

MARIA PROST

Badania nad zastosowaniem roślinnych fermentów proteolitycznych przy glistnicy u kur

Z Zakładu Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Wydz. Weteryn. WSR w Lublinie
Kierownik: Doc. dr E. ŻARNOWSKI

Działanie przeciwoznaczające soku niektórych roślin było obserwowane już od dawna. Substancją czynną, pasożytoobójczą zawartą w sokach roślinnych są tkankowe fermenty proteolityczne, obecność których została stwierdzona u następujących roślin: u wielu gatunków figowców (z rodzaju *Ficus*) (19), w winogronach, soku maku, w bananach oraz w niedojrzałych owocach odmiany melona — *Carica papaya*, rosnącego w Indiach (1). Od nazwy gatunkowej tej odmiany melona stworzono termin „papaina”, który został przyjęty dla całego zespołu fermentów roślinnych niezależnie od gatunku rośliny w jakim te fermenty są zawarte (1). Użycie soków roślinnych jako leku przeciwoznaczającego było początkowo ograniczone tylko do okolic w których rośliny te występowały (przede wszystkim w Południowej Ameryce oraz Indiach), gdyż szybkie unieczynnienie fermentów w soku roślinnym uniemożliwiałoby przechowywanie go przez czas dłuższy. Dopiero otrzymanie papainy w stanie stałym, przez co uzyskano możliwość dłuższego jej przechowywania (Ammon, 1950), pozwoliło na rozpowszechnienie tego leku i w innych krajach.

W ostatnich latach pojawiło się wiele publikacji na temat stosowania roślinnych fermentów proteolitycznych typu papainy w leczeniu robaczyc jelitowych u ludzi i zwierząt. Co do skuteczności tego rodzaju leków zdania autorów są podzielone. O ile znaczna część badaczy przypisuje tym preparatom duże znaczenie przeciwoznaczające (8, 10, 11, 12, 16, 18) o tyle istnieje cały szereg prac odmawiających omawianym lekowi większej wartości terapeutycznej (5, 6, 7, 9, 13, 17). Niezależnie jednak od rodzaju oceny skuteczności tych środków, wszyscy autorzy zgodnie podkreślają dużą zaletę preparatów enzymatycznych przejawiających się w prawie całkowitym braku toksyczności. Wspomniana sprzeczność w wynikach badań co do skuteczności fermentów proteolitycznych w terapii przeciwoznaczającej, nieszkodliwość preparatów dla leczonego pacjenta oraz brak dotychczas publikacji z tego zakresu w naszym kraju — skłoniły mnie do zainteresowania się tymi środkami raz jeszcze.

Badania własne

Badania własne przeprowadziłam na 123 kurach rasy Sussex. Kury te zostały zakupione jako jednodniowe pisklęta, a następnie odchowywane w warunkach uniemożliwiających natu-

ralne zarażenie się pasożytami.* Po 8 tygodniach kurczęta zarażono inwazyjnymi jajami glist *Ascaridia galli*, przy czym każdy ptak otrzymał sondą do wola około 200 jaj. Po dalszych 8 tygodniach t.j. po okresie potrzebnym do odbycia rozwoju glist do stadium dojrzałego w przewodzie pokarmowym żywiciela, przeprowadzono badanie kału zarażonych kur uproszczoną metodą Stoll'a (z użyciem 1/10 norm. NaOH). Spośród 123 kur, którym podano do wola inwazyjne jaja *Ascaridia galli*, u 114 stwierdzono zarażenie, przy czym 3 z nich padły. Pozostałe 111 kur podzielono na 6 różnych grup, w zależności od dawek zadawanego leku.

Do badań użyto dwa specyfiki zawierające roślinne fermenty proteolityczne, a mianowicie Vermizym wyprodukowany przez firmę Dr Schwab G. m. b. München oraz Nematolylt firmy Mack (Illertissen). Vermizym zastosowano u 5 różnych grup kur, natomiast Nematolylt tylko u jednej grupy ze względu na niewielką ilość posiadanego leku.

