

Витковски А. — Полиэмбриональность в яйцах одной самки японского перепела.

Провели анализ количества замерших во время инкубации эмбрионов яиц японского перепела. Установили, что полиэмбриональность и некоторые другие пороки индивидуального развития проявились чаще среди инкубируемых и замерших 35 яиц от самки № 329, чем среди 353 таких же яиц снесенных другими самками. Обсудили причины возникновения двойной и других дубликаций. Автор предполагает возможность участия генетических факторов в возникании полиэмбриональности.

Witkowski A. — A case of polyembryony in the eggs of the same female of Japanese quail.

The examinations concerned dead eggs originating from one of the females of Japanese quail. It was found the occurrence of polyembryony and developmental anomaly more frequent among 35 dead and unhatched eggs from the female No 329 than in 353 eggs originating from other quails. The reasons of the twinning and other duplicities have been discussed. The case presented points to the possibility of the participation of genetic factors in the polyembryony arising.

PATOLOGIA I TERAPIA

JANUSZ WAWRZKIEWICZ, KRYSZYNA WAWRZKIEWICZ

Stężenie Erytrovetu w surowicy i narządach wewnętrznych kur po podaniu dowolowym i domięśniowym*)

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Celem obniżenia strat gospodarczych, wywołanych głównie przez drobnoustroje warunkowo-chorobotwórcze w czasie produkcji w warunkach dużego zagęszczenia zwierząt, Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne opracowały nowy lek o nazwie Erytrovet**), który jest rodkaniem erytromycyny. Jest to preparat w postaci proszku barwy różowo-beżowej o zapachu goździków. Erytrovet dobrze rozpuszcza się w wodzie, a tym samym powinien dobrze wchłaniać się z przewodu pokarmowego po jego dostępnym stosowaniu.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 74 kurach o ciężarze ciała od 1,5—2,0 kg (jedynie badania wstępne przeprowadzono na kurach o wadze 4,0 kg). Ptaki zakupione w Zakładach Jajczarsko-Drobiarskich w Lublinie przetrzymywano przed badaniem przez 48 godzin, podając im ziarno, chleb i wodę.

W ten sposób dysponowano kurami nie wykazującymi uchwytnych klinicznie odchyłań od normy jak również nie leczonymi przed nastawionymi badaniami jakimikolwiek preparatami.

Erytrovet rozpuszczony w 0,85% roztworze NaCl podawano:

1. domięśniowo w ilości 0,5 g, tj. 25 000 j./kg ż.c.c. (22 sztuki kur),

2. doustnie w ilości 1,0 g, tj. 50 000 j./kg ż.c.c. (22 sztuki kur) oraz 2,0 g, tj. 100 000 j./kg ż.c.c. (22 sztuki kur).

Oznaczanie poziomu erytromycyny

Stężenie erytromycyny w badanych próbkach określano metodą dyfuzyjno-plytkową (2).

a) Przygotowanie płytek do oznaczeń

Do oznaczania antybiotyku stosowano płytki Petriego o średnicy 100 mm. Na płytki wylewano po 10 ml podstawowego podłoża agarowego i pozostawiano w temperaturze pokojowej do zastygnięcia. Następnie na

pierwszą warstwę agaru nalewano 4 ml w/w podłoża agarowego zmieszanego z zawiesiną odpowiednich drobnoustrojów.

W zestawionym agarze wycinano otwory o średnicy 12 mm, których dno pokrywano cienką warstwą podłoża.

b) Przygotowanie szczepów testowych

Badanie przeprowadzono w oparciu o szczepy wzorcowe *S. lutea* ATCC 9341 i *Staph. aureus* 209-P. Wyjściową 24-godziną hodowlę szczepu testowego rozcieńczano w ten sposób, by końcowe stężenie zarazka w podłożu wynosiło 1 : 2000.

c) Krzywa wzorcowa

Podstawowy roztwór sporządzano przez rozpuszczenie 40 mg Erytrovetu w 20 ml płynu fizjologicznego otrzymując stężenie 100 j. erytromycyny w 1 ml płynu.

