

else the calves were immunized subcutaneously. The level of agglutinin in the animals immunized by each method was checked by a test-tube agglutination reaction.

As a result of these experiments, a lower agglutination titre was found in calves immunized by the aerosol than in the calves which received subcutaneous immunization.

ALOJZY RAMISZ, JÓZEF LAMINA, GERARD SCHOOP

Wpływ Tiguvonu (Bayer) na aktywność cholinesterazy oraz acetylocholinesterazy u eksperymentalnie zarażonych włośniami myszy*)

Wojewódzki Zakład Higieny Weterynaryjnej w Krakowie
Kierownik: dr A. RAMISZ

Institut für Zoonosenforschung an der J. W. Goethe
Universität, Frankfurt a. M.
Kierownik: prof. dr G. SCHOOP

W 1959 r. Schoop i Lamina po raz pierwszy wykazali możliwość wykorzystania estru kwasu fosforowego — Trichlorfon (Neguvon, Bayer) w zwalczaniu włośnicy. W dalszych badaniach (1962) wymienieni autorzy potwierdzili wcześniej uzyskane wyniki oraz wykazali, że Neguvon podawany pod osłoną PAM i atropiny powoduje prawie całkowite usunięcie włośni jelitowych. Wymieniony preparat był również skuteczny przeciwko larwom wędrującym oraz otorbionym. Ujemną cechą Neguvonu była jego wysoka toksyczność oraz szybkie wydalanie (po kilku godzinach) z organizmu żywiciela. Warunkiem uzyskania dobrych wyników przy Neguvonie było częste podawanie oraz stosowanie związków zmniejszających jego toksyczność.

Ostatnio Lamina, Meilinger oraz Schoop (1966) przeprowadzili badania z 0,0-Dimethyl-0-(4-methylmercapto-3-methylphenyl) thionophosphat (nazwa handlowa Tiguvon, Bayer), stwierdzając dużą skuteczność wymienionego leku przy trichinozie myszy.

Wymienieni autorzy stwierdzili, że dwukrotne, doustne lub podskórne zastosowanie 2% roztworu Tiguvonu wykazuje silne działanie na wszystkie stadia rozwojowe włośni. Po drugiej dawce, którą podano w piątym dniu po pierwszej, średnio 90% larw zostało zabitych. Ponieważ droga podania leku (doustna, podskórna i dootrzewnowa) nie posiadała większego znaczenia na skuteczność działania, nasunęło się przypuszczenie, że preparat ma działanie układowe. Mechanizm działania Tiguvonu na włośnię pozostał jednak niewyjaśniony.

Ogólnie wiadomo, że organiczne połączenia fosforu działają hamująco na specyficzne esterazy. W związku z tym badano jakie działanie posiada Tiguvon na cholinesterazę oraz acetylocholinesterazę u myszy eksperymentalnie zarażonych włośniami. Równocześnie interesowało nas czy podanie wymienionego preparatu może posiadać wpływ na aktywność cholinesterazy u pasożyta. Należy zaznaczyć, że Baldwin i Moyle (1949), Bueding (1952), Mellanby (1955), Krotow (1957), Rohde (1960), Lee (1962) oraz

Ramisiz (1965) wykazali aktywną cholinesterazę (lub acetylocholinesterazę) u różnych gatunków nicieni.

Materiali i metoda

Do pierwszej serii badań użyto myszy z otorbionymi włośniami, które przed trzema miesiącami zarażono 100 larwami. Tiguvon podano doustnie sondą w dawce 0,2 ml, co odpowiadało 4 mg aktywnej substancji. Zwierzęta doświadczalne (każda seria składała się z dwóch myszy, którym podano lek oraz jednej kontrolnej) były zabijane po 24, 48, 72, 96 oraz 120 godzinach. Drugą dawkę Tiguvonu podano po 6 dniach od momentu zaaplikowania pierwszej dawki. Zwierzęta badano również w seriach po 3 sztuki w takich samych odstępach czasu jak po pierwszej dawce. Przedstawiony cykl badania został powtórzony na 30 myszach.

