

rzy obserwowali sinicę przy występowaniu sulfonamidów w krwinkach.

W naszych doświadczeniach przy podawaniu dawek maksymalnych sulfatiazolu i sulfametazyny u badanych zwierząt sinicy nie obserwowano.

E. MAZURČAK, Z. TOMICKI

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ СУЛЬФАМЕТАЗИНА И СУЛЬФАТИАЗОЛА В ПЛАЗМЕ И ШАРИКАХ КРОВИ У ЛОШАДЕЙ И СОБАК

Распределение сульфатиазола и сульфаметазина в крови исследовали на 4 собаках и 4 лошадях, которым сульфаниламиды назначали внутрь или внутривенно. В определённом промежутках времени исследовали полную кровь, кровяные шарики и плазмы. Шарики промывали физиологическим раствором хлористого натрия 5—6-кратно до исчезновения в промывочном растворе реакции на сульфаниламиды; реакцию проводили по методу Пребстинг—Гаврылова в модификации Валединской—Тимофеева с применением колориметра Dibosqua. Так у собак как и у лошадей не обнаружили сульфаниламидов в кровяных шариках; в плазме процентное количество их меньше процентного количества в полной крови. Авторы объясняют это гипотезой Герберта говорящей, что некоторая часть сульфаниламидов приклеивается к оболочкам кровяных шариков.

J. MAZURČAK and Z. TOMICKI

### EXPERIMENTAL STUDIES ON THE DISTRIBUTION OF SULFAMETHAZINE AND SULFATHIAZOLE IN THE BLOOD PLASMA AND ERYTHROCYTES IN HORSES AND DOGS

Summary

It has been aimed in the present work to determine the distribution of sulfamethazine and sulfathiazole in the equine and canine blood. The studies have been conducted on 4 horses and 4 dogs. Appropriate doses of sulfamethazine and sulfathiazole have been administered orally and intravenously and in due time samples of blood have been collected for examinations. Every blood sample has been divided into three parts: whole blood, blood serum and erythrocytes. The erythrocytes have been separated from the blood plasma by centrifugal force. To remove remnants of the blood plasma from the surface of the red blood corpuscles the erythrocytes have been 5—6 times washed in physiological saline till the disappearance of the colour reaction for sulfonamides in the washings. Subsequently the method of Prebstring — Gawryłow modified by Waledinskaja — Timofiew has been applied.

The intensity of the colour has been determined by using the Dibosque colorimeter whereby as 100 per cent the sample of the whole blood has been accepted. In the two species of the examined animals none of the investigated sulfonamides could be found in the erythrocytes. The percentage of the investigated sulfonamides in the blood plasma has been lower than that in the whole blood. This finding is interpreted by the authors in accordance with Herbert's hypothesis as being caused by the adhesion of a certain amount of the sulfonamides to the membranes of the erythrocytes.

TEODOR JUSZKIEWICZ, KRYSZYNA GORZELEWSKA, ZYGMUNT MADEJSKI

### Prosta metoda oznaczania magnezu w surowicy krwi. Stężenie magnezu w surowicy klinicznie zdrowych koni, krów, owiec i świń

Z Zakładu Farmakologii Doświadczalnej i Lecznictwa Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: Kandydat nauk wet. TEODOR JUSZKIEWICZ

#### I. Metoda oznaczania magnezu

W praktyce weterynaryjnej zachodzi nieraz potrzeba oznaczania stężenia magnezu w surowicy krwi zwierząt. W latach ostatnich lekarze weterynaryjni coraz częściej zwracają uwagę na przypadki chorobowe, którym towarzyszy spadek poziomu magnezu w organizmie. Hypomagnezemię opisano u szeregu gatunków zwierząt. W piśmiennictwie weterynaryjnym podaje się o dużych szkodach materialnych powstałych wskutek znacznej śmiertelności oraz spadku produktywności zwierząt na tle hypomagnezemii. Zagadnienie to przedstawione zostało także niedawno w polskim piśmiennictwie weterynaryjnym (9).

Chcąc oznaczać ilościowo Mg w surowicy krwi usiłowaliśmy adaptować do naszych warunków opisane dotychczas metody oznaczeń.

