

ALOJZY RAMISZ, ANDRZEJ MAREK, DANIEL KULIG

## Przydatność Toksobidin „Polfa” w leczeniu zatruc zwierząt gospodarskich związkami fosforoorganicznymi

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Krakowie

Z Laboratorium Badawczego Krakowskich Zakładów Farmaceutycznych

Na terenie naszego kraju wzrasta z roku na rok potencjalne zagrożenie zatrucia zwierząt związkami fosforoorganicznymi. Już w tej chwili stwierdzono przypadki zatrucia ssaków domowych (1, 3, 9, 16, 17), ptactwa (1, 2, 4) i pszczoł (4). Sytuacja ta posiada swoje uzasadnienie we wzroście zużycia na terenie Polski związków fosforoorganicznych do zwalczania szkodników roślin oraz endo- i ektopasożytów zwierząt domowych.

Leczenie zatruc związkami fosforoorganicznymi napotyka u nas w kraju na pewne trudności. Obecnie stosuje się równoczesne podawanie atropiny z reaktywatorem acetylocholinoesterazy (AChE). Bardzo skutecznymi reaktywatorami AChE okazały się bispirydyniowe dwuoksymy. Przedstawicielem tej grupy związków jest Obidoxime, który oprócz tego, że jest skutecznym reaktywatorem, charakteryzuje się jeszcze bardzo małą toksycznością.

Krakowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” wyprodukowały preparat będący odpowiednikiem Obidoxime — Toksobidin, który we wstępnych badaniach okazał się również bardzo skutecznym reaktywatorem AChE.

Celem badań było ustalenie przydatności Toksobidin do leczenia zatruc związkami fosforoorganicznymi zwierząt domowych (trzody chlewnej, owiec i królików).

### Materiali i metody

Badania przeprowadzono ogółem na 30 warchlakach o wadze 15–35 kg, 48 owcach w wieku 4–6 miesięcy oraz 30 królikach o wadze około 2 kg. Z grupy związków fosforoorganicznych użyto do badań Paraoxon (synonimy — E 600, Mintacol) o wzorze sumarycznym  $C_{10}H_{14}O_6NP$  oraz Neguvon (synonimy — Dipterox, Trichlorophon, Dylox) o wzorze sumarycznym  $C_4H_8O_4Cl_3P$ .

W wyniku wstępnych badań ustalono, że Paraoxon w dawce 1,5 mg na kg c.c., podany podskórnie jest dawką absolutnie śmiertelną dla badanych gatunków zwierząt. Do iniekcji preparat przygotowywano w ten sposób, że rozpuszczano go w 95% alkoholu etylowym, z którego następnie sporządzano 10% roztwór wodny. Badania z Neguvonem przeprowadzono jedynie na 18 owcach. Preparat podawano doustnie, w roztworze wodnym, w dawce 350 mg na kg c.c. Zgodnie z badaniami Hass'a (12) jest to dawka zbliżona do  $LD_{50}$  (400 mg/kg).

Po doświadczalnym zatruciu zwierząt Paraoxonem, Toksobidin podawano dootrzewnowo, domięśniowo i dożylnie, w roztworze fizjologicznym, w dawce 15 mg

na kg c.c. Badania prowadzono w 3 grupach w zależności od sposobu podania Toksobidin. Każda grupa składała się z 8 zwierząt, przy czym 6 zwierzętom podano Paraoxon i Toksobidin, jednemu tylko Paraoxon, a jednemu tylko Toksobidin. Badania powtórzone po 4–6 tyg. używając zwierząt wyleczonych po pierwszym doświadczeniu. Toksobidin podano zwierzętom po wystąpieniu pierwszych objawów chorobowych (ślinienie, drgawki). Po dwóch tygodniach po zakończeniu doświadczenia zwierzęta, które przeżyły powróciły do stada.

Po zastosowaniu Neguvonu, Toksobidin podano jedynie dożylnie i domięśniowo, w dawce 15 mg na kg c.c. Badania przeprowadzono w 2 grupach po 9 zwierząt, przy czym 6 zwierzętom podano tylko Neguvon i Toksobidin, a 3 owcom tylko Neguvon.