Drugą serię doświadczeń przeprowadzono na myszach po 14 dniach od chwili zarażenia, czyli w okresie wędrowki larw włośni. Badania przeprowadzono również na 30 zwierzętach, które zostały zarażone 250 larwami. Dawka Tiguvonu, ilość zwierząt użytych w każdej serii oraz czas badania po zarażeniu był taki sam jak w pierwszym doświadczeniu (z larwami otorbionymi). Po 6 dniach od chwili rozpoczęcia badania zastosowano drugą dawkę leku. Całość badania z larwami wędrującymi została powtórzona.

Jako materiału testowego ze zwierząt doświadczalnych użyto przepony, którą po wypreparowaniu płukano dwukrotnie w roztworze fizjologicznym soli kuchennej. Następnie była ona utrwalona przez 10 minut w 10% formalinie. Po utrwaleniu przepona była trzykrotnie płukana (15 minut każde płukanie) w wodzie destylowanej.

Aktywną acetylocholinesterazę oznaczano przy pomocy metody Koell'go w modyfikacji Gomori (Pearse, 1960). Każdą przeponę dzielono na dwie części, przy czym w stosunku do jednej połowy zastosowano substrat butyrylothiocholiny, a w stosunku do drugiej acetylothioliny. Intensywność reakcji oceniano w płytkach nerwowych mięśni przepony żywiciela, jak również w torebce pasożyta.

Wyniki

1. Doświadczenie z włośniami otorbionymi. Wstępne badania wykazały różne oddziaływanie Tiguvonu na cholinesterazę oraz acetylocholinesterazę, w związku z tym postanowiono przeprowadzić badania oddzielnie dla każdego enzymu.

Po 24 godzinach aktywna cholinesteraza (substrat butyrylothiocholiny) została prawie w 100% zahamowana w płytkach nerwowych przepony zwierząt, którym podano lek, w stosunku do zwierząt kontrolnych. Również w torebkach pasożytniczych zwierząt leczonych nie wykazano pozytywnej reakcji. W preparacie kontrolnym natomiast stwierdzono dodatnią reakcję w około 60—70% otorbionych włośni pod

*) Niższe badania zostały wykonane w Instytucie Badań Zoonoz w Frankfurt nad Menem, gdzie dr A. Ramisz, przebywał w ramach stypendium Niemieckiego Urzędu Wymiany Akademickiej (DAAD).

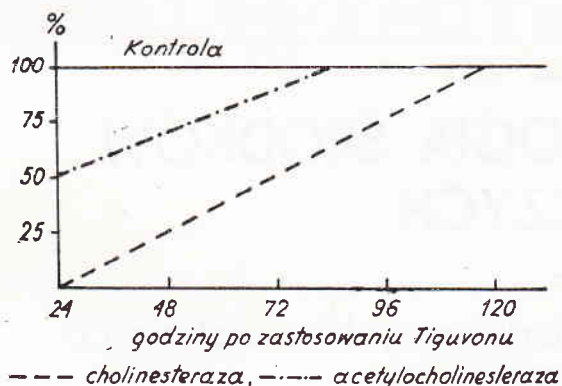
postacią drobnych ziarnistości. Nie udało się jednak określić miejsca lokalizacji tych ziarnistości w torebce pasożyta.

Po 48 godzinach od chwili zastosowania leku intensywność reakcji w płytkach nerwowych przepony wahała się w granicach 15—20% intensywności reakcji u zwierząt kontrolnych. Po 72 godzinach intensywność reakcji wynosiła 50—60, a po 96 godzinach 80% w stosunku do kontroli. 120 godzin po zastosowaniu Tiguvonu nie stwierdzono żadnej różnicy w intensywności w stosunku do preparatów kontrolnych.

Dodatnią reakcję w torebkach włóśniowych, które nie zostały uszkodzone przez Tiguvon stwierdzono dopiero u zwierząt, które zostały zabite po 72 godzinach. W torebkach, które w wyniku działania preparatu zostały uszkodzone, nie stwierdzono dodatniej reakcji.