Chodziło nam o znalezienie metody możliwie dokładnej i nie wymagającej, trudno dostępnych w kraju odczynników. Początkowo zaczęliśmy przeprowadzać oznaczenia metodą Langga (11). W metodzie tej po odbiałczeniu surowicy i strąceniu wapnia magnez wiąże się z tropeoliną 00 na nierozpuszczalny w surowicy i wodzie osad. Osad ten rozpuszcza się jednak w stężonym kwasie siarkowym tworząc czerwono-fioletowe zabarwienie. Intensywność zabarwienia oznacza się następnie w kolorymetrze. Przy oznaczaniu Mg tą metodą niestety często popełnia się bardzo duże błędy. Wiele bowiem trudności sprawia tu usunięcie niezwiązanej tropeoliny bez naruszenia delikatnego, znajdującego się często na powierzchni płynu, połączenia magnezu z tropeoliną. Poszukując bardziej pewnych i dostępnych sposobów oznaczania ilościowego Mg w surowicy zaję-

liśmy się metodą, którą podajemy poniżej w modyfikacji własnej. Koncepcja opisanej tu metody nie jest nowa, przytacza ją wielu autorów (2, 7). Do zalet tej metody należy również to, że nadaje się ona do jednoczesnego oznaczania obok magnezu także wapnia i fosforu.

### Opis metody

Najpierw usuwa się z surowicy wapń w postaci szczawianu (może być on wykorzystany do oznaczania ilościowego Ca w surowicy). Magnez następnie strąca się z surowicy fosforanem amonowym. Pozostały osad fosforanu amonowo-magnezowego rozpuszcza się w kwasie trójchlorooctowym. W roztworze oznacza się zawartość fosforu metodą Fiske-Subbarowa i na tej podstawie oblicza się równoważną zawartość magnezu.

**Odczynniki.** 1. Roztwór fosforanu amonowego. 25 g fosforanu amonowego  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  rozpuszcza się w 250 ml destylowanej wody i dodaje się 25 ml stężonego amoniaku. Roztwór pozostawia się na 24 godziny, a po tym czasie sączy się go przez bibułę. Przesącz następnie ogrzewa się do wrzenia, gotując go tak długo, aż przestanie wydzielać się zapach amoniaku.

2. Nasycony roztwór szczawianu amonowego.

3. Amoniak stężony.

4. Amoniak 2% roztwór.

5. Roztwór 2,5% molibdenianu amonowego w kwasie siarkowym. 25 g molibdenianu amonowego rozpuszcza się w 200 ml wody destylowanej, dodaje się 300 ml 10N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i uzupełnia się wodą destylowaną do 1000 ml.

6. Eikonogen. (Roztwór kwasu 1, 2, 4-aminonaftolosulfonowego). 30 g kwaśnego siarczynu sodowego  $\text{NaHSO}_3$  i 0,5 g bezwodnego siarczynu sodowego rozpuszcza się w niewielkiej ilości wody destylowanej, dodaje się 0,5 g kwasu 1, 2, 4-aminonaftolosulfonowego i uzupełnia się wodą do 200 ml. Roztwór należy dokładnie wstrząsnąć i przesączyć przez bibułę. Odczynnik przechowuje się w szczelnie zamkniętym naczyniu z ciemnego szkła. Trwałość odczynnika — około 3 tygodnie.

**U w a g a.** Znajdujący się w sprzedaży kwas 1, 2, 4-aminonaftolosulfonowy zawiera zwykle wiele zanieczyszczeń. Używany do oznaczeń preparat musi posiadać zabarwienie jasnorożowawe. Preparat techniczny daje się łatwo oczyścić; w razie trudności otrzymania preparatu, syntezę jego można przeprowadzić w każdym zwykłym laboratorium chemicznym (2, 7, 13).

7. Kwas trójchlorooctowy 10%.

8. Wzorce. Najpierw sporządza się roztwór podstawowy. W tym celu rozpuszcza się 1,014 g przekryształowanego siarczynu magnezowego  $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$  w 100 ml wody destylowanej. Roztwór ten zawiera 1 mg Mg w 1 ml

(100 mg‰). Z tego roztworu sporządza się szereg wzorców o stężeniach wzrastających od 0,5 mg‰ do 5 mg‰.

**Wykonanie oznaczenia.** Do próbki wirówkowej wprowadza się 2 ml surowicy (względnie moczu, płynu mózgowo-rdzeniowego itp.) dodaje się 3 ml destylowanej wody i 1 ml szczawianu amonowego. Probówki pozostawia się na 12 godzin (do następnego dnia) w lodówce (ca  $+2^\circ\text{C}$ ), a później wiruje się.