Badania nad toksycznością Toksobidin zostały przeprowadzone na myszach białych szczepu Albino swiss obu płci, o wadze 18–22 g. Toksobidin podawano dożylnie, dootrzewnowo i doustnie pod postacią 10% roztworu w płynie fizjologicznym. Obserwacje zwierząt prowadzono przez 24 godziny po iniekcjach dożylnych oraz przez 96 godzin po dootrzewnowym i doustnym stosowaniu. Wartość  $LD_{50}$  dla Toksobidin obliczono metodą Litchfield'a-Wilcoxon'a (18).

Tab. 1. Skuteczność Toksobidin w dawce 15 mg/kg c.c. w leczeniu doświadczalnych zatruc Paraoxonem u trzody chlewnej, owiec i królików

Gatunek zwierzęcia	Ilość zwierząt	Zwierzęta leczone		Zwierzęta kontrolne	
		Ilość wyleczonych	Ilość Paraoxon	Toksobidin	
<i>Wyniki leczenia po dootrzewnowym podaniu Toksobidin</i>					
Trzoda chlewna	14	11	3	2 (2)	1
Owce	14	11	3	2 (2)	1
Króliki	20	16 (15*)	4	2 (2)	2
<i>Wyniki leczenia po dożylnym podaniu Toksobidin</i>					
Trzoda chlewna	14	11	3	2 (2)	1
Owce	14	11	3	2 (2)	1
<i>Wyniki leczenia po domięśniowym podaniu Toksobidin</i>					
Trzoda chlewna	14	11	3	2 (2)	1
Owce	14	11	3	2 (2)	1
Króliki	20	15	4	2 (2)	2

Objaśnienie: \* = w nawiasach podano ilość padłych zwierząt.

### Wyniki

Wyniki badań zebrano w tab. 1 i 2. Ustalono, że Toksobidin produkcji Krakowskich Zakładów Farmaceutycznych „Polfa” charakteryzuje się wysoką skutecznością przy zatruciach zwierząt związkami fosforoorganicznymi. W dawce 15 mg na kg c.c. preparat chronił przed śmiercią zwierzęta doświadczalne, którym podano Paraoxon w dawce 1,5 mg na kg c.c. W wyniku wstępnych badań stwierdzono, że była to absolutnie śmiertelna dawka Paraoxonu dla badanych gatunków zwierząt (trzody chlewnej, owiec i królików). Godnym podkreślenia jest

fakt, że Toksobidin podawano po wystąpieniu u badanych zwierząt objawów zatrucia (ślinienie, drgawki).

Również z grupy owiec, która otrzymała doustnie Neguvon, w dawce zbliżonej do LD<sub>50</sub> (350 mg na kg c.c.) nie padło żadne zwierzę po podaniu Toksobidin (tab. 2). W tej grupie doświadczalnej ze zwierząt kontrolnych, które otrzymały tylko Neguvon padły 3 owce na 4 użyte do badań.

Tab. 2. Skuteczność Toksobidin w dawce 15 mg/kg c.c. w leczeniu owiec eksperymentalnie zatrutych Neguvonem (350 mg/kg c.c.)

Sposób podania Toksobidin	Ilość zwierząt	Zwierzęta leczone		Zwierzęta kontrolne	
		Ilość wyleczonych	Ilość	Neguvon	Toksobidin
dożylnie	9	6	6	6	4(3)*
domięśniowo	9	6	6	6	2

Objaśnienie: \* = w nawiasie podano ilość zwierząt padłych.

Na uwagę zasługuje fakt, że sposób podawania Toksobidin nie posiada większego wpływu na jego skuteczność. Nie stwierdzono większych różnic po dożylnym a dootrzewnowym i domięśniowym podaniu preparatu (tab. 1).

Toksobidin charakteryzuje się ponadto bardzo korzystnym wskaźnikiem bezpieczeństwa. W wyniku przeprowadzonych badań na myszach białych ustalono, że LD<sub>50</sub> po dożylnym podaniu preparatu wynosi 75,5 (67—78) mg na kg c.c., a po dootrzewnowym 150 (135—164) mg na kg c.c. Po doustnym podaniu Toksobidin LD<sub>50</sub> wynosiła 2350 (2100—2650) mg na kg c.c.