W wyniku zastosowania po 6 dniach drugiej dawki Tiguvonu reakcja na aktywną cholinesterazę zarówno w płytkach nerwowych żywiciela, jak również we włóśniach otorbionych kształtowała się tak samo jak po pierwszej dawce. Po drugiej dawce ilość uszkodzonych larw włóśni była jednak dużo większa i dochodziła do 70—80%. Powtórzenie całego doświadczenia, łącznie z podwójnym podaniem leku, dało identyczny wynik jak w pierwszej serii. Wykres 1 obrazuje przebieg doświadczenia przy zastosowaniu butyrylocholiny jako substratu.

Inne wyniki uzyskano przy użyciu jako substratu acetylocholiny. W 24 godziny po podaniu Tiguvonu myszom doświadczalnym intensywność reakcji w płytkach nerwowych przepony wynosiła około 50% w stosunku do zwierząt doświadczalnych. Po 48 godzinach intensywność reakcji określono na 70, a po 72 godzinach na 80—90%. W 96 i 120 godzin po podaniu leku nie stwierdzono żadnych różnic w stosunku do kontroli (wykres 1).



Wykr. 1. Zachowanie się cholinesterazy oraz acetylocholiny w płytkach nerwowych myszy zarazonych włóśniami po zastosowaniu Tiguvonu.

Intensywność reakcji we włóśniach otorbionych kształtowała się podobnie jak przy wykrywaniu cholinesterazy. Również tutaj nie wykazano dodatniej reakcji w torebkach uszkodzonych przez Tiguvon.

2. Doświadczenie z włóśniami wędrującymi.

Po zastosowaniu Tiguvonu u myszy doświadczalnych, nie stwierdzono różnic w przebiegu reakcji w stosunku do pierwszego doświadczenia z larwami otorbionymi. Również w tej serii badań stwierdzono wyżej opisane różnice przy zastosowaniu butyrylocholiny i acetylocholiny. Przy zastosowaniu butyrylocholiny, zarówno po pierwszej, jak również po drugiej dawce nie stwierdzono dodatniej reakcji po 24 godzinach. Po 48 godzinach stwierdzono stopniowy wzrost aktywności cholinesterazy, przy czym między 96 a 120 godzin od chwili zastosowania leku nie stwierdzono zasadniczej różnicy w stosunku do kontroli.

Przy użyciu acetylocholiny, wykazano po 24 godzinach obniżenie się aktywności acetylocholinesterazy w płytkach nerwowych przepony o około 50% w stosunku do kontroli. Acetylocholinesteraza osiągnęła normalną wartość po około 72 godzinach od chwili zastosowania leku.

W drugiej serii doświadczeń na uwagę zasługuje fakt, że w włóknach mięśniowych, do których wniknęły włóśnie stwierdzono silniejszą reakcję w stosunku do włókien nie zarazonych. U myszy którym podano Tiguvon, przy użyciu butyrylocholiny jako substratu, powyższe zjawisko nie dało się zaobserwować, zarówno po pierwszej, jak i po drugiej dawce do 72 godziny. Po 72 godzinach dodatnią reakcję stwierdzono w tych włóknach, w których larwy włóśni pozostały żywe. Przy zastosowaniu acetylocholiny, dodatnią reakcję w zaatakowanych przez larwy włóśni mięśniach stwierdzono po 48 godzinach od chwili zastosowania leku. Nie potrafiąco jednak dokładnie zlokalizować dodatniej reakcji w larwach włóśni, zarówno w preparatach kontrolnych, jak również po zastosowaniu Tiguvonu. W tym celu wymagane są dalsze histologiczne badania nad lokalizacją cholinesterazy w larwach *T. spiralis*.

