

# Zatrucie indyków narazyną

IWONA SZYMANEK-BANY, TERESA SZPRENGIER-JUSZKIEWICZ,  
MAŁGORZATA OLEJNIK, JAN ŻMUDZKI

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 10.03.2014

Zaakceptowano 26.05.2014

Szymanek-Bany I., Szprengier-Juszkiewicz T., Olejnik M., Żmudzki J.

## Narasin poisoning in turkeys

### Summary

Mass mortality was observed in a flock of reproductive turkeys. Due to the clinical picture and the sudden onset of the symptoms, poisoning with coccidiostats was suspected. In order to confirm the diagnosis, samples of feed, tissues and digestive tract content of the birds were sent to the Department of Pharmacology and Toxicology of the National Veterinary Research Institute to be tested for the presence of ionophore coccidiostats. The feed sent for analysis was found to contain narasin, salinomycin and monensin. The clinical signs of the poisoning, the presence of narasin in feed at a concentration of 26 mg/kg, together with the known toxicity of salinomycin and narasin to turkeys, suggested that the identified compounds were probably the cause of the fatal poisoning in the turkeys.

**Keywords:** ionophore coccidiostats, narasin, poisoning, turkeys

Kokcydioza jest jedną z najczęściej występujących chorób drobiu. Jest powodowana przez pasożytnicze pierwotniaki z rodzaju *Eimeria*, które atakują komórki przewodu pokarmowego ptaków. Choroba charakteryzuje się zapaleniem jelit i biegunką. Ze względu na wysoką śmiertelność w przypadku wystąpienia klinicznej kokcydiozy i gorsze wykorzystanie paszy w subklinicznym przebiegu choroby, przyczynia się ona do dużych strat, jakie ponoszą producenci drobiu na całym świecie. W celu ich uniknięcia w nowoczesnym chowie drobiu niezbędne jest profilaktyczne stosowanie kokcydiostatyków w formie dodatków paszowych. Będąc obecnie w użyciu kokcydiostatyki można podzielić na dwie grupy: powszechnie stosowane kokcydiostatyki jonoforowe i nieco rzadziej używane kokcydiostatyki chemiczne. Do stosowania dopuszczonych jest 6 kokcydiostatyków jonoforowych: lazalocyd, maduramycyna, monenzyna, narazyna, salinomycyna i semduramycyna, z których zawartością autoryzację uzyskało 16 premiksów (16, 17). Gatunki i kategorie zwierząt, docelowe stężenia w paszy wymienione w dokumentach autoryzacyjnych poszczególnych kokcydiostatyków oraz maksymalne zawartości zanieczyszczeń w paszy niedocelowej dla indyków przedstawiono w tab. 1. Warunki dopuszczenia kokcydiostatyków oraz sposób ich stosowania regulują unijne (17) oraz krajowe (22) akty prawne.

W mieszalniach pasz podczas przygotowywania pasz docelowych z kokcydiostatykami dochodzi często do zanieczyszczeń krzyżowych innych pasz produ-

kowanych na tych samych liniach technologicznych. Podanie zanieczyszczonej kokcydiostatyką paszy zwierzętom innym niż wymienione w autoryzacji lub nie zachowanie okresu karencji w przypadku ptaków kierowanych do uboju może prowadzić do wystąpienia pozostałości w żywności uzyskiwanej od tych zwierząt. Może także dochodzić do zatrucia zwierząt, zwłaszcza w przypadku gatunków szczególnie wrażliwych. Między innymi z tego względu wprowadzone zostały maksymalne zawartości (maximum levels, ML) zanieczyszczeń kokcydiostatykami pasz niedocelowych, które z założenia powinny być wolne od tego rodzaju dodatków paszowych (5). Ocena wykrywanych w paszach niedocelowych zanieczyszczeń kokcydiostatykami powinna być prowadzona w odniesieniu do tych wartości (tab. 1).