Badania nad skutecznością wymienionych preparatów enzymatycznych przeprowadzono *in vitro* oraz *in vivo*.

W badaniu *in vitro* poddano żywe glisty *Ascaridia galli* działaniu 4⁰/₆-owej zawiesiny Nematolyltu lub Vermizymu w termostacie, w temperaturze 40°C (3, 14 15). Już po godzinie przebywania w tej zawieszynie można było zaobserwować u glist wyraźne ubytki powłok zewnętrznych ciała (oskórka i hypodermis) powstałe na skutek nadtrawienia. Po 2 godzinach przez ubytki te wydobywały się sploty narządów wewnętrznych robaków, a po 24 godzinach w zawieszynie leku pozostały jedynie niewielkie strzępki tkanek pasożytów.

Po stwierdzeniu dużej skuteczności Nematolyltu i Vermizymu w działaniu *in vitro*, przystąpiono do badań właściwych t.j. badań *in vivo*. Zarażonym kurom podawano różne dawki Vermizymu i Nematolyltu przedstawione w tabeli 1.

Kurom grupy 1, 2, 5 i 6 zadano lek jednorazowo, natomiast kury grupy 3 i 4 otrzymywały Vermizym przez trzy kolejne dni: w grupie 3 po 1,0 g dziennie, w grupie 4 pierwszego dnia 3,0 g, a drugiego i trzeciego po 2,0 g dziennie. Oba leki Vermizym i Nematolylt zastosowano na czczo, po kilkugodzinnym głodzeniu zwierząt. W czasie kuracji oraz na dobę przed zadaniem obu leków kury były na diecie bezbiałkowej ce-

*) Zakładowi Ogólnej Hodowli Zwierząt Wyższej Szkoły Rolniczej w Lublinie składam serdeczne podziękowania za umożliwienie korzystania z pomieszczeń i urządzeń Zakładu w czasie pierwszych tygodni hodowli kurcząt.

Tabela 1

L e k	Nr grupy kur	Ilość kur w grupie		Dawka leku w g na kg w. c.
		leczo-nych	kontrol-nych	
Vermi- zym	1	25	3	1,0—1,5
	2	15	2	1,5—2,5
	3	15	2	1,0+1,0+1,0
	4	14	2	3,0+2,0+2,0
	5	15	2	7,0
Nema- tolyt	6	14	2	ok. 1,0
Razem kur:		98	13	

lem wykluczenia możliwości zużycia fermentów zawartych w leku na trawienie białek pokarmu. Kał zwierząt leczonych badano makroskopowo oraz notowano ilość wydalonych martwych, żywych oraz nadtrawionych glist. Na 5 lub 6 dzień od zadania leku kury ubijano oraz przeprowadzano sekcję, przy czym notowano ilość znalezionych glist w przewodzie pokarmowym sekcjonowanych kur. W przypadku gdy na sekcji w przewodzie pokarmowym leczonych kur nie znajdowano glist, sprawdzano treść jelita grubego i ślepego na obecność dojrzałych nicieni *Heterakis gallinae* celem wykluczenia ewentualnej pomyłki przy kontrolnym badaniu koprologicznym kur przed leczeniem (wielkie podobieństwo jaj *Ascaridia galli* i *Heterakis gallinae*). W żadnym z badanych przypadków nie stwierdzono jednakże obecności *Heterakis gallinae*. Drugą próbą kontrolną stosowaną w przypadku nie znalezienia glist na sekcji kur było mikroskopowe badanie treści jelita cienkiego i grubego sekcjonowanych ptaków uproszczoną metodą Stoll'a. Obecność jaj glist w treści jelita przy nieobecności dojrzałych pasożytów była jeszcze jednym z dowodów trawiącego działania leku na robaki. W próbie tej wykorzystano fakt braku niszczącego działania roślinnych fermentów proteolitycznych na jaja glist, co zostało stwierdzone przez *Ammona* i *Debusmanna* (2).