Następnie roztwór ten rozcieńczano tak, aby otrzymać stężenia: 5 j., 4 j., 3 j., 2 j., 1 j., 0,75 j., 0,5 j., 0,25 j., 0,062 j., 0,031 j., 0,015 j., oraz 0,0075 j. erytromycyny w 1 ml. Posłużyły one do wykreślenia krzywej wzorcowej (1, 3). Celem uniknięcia błędów, związanych z ewentualną zmianą aktywności Erytrovetu w poszczególnych okresach przeprowadzanych badań, kontrolowano każdorazowo jego aktywność i porównywano strefy zahamowania z wartościami na krzywej wzorcowej.

d) Podawanie preparatu i pobieranie próbek do badań

Erytrovet podawano do woła za pomocą sondy lub w formie iniekcji w mięśnie klatki piersiowej. Po 1, 2, 4, 8, 12, 24 i 48 godzinach po podaniu leku kury wykrwawiano i do badań pobierano próbki krwi, mięśni, serca, płuc, wątroby, śledziony, nerki, woreczka żółciowego, treści jelita cienkiego i grubego. Odważano po 0,6 g określonej tkanki i rozdzielano do trzech baseneków. W przypadku surowicy, do poszczególnych baseneków wlewano po 0,2 ml płynu. Kontrolę stanowiły: analogiczne próbki pobrane od sztuk zdrowych, którym nie zadawano leku oraz podłoża z *S. lutea* i określonymi stężeniami rodkanu erytromycyny, stanowiące wskaźnik czułości zastosowanego testu dla każdej serii badań.

e) Odczytywanie wyników

Wyniki odczytywano po 20 godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C mierząc cyrklem strefy zahamowania wzrostu zarazka testowego. Stężenie preparatu w próbkach obliczano biorąc pod uwagę średnie strefy

*) Praca finansowana przez Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa”.

**) 1 g Erytrovetu zawiera 50 000 jm rodkanu erytromycyny w przeliczeniu na zasadę.

zahamowania, powstałe pod wpływem działania leku w 9 badanych równoległych próbkach (po 3 od każdego ptaka).

Srednie strefy zahamowania szczepu wzorcowego, pod wpływem działania różnych stężeń Erytrovetu, stanowiły punkt odniesienia dla każdej serii badań i porównywania z krzywą standardową. Miarą rozrzutu wartości od średniej arytmetycznej było odchylenie standardowe.

Wyniki i omówienie

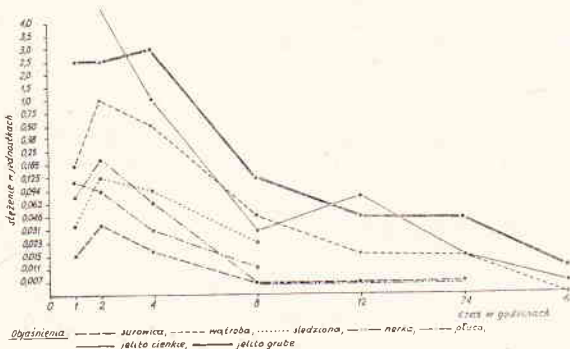
Badania wstępne przeprowadzono na 8 kurach rasy White-Rock o wadze ok. 4 kg każda. Podzielono je na 3 grupy (po 2 sztuki w każdej plus 2 kontrolne) podając im lek domięśniowo w dawce 0,5 g/1 kg *z.c.c.* oraz dowolowo w ilości 0,5 g i 2 g na 1 kg żywej wagi.

Doświadczenie to stanowiło podstawę do przeprowadzenia eksperymentu na grupach reprezentatywnych. Wykazało ono, że domięśniowe podanie antybiotyku w dawce 0,5 g/kg *z.c.c.* pozwala na wykrycie preparatu w surowicy i narządach wewnętrznych po 1, 2, 4 i 8 godz. od chwili podania leku.