Mechanizm działania toksycznego kokcydiostatyków jonoforowych polega na rozregulowaniu transportu przez błony biologiczne komórek, kationów jednowartościowych: sodu ( $\text{Na}^+$ ), potasu ( $\text{K}^+$ ), rubidu ( $\text{Rb}^+$ ), ceszu ( $\text{Cs}^+$ ) i/lub dwuwartościowych: wapnia ( $\text{Ca}^{2+}$ ), magnezu ( $\text{Mg}^{2+}$ ) i baru ( $\text{Ba}^{2+}$ ). W wyniku tego kationy jednowartościowe wnikają do mitochondriów komórek, zakłócając wewnątrzkomórkowe proporcje jonów. Efektem tego jest hamowanie hydrolizy ATP w mitochondriach, obniżenie produkcji energii, utrata funkcji komórek i ich obumieranie (8).

Kokcydiostatyki jonoforowe charakteryzują się zróżnicowaną toksycznością dla poszczególnych gatunków zwierząt, dlatego też pasze zawierające te

Tab. 1. Kokcydiostatyki jonoforowe dozwolone do stosowania jako dodatki paszowe – ich stężenia docelowe w paszy (stan na 3 września 2013 r.) (16) oraz maksymalne zawartości zanieczyszczeń w paszy niedocelowej dla indyków (5)

| Substancja czynna          | Przeznaczenie kokcydiostatyku                                                                      | Zalecane stężenie w paszy docelowej (mg/kg) | Maksymalna zawartość zanieczyszczeń paszy niedocelowej* dla indyków (mg/kg) |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Lazalocyd – sól sodowa     | kurczęta rzeźne<br>indyki do 12. tygodnia<br>kurczęta odchowywane na nioski do 16. tygodnia        | 75-125<br>90-125<br>70-125                  | 1,25**                                                                      |
| Maduramycyna amonu         | indyki do 16. tygodnia<br>kurczęta rzeźne                                                          | 5<br>5-6                                    | 0,05***                                                                     |
| Monenzyna – sól sodowa     | kurczęta odchowywane na nioski do 16. tygodnia<br>kurczęta rzeźne<br>indyki rzeźne do 16. tygodnia | 100-120<br>125<br>60-100                    | 1,25 ***                                                                    |
| Narazyna                   | kurczęta rzeźne                                                                                    | 60-70                                       | 0,70                                                                        |
| Salinomycyna – sól sodowa  | kurczęta rzeźne<br>kurczęta odchowywane na nioski do 16. tygodnia                                  | 50-70<br>50                                 | 0,70                                                                        |
| Semduramycyna – sól sodowa | kurczęta rzeźne                                                                                    | 20-25                                       | 0,75                                                                        |

Objaśnienia: \* pasza niedocelowa – pasza, która jest przeznaczona dla zwierząt, które nie powinny otrzymywać kokcydiostatyków, nie powinna zawierać kokcydiostatyków powyżej maksymalnej zawartości zanieczyszczeń; \*\* – dotyczy indyków rzeźnych w wieku powyżej 12. tygodnia życia; \*\*\* – dotyczy indyków rzeźnych w wieku powyżej 16. tygodnia życia

kokcydiostatyki powinny być podawane tylko tym gatunkom lub kategoriom zwierząt, dla których są przeznaczone (które są wymienione w dokumencie autoryzacyjnym). Podczas podawania zwierzętom niedocelowym pasz zanieczyszczonych kokcydiostatykami jonoforowymi oraz przy przekraczaniu górnych dozwolonych stężeń kokcydiostatyków w paszy istnieje niebezpieczeństwo pojawiania się u zwierząt efektów niepożądanych, a nawet zatruc. Przyjmuje się, że przekroczenie o 20-50% zalecanych dla zwierząt docelowych dawek leczniczych może powodować pierwsze objawy toksyczne – złe wykorzystanie paszy, niższe przyrosty masy ciała ptaków. Natomiast 2-3-krotne przekroczenie stężeń docelowych w paszy

może powodować ostre zatrucia ptaków ze znacznym odsetkiem śmiertelności (12).