### Omówienie

Nowoczesne leczenie zatruc związkami fosforoorganicznymi opiera się aktualnie na stosowaniu skutecznych odtrutek — reaktywatorów acetylocholinoesterazy (AChE) z atropiną. Atropina blokuje bowiem transmisję impulsów nerwowych układu parasympatycznego do komórek efektorowych, znosi więc objawy muskarynopodobne. Reaktywatory AChE zaś powodują rozbitcie kompleksu związku fosforoorganicznego z enzymem i przez połączenie z resztą fosforową reaktywują enzym.

Bardzo skutecznymi reaktywatorami okazały się preparaty z grupy oksymów. Jednym z pierwszych preparatów z tej grupy, który znalazł zastosowanie w leczeniu zatruc związkami fosforoorganicznymi był metylojodek 2-pirydynoaldoksynu syn. 2-PAM (5, 15, 21, 23). Bardzo skutecznymi reaktywatorami okazały się również inne pirydynowe aldoksyny, a mianowicie metylosulfonian 2-pirydynoaldoksymu (P-2-S) oraz chlorek PAM (7, 8, 14, 19).

Bispirydynowe dwuoksymy, których przedstawicielem jest Obidoxime (nazwa handlowa Toksogonin), charakteryzują się bardzo skutecznymi parametrami. Obidoxime jest bowiem nie tylko bardzo skutecznym reaktywatorem, ale

okazał się również dużo mniej toksyczny od wyszczególnionych wcześniej preparatów.

Do grupy bispirydynowych dwuoksymów należy również Toksobidin (odpowiednik Obidoxime) produkcji Krakowskich Zakładów Farmaceutycznych „Polfar”. Wstępne badania przeprowadzone na myszach zwróciły uwagę, że preparat ten jest bardzo skutecznym reaktywatorem AChE. Po podaniu Paraoxonu równocześnie z Toksobidin aktywność AChE w płytkach ruchowych mięśni poprzecznie prążkowanych była hamowana tylko w około 20% w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Natomiast po zastosowaniu tylko Paraoxonu aktywność AChE w płytkach ruchowych była hamowana w 60—70%. Należy równocześnie podkreślić, że już w dawce 6 mg na kg c.c. Toksobidin działał w pełni ochronnie na myszy, które otrzymały śmiertelną dawkę Paraoxonu.

Niniejsze badania potwierdziły wcześniej poczynione obserwacje (20). Toksobidin okazał się wyjątkowo skuteczną odtrutką przy zatruciach zwierząt doświadczalnych związkami fosforoorganicznymi. W dawce 15 mg na kg c.c. preparat chronił przed śmiercią zwierzęta doświadczalne, którym podano podskórnie absolutnie śmiertelną dawkę Paraoxonu (1,5 mg na kg c.c.). Należy podkreślić, że do 10 minut po wyszczególnionej dawce Paraoxonu padły wszystkie zwierzęta kontrolne.

Godnym podkreślenia jest fakt, że sposób podawania Toksobidin nie posiada większego wpływu na jego skuteczność. Posiada to istotne znaczenie dla praktyki weterynaryjnej, ponieważ u zwierząt małych lub młodych, u których wystąpiły objawy zatrucia (drgawki) mogą istnieć trudności przy dożylnym podaniu preparatu. Z tej przyczyny padły 2 zwierzęta — warchlak i owca w doświadczeniu po dożylnym stosowaniu Toksobidin (tab. 2).

Badania nad toksycznością wykazały, że swoimi właściwościami Toksobidin nie odbiega od wskaźników podanych dla Obidoxime (10, 11). LD<sub>50</sub> po dożylnym podaniu preparatu wynosi dla myszy 75,5 mg na kg c.c. a dla Obidoxime (Toxogonin) 70 mg na kg c.c. Przy doustnym podaniu LD<sub>50</sub> dla Toksobidin wynosiło 2550 mg na kg c.c. a dla Toxogonin 2240 mg na kg c.c. Z badań nad toksycznością wynika równocześnie, że Toksobidin posiada bardzo korzystny wskaźnik bezpieczeństwa. Przy dożylnym podaniu preparatu LD<sub>50</sub> przewyższało 5-krotnie a przy dootrzewnowym 10-krotnie stosowaną dawkę leczniczą (15 mg na kg c.c.).