Omówienie

Założeniem przedstawionych badań było wyjaśnienie mechanizmu działania organicznych połączeń fosforu na żywiciela oraz larwy włóśni. Ramisz (1965) we wcześniejszym przeprowadzonych badaniach wykazał aktywną acetylocholinesterazę u dojrzałych płciowo włóśni. Do tej pory nie posiadamy żadnych doniesień na temat występowania aktywnej acetylocholinesterazy w larwach włóśni.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono przede wszystkim wyraźne hamujące oddziaływanie Tiguvonu na aktywność cholinesterazy oraz acetylocholinesterazy w płytkach nerwowych mięśni żywiciela. Należy jednak zaznaczyć, że cholinesteraza była dłużej i silniej blokowana, aniżeli acetylocholinesteraza. Ponadto należy zwrócić uwagę na wzmogoną aktywność acetylocholinesterazy oraz cholinesterazy we włóknach mięśniowych, do których włóśnie świeżo wniknęły. Również w około 60—70% ilości torebek włóśniowych stwierdzono aktywną reakcję. Aktywność cholinesterazy oraz acetylocholinesterazy, zarówno w torebkach włóśniowych, jak również we włóknach mięśniowych była hamowana przez użyty do doświadczeń preparat. W związku z powyższym nasuwa się podejrzenie, że mechanizm oddziaływania na włóśnie przy zastosowaniu Tiguvonu wynika z hamowania enzymatycznej aktywności cholinesterazy oraz acetylocholinesterazy. Do ostatecznego wyjaśnienia powyższego zagadnienia wymagane są dokładne badania enzymatycznych procesów zachodzących w systemie żywiciel — pasożyt. Dopiero wtedy można będzie odpowiedzieć na pytanie, czy organiczne połączenia fosforu oddziałują bezpośrednio na pasożyta, czy też wywierają wpływ pośredni, poprzez zaburzenia procesów przemiany materii w tkankach żywiciela, co może upośledzić normalne odżywianie włóśni. Przedstawione zagadnienia będą tematem dalszych badań. Przed tym należałoby jednak uzyskać więcej danych o procesach enzymatycznych zachodzących między żywicielem a włóśniami oraz w samej torebce pasożyta.

Przedstawione badania wyjaśniły w ogólnym zarysie mechanizm oddziaływania organicznych połączeń fosforu. Nadto nasunęły kilka innych problemów posiadających duże znaczenie w ostatecznym wyjaśnieniu przedstawionego zagadnienia.

Uzyskane wyniki dadzą się zebrać w następujących punktach:

1. Użyty do badań Tiguvon (Bayer) wpływa hamująco na cholinesterazę oraz acetylocholinesterazę płytek nerwowych mięśni zwierząt doświadczalnych. Na uwagę zasługuje fakt, że cholinesteraza była silniej i dłużej hamowana, niż acetylocholinesteraza.

2. We włóknach mięśniowych zaatakowanych świeżo przez larwy włośni stwierdzono zwiększoną aktywność cholinesterazy.

3. W 60—70% ilości torebek włośniowych wykazano również pozytywną reakcję.

4. W uszkodzonych przez Tiguvon torebkach włośniowych nie udało się wykazać dodatniej reakcji.

Piśmiennictwo

1. Baldwin E., Moyle V.: Brit. J. Pharmacol. 4:145—152, 1949.
2. Bueding E.: Brit. J. Pharmacol. 7:563—566, 1952.
3. Krotow A. I.: Bjull. Eksp. Biol. Med. 43:95—97, 1957.
4. Lamina J., Meilinger W., Schoop G.: Zbl. f. Bakteriolog. 124, 1966.
5. Lec D. L.: Parasitology 52:241, 1962.
6. Mellanby H.: Parasitology 45:287, 1955.
7. Pearse A. G. E.: Histochemistry (2nd Ed.). London J. a. A. Churchill Ltd., 1960.
8. Ramisz A.: Acta Parasitol. Pol. 13:205, 1965.
9. Rhode R. A.: Proc. Helm. Soc. Wash. 27:121, 1960.
10. Schoop G., Lamina J.: Monatsch. f. Tierheilkunde 11:167, 1959.
11. Schoop G., Lamina J.: Zbl. f. Bakteriolog. 186:562, 1962.
12. Schoop G., Lamina J.: Zbl. f. Bakteriolog. 187:391, 1962.

Adres autora: dr Alojzy Ramisz, Kraków, ul. Metalowców 2, WZHW.