Gatunkiem szczególnie wrażliwym na działanie toksyczne kokcydiostatyków jonoforowych są indyki. Z opisanych w piśmiennictwie przypadków (6, 9, 15, 21) wynika, że u indyków najczęściej dochodzi do zatrucia kokcydiostatykami jonoforowymi – salinomycyną i narazyną – na skutek omyłkowego podania paszy dla kurcząt, zawierającej te kokcydiostatyki. Opisywano również doświadczalne zatrucia indyków paszą zanieczyszczoną salinomycyną lub narazyną (11). Zestawienie przypadków opracowane na podstawie opisywanych przez różnych autorów obrazuje zależne od dawki objawy zatrucia indyków jednym z kokcydio-

Tab. 2. Zestawienie opisanych przypadków zatrucia indyków narazyną (1, 8, 18)

| Wiek indyków | Stężenia narazyny w paszy, mg/kg | Obserwacje                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Źródło              |
|--------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 8 tygodni    | 40                               | brak apetytu, ataksja, niedowłady, porażenia, opuszczenie skrzydeł, trudności w oddychaniu, upadki od 3. dnia podawania paszy, zmiany sekcyjne: brak wypełnienia przewodu pokarmowego, łagodny stan zapalny jelit<br>śmiertelność 7,2%                                                                                        | (1)                 |
| 11 tygodni   | 40-50 (42,8)                     | trudności w poruszaniu się, duszność, łagodna biegunka<br>śmiertelność 32%                                                                                                                                                                                                                                                    | (18)                |
| 15 tygodni   | 70                               | utrata apetytu, paraliż skrzydeł i nóg, zmiany sekcyjne: obrzęk wątroby i nerek, skaza moczowa nerek, nieżyty stan zapalny jelita cienkiego<br>liczne upadki od 3. dnia po rozpoczęciu podawania paszy<br>śmiertelność 31,9% w ciągu tygodnia od wystąpienia pierwszych objawów zatrucia                                      | (8)                 |
| 18 tygodni   | 37,1                             | brak apetytu, ataksja, niedowłady, porażenia, opuszczenie skrzydeł, trudności w oddychaniu, upadki od 3. dnia podawania paszy<br>zmiany sekcyjne: silne przekrwienie śledziony, wątroby i płuc<br>zmiany histopatologiczne: wakuolizacja komórek wątroby, krew w pęcherzykach płucnych i zatokach wątroby<br>śmiertelność 84% | (1)                 |
| 22 tygodnie  | 25,8                             | brak apetytu, ataksja, niedowłady, porażenia, opuszczenie skrzydeł, trudności w oddychaniu, upadki od 3. dnia podawania paszy<br>zmiany sekcyjne: silne przekrwienie śledziony, wątroby i płuc<br>śmiertelność 69%                                                                                                            | (1)                 |
| 31 tygodni   | 26,0                             | po 12 dniach od podania zanieczyszczonej paszy silna duszność, porażenie skrzydeł i nóg, gorączka i gwałtownie narastająca śmiertelność<br>w ciągu 5 dni śmiertelność 85%                                                                                                                                                     | opisywany przypadek |

statyków jonoforowych – narazyną. Obserwowana toksyczność jest różna dla różnych grup wiekowych, ale najczęściej wzrasta wraz z wiekiem ptaków (tab. 2).

Narazyna jest kokcydiostatykiem występującym w dwóch premiksach: Monteban, przeznaczony do stosowania u kurcząt brojlerów w stężeniu 60-70 mg narazyny na kg paszy (2, 3) oraz Maxiban, w którym narazyna jest stosowana w połączeniu z nikarbazyną w postaci dodatku paszowego przeznaczonego dla kurcząt brojlerów w stężeniu 40-50 mg/kg paszy (4). U pozostałych gatunków zwierząt stosowanie narazyny jest niedozwolone.