Do innej, podobnej próbki wirówkowej przynosi się 5 ml klarownego odwirowanego płynu. (Pozostały osad można użyć do oznaczania Ca). Dodaje się 1 ml roztworu fosforanu amonowego i 2 ml stężonego amoniaku. Po dokładnym zmieszaniu płynu bagietką szklaną, wstawia się próbki na 5 minut do łaźni wodnej w temp.  $80^\circ\text{C}$ . Następnie próbki zakorkowane pozostawia się na 12 godzin w lodówce. Po tym czasie odwirowuje się płyn od osadu  $\text{Mg NH}_4\text{PO}_4$  (10 minut przy 3000 obr./min), a następnie osad przemywa się 2-krotnie 2% roztworem amoniaku za każdym razem wirując i możliwie dokładnie, ostrożnie ścigając płyn znad osadu.

Po ostatnim odwirowaniu i usunięciu płynu (brzezi próbki wysuszyć bibułą) osad rozpuszcza się w 8 ml kwasu trójchlorooctowego. Do następnej próbki przynosi się 4 ml tego roztworu, dodaje się 1 ml kwasu molibdenowego, 0,4 ml eikonogenu i uzupełnia wodą do 10 ml. Po 10 minutach (chronić przed bezpośrednim światłem) oznacza się ekstynkcję w fotometrze Pulfricha używając filtra S 61.

Przed rozpoczęciem oznaczeń wykreśla się krzywą ekstynkcji używając do tego dokładnie sporządzonych wzorców. Z wzorcami wykonuje się oznaczenia podobnie jak z surowicą. Zbyteczne jest jedynie wytrącanie Ca przez 12 godzin i oddzielanie go przez wirowanie.

Stężenie Mg w badanej surowicy odczytuje się bezpośrednio z krzywej ekstynkcji, albo oblicza się mnożąc uzyskaną wielkość ekstynkcji przez stały współczynnik. Współczynnik otrzymuje się dzieląc znane stężenie roztworu przez odczytaną dla tego stężenia ekstynkcję.

### II. Stężenie magnezu w surowicy u klinicznie zdrowych zwierząt gospodarskich

Najlepiej stosunkowo dotychczas opracowano zagadnienie niedoborów magnezu u przeżuwaczy. W związku z tym istnieje również wiele materiałów na podstawie których można podać wielkość fizjologicznego stężenia Mg w surowicy dla krów. Wynosi ono około 2,5—3,0 mg‰ (1, 5, 12, 14). Hoffert i Diemann oznaczali stężenie Mg w surowicy klinicznie zdrowych kóz i uważają, że poziom tego pierwiastka w surowicy kóz waha się na wysokości około 2,05 mg‰. Osobniki męskie wykazywały przy tym niższe stężenie (6).

Earle i Cabell, którzy zajmowali się chemizmem krwi u koni podają, że przeciętne stężenie Mg w surowicy u tych zwierząt wynosi około 2 mg<sup>0/0</sup>, (3). Wg Jennings'a i Mulligan'a średnie stężenie Mg w surowicy koni wynosi 2,5 mg<sup>0/0</sup>, przy wahaniach 2,0—3,2 i odchyleniu  $\pm 0,31$ . Wyniki te uzyskano z oznaczeń na 30 zdrowych dorosłych koniach (8). Hammersten, Flaschenträger i Lehmann (4) zestawili stężenie magnezu we krwi u zwierząt w następującej tablicy.

Stężenie magnezu we krwi w mg<sup>0/0</sup>

	Człowiek	Koń	Krowa	Owca	Koza	Królik	Pies
Erytrocyty	4	4,8	1	1	2,4	4,6	3,9
Surowica	2,3	2,8	4	2,5	2,5	2,9	2,3
Krew	3	4	5	2,0	2,5	3,5	4

Stężenia Mg we krwi i surowicy podane w tablicach zestawionych przez Kudriawcewa różnią się niejednokrotnie od przytoczonych wyżej. Dla porównania podajemy je w poniższej tabelce.

Stężenie magnezu w mg<sup>0/0</sup>

		Koń	Krowa	Owca	Świnia
Krew	wahania	6,0—7,0	3,6—4,0	3,0—4,0	8,5—5,5
	średnio	6,5	3,5	3,5	9,0
Surowica	wahania	4,0—5,0	4,2—4,6	4,0—4,5	3,9—5,0
	średnio	4,5	4,4	4,2	4,0

Jak można sądzić z powyższego przeglądu, różni autorzy uważają dość różne wielkości za średnie stężenia (zwane popularnie „normą”) magnezu w surowicy krwi zwierząt. Ze względu

na występowanie przypadków hypomagnezacji u zwierząt domowych, wydaje się rzeczą konieczną ustalenie średnich fizjologicznych stężeń (normy) tego pierwiastka w surowicy u naszych zwierząt gospodarskich.