Рамиш А., Лямина Я., Шоп Г. — Влияние препарата „Tiguvon Bayer” на активность холинестеразы и ацетилхолинестеразы у мышцей экспериментально инвазированных трихинеллами.

Исследовали механизм действия препарата „Tiguvon” при экспериментальной инвазии трихинеллами мышцей с инкапсулированными и странствующими личинками. Препарат применяли 2 раза с 6-ти дневным интервалом в количестве 0,2 мл, что отвечает 4 мг активного вещества. Установили, что понижает активность холинестеразы (X) и ацетилхолинестеразы (ах) нервных бляшек мышц. (Активность х и ах притом сильнее и больше торможена чем ах).

В капсулах личинок трихинелл положительную реакцию получили также с 2 субстратами — бутырилохолином и ацетилотиохолином. Надо однако отметить, что в капсулах поврежденных препаратом положительной реакции не установили.

Повышенную активность х и ах установили тоже в мышечных волокнах в которые свежо внедрились личинки трихинелл.

Авторы полагают, что действие препарата „Tiguvon” является результатом энзиматической активности х и ах но окончательное решение вопроса требует проведения дальнейших исследований.

Ramisz A., Lamina J., Schoop G. — The effect of Tiguvon (Bayer) on the activity of cholinesterase and acetylcholinesterase in mice experimentally infected with trichinosis.

Investigations were carried out on the mechanism of action of Tiguvon in mice infected with trichina in the form of encysted and migrating larvae. Tiguvon was given in 2 doses — at intervals of 6 days — in quantities of 0,2 ml corresponding to 4 mg of active substance.

It was found that Tiguvon inhibits the activity of cholinesterase and acetylcholinesterase of the nervous platelets of the muscles. Cholinesterase was more strongly, and for a longer time, inhibited that acetylcholinesterase.

In the encysted trichina a positive reaction was also observed with butyrylthiocholine and acetylthiocholine. It should, however, be noted that in the cysts damaged by Tiguvon a positive reaction was not observed.

In the muscle fibres to which the trichinosis larvae had just migrated, greater activity of cholinesterase and acetylcholinesterase was also noted.

In their final conclusions the authors suggest that the mechanism of action of Tiguvon on trichinosis larvae is a result of inhibition of the enzymatic action of cholinesterase and acetylcholinesterase.

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

JAN BOJARSKI, EDMUND PROST

Badania nad etiologią zmian martwicowych w wątrobach gęsi rzeźnych

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydz. Wet. WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr EDMUND PROST

Przemysł Jajczarsko-Drobiarski sygnalizował wielokrotnie w ostatnich latach o częstym stwierdzaniu charakterystycznych zmian anatomicznych w wątrobach gęsi rzeźnych. Zmiany powyższe określane jako martwicowe obserwowano przede wszystkim w wątrobie, a przy silniejszym natężeniu także w śledzionie i mięśniu sercowym. Są to niewielkie ogniska, wielkości ca. główki szpilki, związane ściśle z mięszem wątrobowym i występujące w formie rozlanej w całym narządzie. Intensywność występowania jest różna, przy czym niekiedy wątroby gęsi są wprost usiane ogniskami. W badaniu makroskopowym zmiany powyższe sprawiają wrażenie ognisk gruczolniczych

W podstawowym piśmiennictwie naukowym

brak jest jakichkolwiek danych na temat tego rodzaju zmian u gęsi i ich etiologii. Ostatnio ukazało się kilka polskich doniesień poruszających sprawę stwierdzanych zmian martwicowych w wątrobach gęsi rzeźnych. Częstość występowania tych zmian wahała się od 5,5% do 83,9%, przy czym na początku sezonu ubojowego obserwowano dużo rzadziej wymienione zmiany niż w okresie końcowym, co pozostawać ma w związku z wiekiem ubijanych gęsi (1, 2, 4).

Dotychczasowe próby wyjaśnienia etiologii nie dały pozytywnych wyników. Obserwacje zakładów przemysłowych zdają się wykluczać wpływ żywienia i tym samym przyczynę toksyczną; zmiany martwicowe w wątrobach