Celem sprawdzenia działania enzymów zawartych w leku na błonę śluzową przewodu pokarmowego kur przeprowadzono w czasie sekcji jelit kur leczonych oraz kur kontrolnych oględziny błony śluzowej przewodu pokarmowego oraz pobierano do badań histologicznych po dwa wycinki jelit z każdej kury: jeden z dwunastnicy i jeden z dalszego odcinka jelita cienkiego. Kurami kontrolnymi były osobniki u których stwierdzono w kale obecność jaj *Ascaridia galli*, a które nie były poddane leczeniu.

Wyniki

1. Skuteczność Vermizymu i Nematolytu

Wyniki leczenia przedstawione są w tabeli 2:

Z wymienionych danych cyfrowych wynika, że skuteczność Vermizymu jest większa przy trzykrotnym podaniu polecanych dawek tego le-

Tabela 2

L e k	Nr grupy kur	Dawka leku w g na kg w. c.	Ilość kur w grupie	Ilość kur wolnych od glist na sekcji	Ilość kur u których sekcyjnie stwierdzono żywe glisty	% pełnego efektu terapeut.
Vermi- zym	1	1,0—1,5	25	6	19	24
	2	1,5—2,5	15	7	8	47
	3	1,0+1,0+1,0	15	9	6	60
	4	3,0+2,0+2,0	14	7	7	50
	5	7,0	15	3	12	20
Nema- tolyt	6	ok. 1,0	14	8	6	57

ku tj. ok. 1,0 g na kg w. c. Stosowanie jednorazowe preparatu daje bardzo niski procent skuteczności, przy czym wysokość dawki pozostaje bez wpływu na wynik leczenia (dawka 1,0 na kg w. c. oraz 7,0 na kg w. c. dały podobny procent skuteczności). W kale niektórych kur leczonych niedużymi, jednorazowymi dawkami Vermizymu stwierdzono niewielkie ilości wydalonych glist. Wszystkie wydalone glisty były martwe, a niektóre z nich nadtrawione. Przy trzykrotnym stosowaniu leku ilość kur wydalaających z kałem glisty wyraźnie się zmniejszyła. U kur, którym podano wysoką dawkę 7,0 g na kg w. c. oraz u kur leczonych Nematolytem nie stwierdzono w kale wydalonych robaków. Ilość żywych glist stwierdzona na sekcji w przewodzie pokarmowym u poszczególnych leczonych kur była bardzo różna i wahała się od 1 sztuki do 190. Zasadniczo wszystkie robaki były żywe i nie wykazywały nadtrawienia.

2. Działanie Vermizymu i Nematolytu na organizm leczonych kur.

Po zadaniu obu leków, bez względu na wysokość stosowanej dawki nie zauważono żadnych objawów toksycznych u kur leczonych poza przemijającym, kilkugodzinnym posmutnieniem pierwszego dnia kuracji. Kał kur leczonych był śluzowaty, niekiedy znajdowano w nim niewielkie skrzepy krwi. Na sekcji w czasie oględzin błony śluzowej przewodu pokarmowego, nie stwierdzono żadnych jej zmian w porównaniu do kur kontrolnych (zarażonych nieleczonych). U wszystkich kur zarówno leczonych jak i kontrolnych zaobserwowano nieznaczne zapalenie nieżytowe błony śluzowej przewodu pokarmowego jelita cienkiego wyrażające się rozpułchnieniem błony śluzowej oraz zwiększoną ilością śluzu. Niekiedy stwierdzono pojedyncze, punkcikowate wybroczyny.