## Badania własne

Opisaną powyżej metodą oznaczyliśmy stężenie magnezu w surowicy 18 koni, 34 krów mlecznych, 20 buhajów (zarodowych), 20 owiec i 19 świń. Wszystkie zwierzęta pochodziły z okolic Puław i znajdowały się w przeciętnych dla tych terenów warunkach hodowlanych. Wszystkie objęte doświadczeniem zwierzęta zostały ujęte w poniższej tabeli:

Z powyższego zestawienia wynika, że przeciętne stężenie magnezu w surowicy krwi u klinicznie zdrowych krów, owiec i świń z okolic Puław waha się w granicach około 2,28 mg — 2,27 mg<sup>0/0</sup>. Krowy mleczne wykazują przy tym dużo wyższe średnie stężenia Mg we krwi niż buhaje. Dlatego buhaje ujęliśmy nawet w oddzielną grupę zwierząt. Prawdopodobnie wiąże się to z różnicą płci, a nie z okresem laktacji. Stężenie Mg w surowicy jałówek jest podobnie wysokie jak u krów mlecznych. Nie posiadaliśmy dostatecznej ilości materiału aby sprawdzić, czy podobne różnice w stężeniu Mg w surowicy osobników męskich i żeńskich występują u innych gatunków zwierząt. Spośród przebadanych gatunków zwierząt, najniższe średnie stężenie magnezu w surowicy, stwierdzono u koni 1,94 mg<sup>0/0</sup>.

Podane tu oznaczenia zawartości magnezu w surowicy krwi niektórych zwierząt domowych traktujemy jedynie jako wyniki orientacyjne, ponieważ przeprowadzono je na względnie nieznacznej liczbie zwierząt i tylko w jednej wiosennej porze roku. Oznaczone przez nas średnie stężenia magnezu w surowicy zdrowych zwierząt, różnią się od podobnych stężeń

Stężenie magnezu w mg<sup>0/0</sup> w surowicy krwi zwierząt domowych.

Concentration of Magnesium (mg per 100 of serum) in Blood Serum of Animals.

Zwierzęta	Okres oznaczeń	Ilość zwierząt	Średnie stężenie Mg w mg %	Średnie odchylenie w mg %	Najwyższe stężenie w mg %	Najniższe stężenie Mg w mg %
Konie Horses	18—19.IV.57	18	1,94	$\pm 0,223$	2,43	1,60
Krowy Cows	25—31.V.57	34	2,72	$\pm 0,253$	3,43	2,21
Buhaje Bulls	25.V.57	20	2,28	$\pm 0,222$	2,70	1,85
Owce Sheep	12—30.IV.57	22	2,39	$\pm 0,195$	2,78	2,10
Świnie Pigs	2.IV.57	19	2,37	$\pm 0,196$	2,78	2,06
Zwierzęta	Okres oznacz.	n	$\bar{x}$	$Q = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n}}$	Max. x	Min. x

(w większości przypadków także różniących się między sobą) podawanych przez autorów zagranicznych.

## Piśmiennictwo:

1) Allcroft W. M., Green H. H.: J. Comp. Path., 51, 176, 1938; 2) Bałachowski S. D., Bałachowski I. S.: Metody chemicznego analiza krwi. Medgiz. 1953. Moskwa; 3) Earle I. P., Cabell B. S.: An. J. Vet. Res., 13, Nr 48, 330-337, 1952; 4) Hammersten O., Flaschenträger B., Lehnartz E.: Physiologische Chemie. Springer - Verlag, 1954; 5) Head M. J., Rook J. A. F.: Nature, 176 Nr 4475, 262, 1955; 6) Hofferber O., Dienemann R.: Monatsch. f. Vet. Med. 9, Nr 19, 428-431, 1954; 7) Hoppe-Seyler Thierfelder: Handbuch der physiologisch - und pathologisch - chemischen Analyse. Springer - Verlag, 1955; 8) Jennings F. W., Mulligan W.: J. Comp. Path., 63, Nr 4, 286-293, 1953; 9) Juszkiewicz T.: Med. Wet. 13, Nr 2, 88-94, 1957; 10) Kudriawcew A. A.: Issledowanija krowi w wietierinarnej diagnostikie. Moskwa 1952; 11) Lang K.: Bioch. Z., 253, 215, 1932; 12) Moodie E. W., Marr A., Robertson A.: J. Comp. Path., 65, Nr 1, 20-36 1955; 13) Predteczenski E. W., Borowskaja W. M., Margolina Ł. T.: Metody badań laboratoryjnych. P.Z.W.L. 1953. Warszawa; 14) Udall D. H.: The Practice of Veterinary Medicine. London, 1954.