Najbardziej przydatną postacią dla użytku weterynaryjnego byłby roztwór Toksobidin w płynie fizjologicznym. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że roztwory takie będą charakteryzować się dużą trwałością. Christenson (6) wykazał bowiem, że Toksobidin w 10% roztworze wodnym, o pH 3, w temperaturze 25°C straci 10% swojej aktywności dopiero po około 100 latach.

## Wnioski

1. Toksobidin produkcji Krakowskich Zakładów Farmaceutycznych jest skutecznym reaktywatorem acetylocholinoesterazy i może znaleźć praktyczne zastosowanie w leczeniu zwierząt związkami fosforoorganicznymi.

2. W wyniku przeprowadzonych badań ustalono, że najodpowiedniejszą dawką Toksobidin w leczeniu zwierząt jest 15 mg na kg c.c.

3. Najbardziej przydatną postacią dla użytku weterynaryjnego byłby roztwór Toksobidin w płynie fizjologicznym.

## Piśmiennictwo

1. Bubiń Z.: *Medycyna Wet.* 21, 734, 1965.
2. Bubiń Z., Kotz J.: *Medycyna Wet.* 22, 294, 1966.
3. Bubiń Z.: *Medycyna Wet.* 27, 311, 1971.
4. Bubiń Z., Mostafa el Herrawie: *Medycyna Wet.* 29, 529, 1973.
5. Childs A., Davies D., Green A., Rutland J.: *Brit. J. Pharm. Chemother.* 19, 462, 1955.
6. Christensen J.: *Acta Pharm. Scienc* 5, 249, 1968.
7. Crook J.: *J. Pharmacol. Experimental Ther.* 136, 397, 1962.
8. Davies D., Green A., Willey G.: *Brit. J. Pharm. Chemother.* 14, 5, 1959.
9. Dziekoński J., Poznański I.: *Medycyna Wet.* 28, 621, 1972.
10. Engelhard H., Erdmann W.: *Arzneimittelforsch.* 14, 6, 1964.
11. Engelhard H., Erdmann W.: *Arzneimittelforsch.* 14, 870, 1964.
12. Hass D. K.: *Topics Med. Chem.* 3, 171, 1970.
13. Hirnłowa L., Pater W., Gola A.: *Pol. Tyg. lek.* 31, 1167, 1965.
14. Holmes J.: *Arch. Envir. Hlth.* 9, 445, 1964.
15. Kewitz H., Wilson J., Nachmansohn D.: *Arch. Biochem. Biophys.* 64, 456, 1956.
16. Kossakowski S., Kujawski J.: *Medycyna Wet.* 21, 513, 1965.
17. Kossakowski S., Patyra S., Stryczek J.: *Medycyna Wet.* 29, 524, 1973.
18. Litchfield J. T., Wilcoxon F. J.: *J. Pharmacol. Experiment. Ther.* 96, 99, 1949.
19. O'Leary J., Kunkel A., Jones A.: *J. Pharmacol. Experiment. Ther.* 132, 50, 1961.
20. Ramisz A., Szańkowska Z., Kulig D.: *Bromatol. Chem. Toksykol. (w druku).*
21. Rutland J.: *Brit. J. Pharmacol.* 13, 399, 1958.
22. Szewczykowski W., Brzozowski J., Wolański J., Berbec W.: *Pol. Tyg. lek.* 9, 310, 1965.
23. Wilson I., Ginsburg S.: *Biochem. Biophys. Acta* 18, 163, 1955.

Adres autora: doc. dr Alojzy Ramisz, ul. Brodowicza 13, 31-518 Kraków.

**BANGELSDORF H. J., LOHR J. E.:** Szczepienie kurczątków żywą szczepionką przeciwko niektórym szczepom wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli izolowanym w Nowej Zelandii. (Vaccination of young chickens with live vaccine against some New Zealand isolates of infectious bronchitis virus). *N. Z. Vet. J.*, 23, 85—94, 1975 (5).

Przebadano w warunkach laboratoryjnych w teście precypitacji w żelu agarowym, odczynie seroneutralizacji i teście zakażeń sztucznych skuteczność szczepionki przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli (Resprovac I i Resprovac II). Badania przeprowadzono na dwóch grupach kurcząt. Kurczęta z grupy pierwszej szczepiono szczepionką Resprovac I, doszczepiano po 5 tygodniach szczepionką Resprovac II i poddano challenge zjadliwym szczepem wirusa w wieku 13 tygodni. Drugą grupę kurcząt zaszczepiono w wieku 30 dni szczepionką Resprovac II i zakażono po 4 tygodniach dotchawicowo zjadliwym szczepem wirusa. Badania wykazały, że szczepienie kurcząt dwoma szczepionkami opartymi o dwa różne typy wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli (szczep New Zealand i szczep German) przewyższają skutecznością jednorazowe szczepienia szczepionką opartą o szczep Massachusetts.