Na podstawie analizy preparatów histologicznych*) sporządzonych z dwunastnicy i jelita cienkiego kur stwierdzono, że zmiany, tak u kur

*) Badania histopatologiczne wykonano w Zakładzie Anatomii Patologicznej Wydz. Wet. WSR w Lublinie.

kontrolnych, jak też u leczonych w zasadzie nie różniły się. Zaobserwowane zmiany ograniczały się do nieznacznego obrzęku błony śluzowej, maceracji i ubytków nabłonka jelitowego, szczególnie w części wierzchołkowej kosmków. W około 50% przypadków stwierdzono zwiększoną ilość śluzu, w pojedynczych przypadkach obecność wybroczyn, niekiedy wzmożony rozplam tkanki limfoidalnej, a tylko w bardzo nielicznych przypadkach wyraźnie zaznaczone przekrwienie błony śluzowej. Należy przy tym zaznaczyć, że zmiany te, aczkolwiek nie mające większego znaczenia w przebiegu doświadczenia, wystąpiły wyraźniej w przypadkach kur kontrolnych, natomiast u kur leczonych obraz histologiczny częściej przypominał budowę prawidłową. Wyżej opisane zmiany wskazują na obraz t. zw. enteropatii a niekiedy, przy obecności wybroczyn i przekrwienia, przypominają lekkie stany nieżytowe, co niewątpliwie wiąże się z jednostronnym żywieniem kur oraz działaniem mechanicznym i toksycznym spowodowanym obecnością pasożytów.

Po przeprowadzeniu dokładnej analizy i porównania preparatów histologicznych z jelit kur kontrolnych i leczonych należy raczej wykluczać działanie trawiące leku na błonę śluzową odrobaczających ptaków. Obserwowana maceracja oraz ubytki nabłonka jelitowego były bardzo nieznaczne i dotyczyły przeważnie części wierzchołkowych kosmków, tak u kur kontrolnych jak też leczonych. Zmiany te niewątpliwie zostały spowodowane działaniem mechanicznym w trakcie pobierania materiału do badań oraz samej techniki sporządzania preparatów histologicznych. Gdyby nawet przyjąć ewentualne trawiące działanie leku na błonę śluzową, to zaobserwowane zmiany, ograniczające się tylko do nabłonka dowodziłyby o minimalnej szkodliwości badanych preparatów.

Podobne wyniki badania histologicznego jelit leczonych zwierząt otrzymał Boch (4), który po zadaniu dawki Vermizymu 1,0 g na kg w. c. powtarzanej dwu i trzykrotnie u myszy, szczurów i kotów nie stwierdził żadnych zmian błony śluzowej. Dopiero po zastosowaniu pięciokrotnym leku autor ten zauważył niewielkie uszkodzenia błony śluzowej jelita leczonych zwierząt, które to zmiany zniknęły jednak po pięciu dniach bez żadnych klinicznych objawów.

Wnioski

1. W wyniku przeprowadzonych w niniejszej pracy badań stwierdzono, że skuteczność obu fermentów proteolitycznych Vermizymu i Nematolytu przeciw glistnicy u kur wahała się w granicach od 20—60%. Taka skuteczność obu leków nie upoważnia do uznania ich za godne polecenia przy glistnicy u kur, tym bardziej, że jak wykazały badania Żarnowskiego i Darskiego (20) skuteczność innych leków np. CCl₄, adi-

pinianu piperazyny i kwiatu Bertramu jest o wiele większa i dochodzi do 100%.

2. Opisywana wielokrotnie przez różnych autorów wielka skuteczność Nematolytu i Vermizymu była prawdopodobnie wynikiem nie zawsze wnikliwej kontroli w czasie przeprowadzania badań oraz zasugerowania się autorów bardzo korzystnymi wynikami działania obu preparatów *in vitro*.

3. Preparaty enzymatyczne typu papainy w postaci specyfików pod nazwą Vermizym i Nematolyt nie zdały egzaminu ze względu na niewielką ich skuteczność. Nie przekreśla to jednak nadziei na użycie w leczeniu roślinnych enzymów proteolitycznych w przyszłości pod postacią innych preparatów, które, być może, zawierając w swym składzie jakies aktywatory fermentu mogłyby mieć skuteczniejsze działanie przeciworobacze.