зайственных домашних животных - лошади (18 животных) 1,94 мг%  $\pm$  0,223 мг%, коровы (34) - 2,72 мг%  $\pm$  0,253 мг%, овцы (22) - 2,39 мг%  $\pm$  0,195 мг%, свиньи (19) - 2,37 мг%  $\pm$  0,196 мг%. Концентрация магния в сыворотке племенных быков была меньше (2,28 мг%  $\pm$  0,222 мг%) концентрации магния у коров, что по мнению авторов, обусловлено полом животных.

**T. JUSZKIEWICZ, K. GORZELEWSKA & Z. MADEJSKI**

**A SIMPLE METHOD FOR THE DETERMINATION OF MAGNESIUM IN THE BLOOD SERUM. THE DETERMINATION OF THE LEVEL OF MAGNESIUM IN THE SERA OF CLINICALLY NORMAL HORSES, COWS, SHEEP AND PIGS**

## Summary

A description of the authors' modification of the method for the determination of magnesium in the blood serum. According to the method Mg is precipitated from the decalcified blood by the use of ammonium phosphate and determined colorimetrically from the colour produced as the results of the modified reaction of Fiske-Subbarow for phosphorus, which combined with a corresponding amount of magnesium and formed ammonium-magnesium phosphate.

By using the method the mean concentrations of magnesium in the sera of some species of domesticated animals were determined. The following concentrations were found: horses (18 heads) - 1.94 mg%  $\pm$  0.223 mg%, cows (34 heads) - 2.72 mg%  $\pm$  0.253 mg%, sheep (22 heads) - 2.39 mg%  $\pm$  0.195 mg%, pigs (19 heads) - 2.37 mg%  $\pm$  0.196 mg%, bulls (20 heads) are included in a separate group. In bulls a considerably lower concentration of Mg was found (2.28 mg%  $\pm$  0.222 mg%) than in cows. According to the authors the difference may be related with the sex difference.

**T. ЮШКЕВИЧ, К. ГОЖЕЛЕВСКАЯ, З. МАДЕЙСКИЙ**

**ПРОСТОЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАГНИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ. КОНЦЕНТРАЦИЯ МАГНИЯ В СЫВОРОТКЕ У КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛОШАДЕЙ, КОРОВ, ОВЕЦ И СВИНЕЙ**

Описывается метод определения магния в сыворотке по собственной модификации авторов.

Принцип метода следующий: из сыворотки удаляют кальций, а после этого осаждают магний при помощи фосфорно-кислого аммония; колориметрически определяют окраску созданную в модифицированной реакции Фиске - Суббарова для фосфора, который в соответственном количестве связывается с магнием в виде фосфорно-кислой аммонийно-магневой соли. Пименяя этот метод, определили следующие средние величины концентрации магния в сыворотке некоторых сельхо-

**MICHAŁ BOHOSIEWICZ, WŁADYSŁAW JANOWSKI**

**Zatrucia bydła arsenem**

Z Katedry Farmakologii WSR we Wrocławiu  
Kierownik: Doc. Dr ADAM SZWABOWICZ.

Nasilenie zatruc zwierząt domowych arsenem w ostatnich latach jest wynikiem powszechnego stosowania w rolnictwie preparatów arsenowych, w szczególności arsenianu wapnia do zwalczania szkodników roślin (owadów).

Tabelaryczne ujęcie przypadków zatruc arsenem w latach 1953 - 1956, oparte na materiałach Katedry Farmakologii Wydz. Wet. WSR we Wrocławiu przedstawia się następująco (tabela 1):

Jak wynika z tabeli najwyższy procent zatruc arsenem trafia się u bydła. Z uwagi na to, że zatrucia bydła arsenem przebiegają nie tylko ostro ale też i podostro mogliśmy niejednokrotnie przypadki takie badać na miejscu, a tym samym zebrać obfity materiał z tego zakresu. Ponieważ

zatrucia bydła arsenem nastroczają lekarzom weterynaryjnym, którzy z przypadkami takimi nie zetknęli się, niejednokrotnie pewne trudności w postępowaniu, wydaje się nam wskazane podać krótko przebieg badanych przez nas przypadków i równocześnie nowiutko syntetycznie zebrane materiały, co niewątpliwie może ułatwić rozpoznawanie i postępowanie w zatruciach preparatami arsenowymi w warunkach praktyki terenowej.

Przyp. 1. W gospodarstwie PGR Ł. podano bydłu w dniach 14, 15 i 16 stycznia 1953 r. wywar ziemniaczany. Wywar dostarczono do gospodarstwa beczkowozem, w którym w czasie zwalczania stonki ziemniaczanej rozpuszczano preparaty arsenowe. Objawy chorobowe zauważono w dniu 16.I