1980.
9. Löfner H. Ch.: Prakt. Tierarzt 56, 168, 1975.
10. Niedźwiadek S., Ramisz A., Bielański P., Jabłoński K., Bałicka-Laurans A.: Roczn. Nauk zoot. (w druku).
11. Okerman F., Moermans R. J.: Rev. agric. 33, 151, 1980.
12. Peeters J. E., Halen P., Meulemans G.: Br. vet. J. 136, 349, 1979.
13. Peeters J. E., Halen P.: Ann. Rech. vét. 11, 49, 1980.
14. Peeters J. E., Geeroms R., Antoine O., Mammerickx M., Halen P.: Parasitology 83, 293, 1981.
15. Peeters J. E., Geeroms R., Molderez J., Halen P.: Zentbl. VetMed. 29, 207, 1982.
16. Peeters J. E.: Cuni. Sci. 1, 31, 1983.
17. Peeters J. E., Geeroms R., Varewyck H., Bouquet W., Lampo P., Halen P.: Res. vet. Sci. 35, 211, 1983.
18. Sambeth W., Raether W.: Zentbl. VetMed. 27, 446, 1980.
19. Sambeth W.: Proc. II World Rabbit Congress, Barcelona 1980, s. 293.
20. Varga I.: Vet. Parasitol. 11, 69, 1982.
21. Vörös G., Gippert T., Szabo S.: Proc. III World Rabbit Congress, Rzym 1984, s. 430.

Adres autora: prof. dr hab. Alojzy Ramisz, ul. Brodowicza 13a, 31-518 Kraków

PATOLOGIA I TERAPIA

ZBIGNIEW ROLIŃSKI, PIOTR WLAŻ

Stan i perspektywy chemioterapii. II. Lekooporność

Zakład Farmakologii Instytutu Nauk Fizjologicznych
Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Rozwijanie się lekooporności

Naturalna oporność dotyczy wszystkich szczepów drobnoustrojów jednego gatunku, jest cechą stałą i może być stosowana jako cecha taksonomiczna (np. oporność bakterii Gram-ujemnych na makrolidy). Bakterie cechujące się brakiem oporności wobec określonego chemioterapeutyku, określane są jako wrażliwe. Ich wykaz stanowi zakres działania danego antybiotyku.

Mechanizm powstawaniaporności drobnoustrojów na chemioterapeutyki można sprowadzić do trzech głównych typów:

1. **OPORNOŚĆ NABYTA** jest zjawiskiem przypadkowym, zachodzącym zazwyczaj w populacji drobnoustrojów wrażliwych. W obecności chemioterapeutyku, bakterie wrażliwe są eliminowane i stopniowo zastępowane przez potomstwo odmiannopornych.

2. **MUTACJA** jest zjawiskiem stosunkowo rzadkim. Częstotliwość jej występowania w populacji bakteryjnej wynosi 10^{-6} do 10^{-9} . Przyjmuje się, że maksymalnie tylko 10% szczepów opornych rozwija się w wyniku mutacji chromosomalnych (8).

Mutacje ze względu na spontaniczność występowania nie są uwarunkowane obecnością antybiotyków, które stanowią tylko czynnik selekcyjny zmutowane drobnoustroje. Jak każdy marker chromosomalny, oporność na drodze mutacji może być przekazywana z bakterii dawcy na bakterię biorcą za pomocą trzech rodzajów przenoszenia informacji genetycznej: transformacji (pobieranie materiału genetycznego występującego w podłożu wzrostowym), koniugacji (bezpośrednie przekazywanie elementu DNA od dawcy do biorcy) i transdukcji (przenoszenie materiału genetycznego poprzez bakteriofaga).

Mutanty wykazują zróżnicowany stopień oporności, od niskich do bardzo wysokich stężeń antybiotyku. Jednak z reguły każdy mutant odznacza się występowaniem wad metabolicznych lub strukturalnych i bakteria zmutowana ulega negatywnej selekcji w środowisku przy nieobecności antybiotyku.

Szybkość powstawania mutacji uwarunkowana jest rodzajem infekcji. Rozwija się bardzo szybko przy infekcjach dróg moczowych (kilkanaście godzin), wolniejsza w przypadku zakażeń posocznicy i płucnych (kilkadziesiąt dni). Dlatego też z klinicznego punktu widzenia oporność w wyniku mutacji chromosomalnej objawia się korzystnym działaniem początkowym określonego antybiotyku, po którym następuje

załamanie skuteczności. Praktyczne znaczenie tej oporności jest małe (od 2—10% badanych przypadków), zwłaszcza, że stosowanie połączeń antybiotyków o różnych mechanizmach działania zmniejsza ryzyko wystąpienia oporności chromosomalnej (5).

3. **PLAZMIDY**. Plazmidy występujące w cytoplazmie bakterii składają się z cząsteczek podwójnego, pozachromosomalnego łańcucha DNA w strukturze zbliżonej do chromosomu. Odgrywają zasadniczą rolę w przenoszeniu oporności. Zbudowane są z dwu części tj. czynnika przenoszącego oporność (RTF) i z genów oporności. Plazmidy mogą zawierać od 50—500 genów, które mogą przenosić oporność na różne leki przeciwbakteryjne (zazwyczaj 3—6 leków), a maksymalnie stwierdzono przenoszenie oporności na 9 chemioterapeutyków (2). Podobnie jak w przypadku mutacji chromosomalnych przenoszenie plazmidów z jednej komórki bakteryjnej na drugą może zachodzić na drodze transformacji, transdukcji i koniugacji. Największe znaczenie w przenoszeniu oporności ma proces koniugacji. Dzięki temu plazmidy mogą się przemieszczać i utrzymywać u bardzo licznych gatunków bakterii nie związanych ściśle ze sobą (tab. 3). To tłumaczy epidemiologiczne rozpowszechnianie niektórych drobnoustrojów wielorakoopornych w środowiskach selekcyjnych, tj. w szpitalach, w przypadku szczepów ludzkich oraz w środowiskach ferm wielkostadnych.

W tab. 1 i 2 zestawiono antybiotyki według typu występowania oporności bakterii.

Oporność drobnoustrojów na chemioterapeutyki może mieć różne tło biochemiczne: a) wytwarzanie enzymów rozkładających antybiotyki (obejmuje to penicyliny, cefalosporyny, aminoglikozydy i chloramfenikol), b) zmiana miejsc receptorowych w komórce bakteryjnej (penicyliny półsyntetyczne, makrolidy, linkomycyna i streptomycyna), c) osłabienie powinowactwa enzymów bakteryjnych do chemioterapeutyków (np. w przypadku trimetoprimu), d) indukcja ułatwionego transportu błonowego dla usunięcia leku z komórki (np. tetracykliny), e) zmiany w transporcie błonowym, ograniczające wnikanie leków do komórki (np. aminoglikozydy), f) wzrost wytwarzania PABA przez drobnoustroje (np. sulfonamidy).

Aktualny stan oporności bakterii patogennych na leki przeciwbakteryjne

Od 1989 r., tj. od czasu raportu Komisji Swanna (1969) nastąpił znaczny wzrost liczby drobnoustrojów patogennych