G.

**Рамиш А., Марэк А., Кулиг Д. — Эффективность препарата Toksobidin „Polfa” при лечении фосфоорганических интоксикаций домашних животных.**

Исследования провели на 30 подсвинках, 48 4—6-месячных овцах и на 30 кроликах весом ок. 2 кг. Из фосфоорганических соединений применили препараты Paraoxon и Neguvon. Paraoxon подавали животным подкожно по 1,5 мг на кг ж.в., а Neguvon — перорально, в водном растворе по 350 мг на кг ж.в. Токсобидин вводили животным после появления первых симптомов заболевания по 15 мг на кг ж.в. внутримышечно, интравенозно и интраперитонеально.

В результате проведенных исследований установили, что Токсобидин в дозе 15 мг на кг ж.в. производства Краковской фармацевтической фабрики „Polfa” является эффективным реактиватором ацетилхолинэстеразы. Внимания заслуживает факт, что метод введения препарата (интраперитонеально, интравенозно и внутримышечно) не влияет существенным образом на его эффективность. Препарат Токсобидин характеризуется малой токсичностью: LD<sub>50</sub> для мышей при интравенозном введении равняется 75 мг/кг ж.в., а при пероральном — 2550 мг/кг ж.в.

**Ramisz A., Marek A., Kulig D. — The usefulness of Toksobidin „Polfa” in the treatment of intoxications due to phosphoorganic compounds in domesticated animals.**

The studies were performed on 30 gilts, 48 sheep aged 4—6 months and 30 rabbits at the weight about 2.0 kg with Paraoxone and Neguvone (phosphoorganic compounds). The animals were given Paraoxone subcutaneously at the dose of 1.5 mg/kg of body weight, and Neguvone orally in water solutions at the dose of 350 mg/kg of body weight. The treatment with Toksobidin „Polfa” at the dose of 15 mg/kg of body weight started after the appearance of the first signs of intoxication. The drug was applied im. iv and ip. On the basis of the studies it was stated that Toksobidin produced by the Krakowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” at the dose of 15 mg/kg of body weight appeared to be effective reactivator of acetylcholinesterase. It is worthy of notice that a route application of the drug did not influence its therapeutic efficacy. Toksobidin „Polfa” is of little toxicity, and ID<sub>50</sub> for mice after iv or oral application was 75 mg and 2550 mg/kg of body weight, respectively.

**SHIFRINE M., PAPPAGIANIS D., NEVES J.:** Test dwukierunkowej elektroimmunodiffuzji: szybki test diagnostyczny do wykrywania kokcydiodomykozy. (Double electroimmunodiffusion: a rapid diagnostic test for canine coccidiodomycosis). *Am. J. vet. Res.*, 36, 819—823, 1975 (6).

Kokcydiodomykoza występuje enzoootycznie u psów w części zachodniej i południowo-zachodniej USA. Rozpoznanie kliniczne choroby wymaga często potwierdzenia badaniami serologicznymi. Autorzy zastosowali odczyn immunoelektroforezy dwukierunkowej do wykrywania w surowicy psów przeciwciał przeciwko *Coccydiaeides immitis*. Rozdział elektroforetyczny przeprowadzono na płytkach pokrytych agarozą w buforze barbitalowym 0,075 M o pH 8,4 w ciągu 30 minut przy natężeniu 15 ma i napięciu 110 V. Jako antygen stosowano wyciąg TS 58 z *C. immitis* rozcieńczony 1:10. Najlepsze wyniki uzyskiwano po przeprowadzeniu wstępnego rozdziału elektroforetycznego antygeny przez okres 15 minut. Po dodaniu surowicy rozdział elektroforetyczny kontynuowano przez dalsze 15 minut. Surowice psów, u których zdiagnozowano chorobę reagowały dodatnio zarówno w odczynie immunoelektroforezy jak i w odczynie wiązania dopełniacza.

G.