Natomiast zastosowanie preparatu do wola w tej samej dawce było niewystarczające do wykazania antybiotyku w surowicy badanych kur przy ocenie aktywności leku w stosunku do *Staph. aureus*. Dopiero przy zwiększonej dawce Erytrovetu (2 g/kg *z.c.c.*) preparat był wykrywalny w surowicy i narządach wewnętrznych. Biorąc pod uwagę zdecydowanie niższą wrażliwość szczepu *Staph. aureus* na erytromycynę w porównaniu do użytego szczepu *S. lutea* dalsze oznaczenia dokonywano wyłącznie w odniesieniu do standardowego szczepu *S. lutea*.

1. Podanie Erytrovetu do wola

Badanie przeprowadzono na 2 grupach kur po 21 sztuk każda, którym podawano indywidualnie do wola preparat w dawce 1 g/kg *z.c.c.* oraz 2 g/kg *z.c.c.* Wyniki pierwszych badań ilustruje ryc. 1. Zdecydowanie najwyższe stężenie leku, utrzymujące się przez okres 12 godzin, stwierdzono w treści przewodu pokarmowego. Po 24 godz. ilość antybiotyku wyraźnie spada, szczególnie w treści jelita cienkiego, by po 48 godzinach ulec prawie całkowitemu zanikowi. Nieznaczne ilości Erytrovetu wykazano po tym czasie w treści jelita grubego.

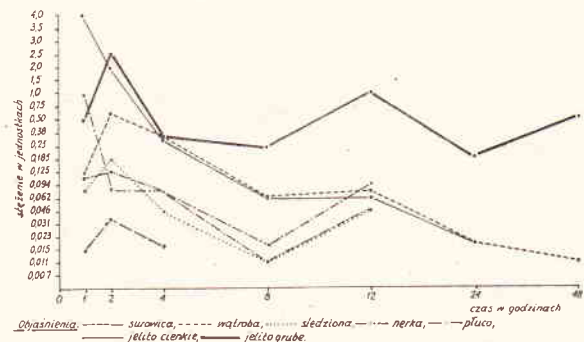


Ryc. 1. Stężenie Erytrovetu w tkankach kur po dowolnym podaniu preparatu w dawce 1 g/kg *z.c.c.*

Podobnie jak przy domięśniowym podaniu Erytrovetu, znaczne stężenie preparatu notowano w wątrobie, śledzionie i nerkach, zwłaszcza w pierwszych czterech godzinach po podaniu erytromycyny. Po 8 godzinach jedynie w wątrobie obserwowano dość znaczne stężenie leku; po 12 godzinach już tylko śladowe ilości preparatu stwierdzono w wątrobie i nerkach.

W surowicy antybiotyk osiągał swe maksymalne wartości w ciągu pierwszych 2 godzin po zadaniu leku; począwszy od 8 godziny preparatu już nie wykryto.

Podanie kurom dwukrotnie wyższej dawki Erytrovetu (2 g/kg *z.c.c.*) praktycznie nie wpłynęło w istotny sposób na poziom leku w badanych próbkach, przedłużając jedynie czasokres jego wydalania (ryc. 2). Analogicznie jak w grupie poprzedniej, najwyższe stężenia antybiotyku notowano w treści przewodu pokarmowego, przy czym spadek preparatu zaobserwowano tutaj dopiero po 24 godzinach w jelicie cienkim. Natomiast w treści jelita grubego wysoką koncentrację Erytrovetu obserwowano jeszcze po 2 dobach po podaniu leku.