4. Godny podkreślenia jest brak toksyczności obu preparatów enzymatycznych dla leczonych zwierząt, co potwierdziły zarówno obserwacje kliniczne jak i oględziny jelit na sekcji oraz sporządzone preparaty histologiczne. Bardzo ciekawe zagadnienie mechanizmu trawiącego działania fermentów typu papainy na tkanki paszyta bez równoczesnego szkodliwego wpływu na tkanki zwierzęcia leczonego mogłoby stanowić temat dla osobnych badań biochemicznych.

Na zakończenie pragnę złożyć serdeczne podziękowania Zakładowi Parazytologii Instytutu Weterynaryjnego w Puławach za umożliwienie mi korzystania z pracowni, pomocy laboratoryjnej oraz pomieszczeń dla zwierząt jakich używałam w czasie przeprowadzania doświadczeń nad terapią kur.

Piśmiennictwo

- 1) Ammon, Dirscher: Fermente, Hormone, Vitamine, 1948.
- 2) Ammon, Debusmann: Medizinische Monatschrift. Stuttgart, 7, 11, 1953.
- 3) Aparicio Garrido, Prieto Lorenzo: Medicina Colonial. Madrid, 24, I, 1954 (ref. Helminthological Abstracts).
- 4) Boch: Berl. u. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 67, 22, 1954.
- 5) Bumbalo, Gustina, Oleksiak: Journal of Pediatrics, 42, 5, 1953.
- 6) Capocaccia, Mastrandrea: Archivio Italiano di Scienze Mediche Tropicali e di Parasitologia, 34, 11, 1953 (ref. Helminthological Abstracts).
- 7) Capocaccia, Mastrandrea, Moreschi: Archivio Italiano di Scienze Mediche Tropicali e di Parasitologia, 34, 9, 1953 (ref. Helminth. Abstr.).
- 8) Derbal: Rév. élév. Paris 8, 1955 (ref. Helminth. Abstr.).
- 9) Enigk, Nickel: Berl. u. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 11, 1955.
- 10) Fraedrich: Berl. u. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 66, 23, 1953.
- 11) Hannak: Münch. Mediz. Wochenschr. 19, 25, 1951.
- 12) Kessler: Medizinische Klinik, 48, 20, 1953.
- 13) Krepler, Leixnering: Wiener Medizinische Wochenschr., 103, 45, 1953.
- 14) Liebmann: Berl. u. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 66, 2, 1953.
- 15) Mendheim: Säugetierkundliche Mitteilungen, I, 4, 1953.
- 16) Mendheim: Tierärztliche Umschau 15/16, 1954.
- 17) Schaper: Münch. Med. Wochenschr., 93, 46, 1951.
- 18) Schmidt, Leidl: Monatsheften Veterinärmedizin, 10, 1951.
- 19) Thomen: Amer. Journal trop. Med., 19, 409, 1939.
- 20) Żarnowski, Darski: Medycyna Wet., 7, 1957.

M. ПРОСТ

ОПЫТЫ ПО ПРИМЕНЕНИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ АСКАРИДОЗЕ КУР

Содержание

В виду крайне противоречивых результатов работ разных авторов по применению при аскаридозе протеолитических ферментов типа папаина, а также отсутствия таких работ в Польше, автор произвел экспе-

риментальные исследования активности и токсичности таких препаратов для кур. Исследованы были специфики: „Vermizym—dr Schwab G. m. b. H. Munchen” и „Nematolyt—Mack; Illertissen”.

In vitro оба препарата в 4% эмульсии показали высокие ферментативные свойства для живых аскарид—*Ascaridia galli*; повреждение тканей паразитов можно было заметить уже в течение 1 часа пребывания паразитов в эмульсии; почти полное переварение наступило после 24 часов.