Ryc. 2. Stężenie Erytrovetu w tkankach kur po dowolnym podaniu preparatu w dawce 2 g/kg *z.c.c.*

Podobnie też kształtowała się zawartość Erytrovetu w poszczególnych narządach, osiągając duże stężenie w wątrobie, nerkach i płucach przez okres pierwszych 4 godzin. W 8 godzinie dość znaczne stężenie preparatu wykrywano głównie w wątrobie. W 12 godzinie badania stwierdzono ponowny wzrost stężenia erytromycyny w woreczku żółtkowym, płucach, wątrobie, śledzionie i nerkach. Po 24 godzinach śladowe ilości Erytrovetu wykazywano tylko w wątrobie.

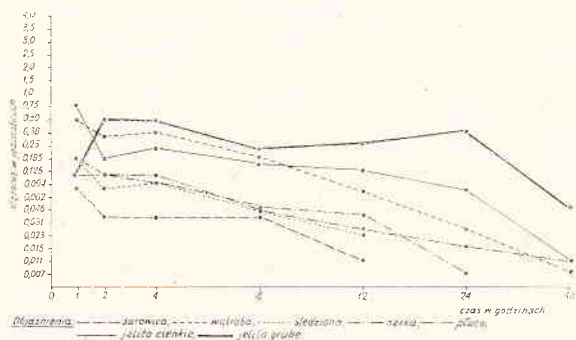
Najwyższe stężenie leku w krwiobiegu notowano, podobnie jak w grupie poprzedniej, po 2 godzinach od momentu podania; po 4 godzinach zawartość erytromycyny wyraźnie spadła, a po 8 godzinach nie udało się wykryć jej nawet w ilościach śladowych.

Powyższe dane zdają się wskazywać, że dawka lecznicza Erytrovetu przy podaniu *per os* waha się w granicach 1—2 g/kg *z.c.c.*, przy czym lek winien być zadawany 2—3 krotnie w ciągu doby.

Na uwagę zasługuje fakt krótkotrwałej obecności antybiotyku w bardzo niskim stężeniu w tkance mięśniowej. Podanie leku w ilości zarówno 1 g jak 2 g/kg ż.c.c. pozwala na wykazanie jego śladowych ilości jedynie w pierwszych 2 godzinach badania. Stwierdzenie to posiada dość duże znaczenie praktyczne. W przypadkach bowiem konieczności likwidacji hodowli po uprzedniej terapii Erytrovetem, mięso drobiu (kur) może być wykorzystane dla celów spożywczych bez obawy ubocznego szkodliwego działania erytromycyny na organizm człowieka.

2. Domięśniowe podanie Erytrovetu

W grupie kur obejmującej 21 sztuk, którym zastosowano Erytrovet domięśniowo w dawce 0,5 g/kg, stwierdzono zarówno w surowicy, jak i w poszczególnych narządach wewnętrznych, tkance mięśniowej, a także w treści przewodu pokarmowego obecność antybiotyku. Stężenie preparatu kształtowało się na różnym poziomie w zależności od czasu, jaki upłynął od momentu iniekcji do chwili badania i rodzaju próbki. Dokładne dane ilustruje ryc. 3.



Ryc. 3. Stężenie Erytrovetu w tkankach kur po domięśniowym podaniu preparatu w dawce 0,5 g/kg ż.c.c.

Najwyższe stężenie Erytrovetu notowano w jelitach, wątrobie, śledzionie, nerkach oraz płucach przez okres 4 godzin po iniekcji. Między 8 a 12 godziną koncentracja antybiotyku w jelitach, wątrobie i płucach była nadal dość wysoka, po 24 godzinach Erytrovet wykrywalny był nadal w jelitach oraz wątrobie, a po 48 godzinach jedynie w jelitach grubych. Śladowe ilości preparatu stwierdzano w tym czasie tylko w nerkach, jelitach cienkich i w wątrobie.

W surowicy najwyższe stężenie antybiotyku wykazano przez pierwsze 4 godziny. W 8 godzinie u dwóch kur zaobserwowano spadek stężenia leku, a po 12 godzinach u wszystkich badanych sztuk Erytrovet wykrywano jedynie w ilościach śladowych. Obecność antybiotyku w mięśniach wykazano dopiero po 2 godzinach od iniekcji, przy czym jego najwyższe stężenie stwierdzano między 2—4 godziną.

Jedynie u jednej sztuki, która wykazała znacznie wyższe stężenia antybiotyku we wszystkich badanych próbkach (w porównaniu do kur tej samej grupy) stwierdzano w mięśniach dużą

koncentrację Erytrovetu także w 8 godzinie badania. Ślady preparatu wykrywano jeszcze po 24 godzinach.

Uzyskane wyniki wykazują że:

1. Jednorazowe parentalne podanie Erytrovetu w dawce 0,5 g/kg wagi ciała pozwala na uzyskanie leczniczych stężeń leku w jelitach i wątrobie przez okres około 8 godzin.

W związku z tym w przypadku terapeutycznego stosowania Erytrovetu preparat winien być podawany tą drogą przynajmniej 3-krotnie w ciągu doby.

2. Duża koncentracja antybiotyku w płucach, wątrobie i jelitach wskazuje na możliwość uzyskiwania dobrych efektów leczniczych przy użyciu Erytrovetu w przypadkach pewnych schorzeń bakteryjnych układu oddechowego i pokarmowego.

Należy podkreślić, że zarówno w tkankach jak i w treści przewodu pokarmowego kur kontrolnych (5 sztuk) nie wykazano obecności substancji hamujących wzrost *S. lutea*. Ponadto aktywność Erytrovetu w okresie 3 miesięcy przechowywania preparatu w temperaturze +4°C nie uległa zmianie.

Reasumując należy stwierdzić, że Erytrovet jest preparatem dobrze rozpuszczalnym w wodzie, trwałym (w temp. +4°C) wchłania się stosunkowo łatwo z przewodu pokarmowego kur i utrzymuje się w stężeniach terapeutycznych w niektórych narządach przez okres 4, a niekiedy 8 godzin.

Uzyskane wyniki zachęcają z jednej strony do przeprowadzenia analogicznych badań na innych gatunkach ptaków i ssaków, z drugiej zaś upoważniają do wypróbowania terapeutycznego działania leku na kurach w warunkach terenowych.

Piśmiennictwo

1. Baker F. J.: Handbook of Bacteriological Technique Butterworths, London, 1967.
2. Rose S. B., Müller R. E.: J. Bacteriol. 38. 525 i 539, 1939.
3. Woźniak W.: Mikrobiologiczne metody badania leków i materiałów biologicznych, PZWL 1973.

Adres autora: doc. dr habil. Janusz Wawrzkiwicz, ul. Chrobrego 1/19, 20-611 Lublin.

CHOU C. C., MARTH E. H.: Radioaktywność w moczu i kale norek (*Mustella vison*) poddanych działaniu aflatoksyny B₁ znakowanej C¹⁴. (Radioactivity in urine and feces of mink (*Mustella vison*) treated with C¹⁴ aflatoxin B₁). Archives Toxicol., 35, 75—81, 1976 (2).

Przebadano radioaktywność moczu i kału norek którym podano w iniekcjach dootrzewnowych aflatoksynę B₁ znakowaną radioaktywnym węglem w dawce 150 i 25 µg/kg wagi ciała. Samice które otrzymały dawkę 25 µg/kg aflatoksyny wydzielały w ciągu 7 dni 89,5% z organizmu w tym w kale 56,8%, w moczu 32,7%. Samce zaś wydalały 85% aflatoksyny w tym okresie czasu (z kałem 63,6%, z moczem 21,4%). Po dawce 150 µg/kg wagi ciała w okresie 7 dni od 76,9% do 80,1% radioaktywności zostało wydalone z organizmu. Niezależnie od płci i wysokości dawki aflatoksyny, największe jej ilości były wydalone w ciągu pierwszych 24 godzin po podaniu.

G.