Исследования in vivo проведено на 111 курах расы Susseks. На 1 сутки перед лечением, а также во время лечения куры были выдержаны на безбелковой диете. Препараты были даны курам натошак. Получены следующие результаты лечения:

- I. группа — Vermizym 1x1.0—1.5 г/кг ж. в. — эффективность 24%;
- II. группа — Vermizym 1x1.5—2.5 г/кг ж. в. — эффективность 47%;
- III. группа — Vermizym 3x1.0 г/кг ж. в. (1 раз в сутки 3 очередные дни) — эффективность 60%;
- IV. группа — Vermizym 1 дня 3.0 г/кг ж. в., 2 дня — 2.0 г/кг ж. в., 3 дня 2.0 г/кг ж. в. — эффектив. 50%;
- V. группа — Vermizym 1x7.0 г/кг ж. в. эффектив. 20%;
- VI. группа — Nematolyt 1x1.0 г/кг ж. в. эффективность 57%.

Во время лечения, даже при семикратном повышении дозировки Vermizym'a клинические симптомы отравления не были наблюдаемы. На секции убитых после лечения кур, анатомопатологических изменений в слизистой пищеварительного тракта не обнаружено. Гистопатологическое исследование тоже не обнаружило никаких изменений, которые показывали бы на переваривающее действие препаратов по отношению к слизистой леченых кур.

В заключении автор констатирует, что относительно низкий % эффективности обоих препаратов не позволяет считать целесообразным применение их при аскаридозе кур в Польше. Однако, подчеркивая отсутствие токсичности препаратов, автор не отрицает возможности применения в будущем спецификов с протеолитическими ферментами типа папаина, которые, имея активаторы фермента, оказались бы более сильными противаскаридозными средствами.

MARIA PROST

STUDIES ON APPLICATION OF PLANT PROTEOLYTIC FERMENTS IN ASCARIASIS OF HENS

Summary

Since the results of the present investigations carried out by various authors on the application of plant proteolytic ferments similar to papain as an-

thelmintics are very divergent and there is no report on this subject in Poland, this work was undertaken in order to determine the efficacy of these preparations and their toxicity for treated animals. The following preparations were examined: Vermizym, produced by Dr Schwab G. M., b. H. München and Nematolyt produced by Mack (Illertissen). The examinations were carried out both in vitro and in vivo. In vitro effect of 4 per cent aqueous suspensions of Nematolyt and Vermizym on living *Ascaridia galli* was examined. The experiment showed that both the preparations exerted a strong digestive activity on the tissues of worms. This activity was already seen after keeping the worms for one hour in the suspension of the drugs. The total digestion of the worms took place after 24 hours.

In vivo experiments were carried out on 111 Sussex hens infested artificially with *Ascaridia galli*. The hens were divided into sex groups which received 1.0—1.5 g of Vermizym per kg of body weight, group II received 1.5—2.5 g of Vermizym per kg of body weight, group III received daily 1.0 g of Vermizym during three successive days, group IV received Vermizym during 3 successive days: in the first day the hens received 3.0 g per kg of body weight and in the second and third day they received 2.0 g per kg of body weight. Group V received 7.0 g of Vermizym per kg of body weight and, finally, group VI received Nematolyt in dose about 1.0 g per kg of body weight. The drug was administered fastingly. The hens were kept on protein-free diet 24 hours before the treatment and during the treatment. The percentage of efficacy of the drugs was as follows: group I—24 per cent, group II — 47 per cent, group III — 60 per cent, group IV — 50 per cent, group V — 20 per cent and group VI — 57 per cent.

No clinical symptoms of poisoning were seen in the treated hens during the treatment or when the dose of the was increased seven times. On post-mortem examination of digestive system of the treated hens no lesions, caused by the drug, were found in the mucous membrane of digestive system. Histopathological examinations of the small intestine of the treated hens revealed no lesions which may be attributed to the digestive action of the preparations on the mucous membrane of digestive system.

In conclusion, it was stated that the common application of these drugs to control ascariasis of hens in Poland is not recommended because the percentage of efficacy of both drugs is low (20 per cent to 60 per cent). The lack of toxicity of these drugs is, however, noteworthy and the possibility of using, in the next future, the proteolytic ferments similar to papain under the form of other specifics should be taken into consideration. These specifics containing some activating substances for the ferments would have a stronger anthelmintic activity.