W prezentowanej pracy opisano terenowy przypadek zatrucia indyków paszą, w której znajdowały się trzy kokcydiostatyki: monenzyna, narazyna i salinomycyna. Przyczynę zatrucia zidentyfikowano poprzez oznaczenie kokcydiostatyków w paszy, którą otrzymywały indyki oraz w treści przewodu pokarmowego martwych ptaków. W niektórych przypadkach udało się również potwierdzić obecność narazyny w wątrobie i mięśniach pobranych podczas sekcji. Opisano postępowanie diagnostyczne w laboratorium z zastosowaniem metody chromatografii cieczowej z detekcją pochodnej pokolumnowej (HPLC-PCD-UV) i spektrometrią mas (LC-MS/MS).

Ponieważ w praktyce obserwuje się częste niepożądane w chowie indyków związane z zanieczyszczeniami pasz kokcydiostatykami, opisany przypadek zatrucia indyków może być pomocny dla hodowców i lekarzy weterynarii.

### Materiał i metody

**Opis przypadku.** Zatrucie indyków nastąpiło w fermie zlokalizowanej na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Ferma była zasiedlona stadem indyków reprodukcyjnych (Big 6) w wieku około 30 tygodni, w liczbie 7900 indyczek i 500 indorów. Warunki odchowu ptaków w poszczególnych obiektach fermi nie odbiegały od norm technologicznych.

Z wywiadu wynikało, że ptaki rozwijały się prawidłowo do 31. tygodnia. W połowie 32. tygodnia indykom podano paszę dla indyków z nowej dostawy. Po upływie 12 dni od zmiany paszy wystąpiła gwałtownie narastająca śmiertelność, która w przeciągu 60 godzin osiągnęła poziom ponad 60% populacji. Ogółem w ciągu 5 dni od wystąpienia zatrucia w jednym z indyków w analizowanej fermie w grupie indyczek ubytki osiągnęły 85%. Objawy kliniczne obejmowały silną duszność oraz porażenie mięśni skrzydeł i nóg.

Z chwilą pojawienia się objawów klinicznych i pierwszych padnięć indyków w gospodarstwie hodowlanym rozpoczęto postępowanie diagnostyczne. Przeprowadzono rutynowe badania bakteriologiczne, anatomopatologiczne i parazytologiczne. W diagnostyce różnicowej wykluczono infekcję wirusową, lipidozę wątrobową, choroby bakteryjne i kokcydiozę jako ewentualną przyczynę padnięć ptaków. Wyniki badań anatomopatologicznych były niespecyficzne, wykazano otłuszczenie wewnętrzne, odwodnienie i wybroczynowość. Obserwacje kliniczne wskazywały na możliwość zatrucia indyków kokcydiostatykami jonoforowymi.

W celu potwierdzenia diagnozy dostarczono 10 próbek paszy oraz 5 padłych indyczek (w stanie zamrożonym) do laboratorium Zakładu Farmakologii i Toksykologii PIWet-PIB. Tu przeprowadzono sekcje, pobrano próbki i ustalono, że przeprowadzone zostaną badania w kierunku zawartości kokcydiostatyków jonoforowych: lazalocydu, monenzyny, narazyny i salinomycyny w próbkach paszy, tkankach (mięśnie piersiowe i wątroba), zawartości wola i treści żołądka mięśniowego pobranych od martwych ptaków. Materiał sekcyjny do czasu analizy przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**Substancje wzorcowe i odczynniki.** Do oznaczania kokcydiostatyków użyto następujących substancji wzorcowych: sól sodowa monenzyny (MON), narazyna (NAR), nigerycyna (NIG), sól sodowa salinomycyny (SAL) i sól sodowa lazalocydu (LAZ) produkcji Sigma (Niemcy). W analizach wykorzystano następujące odczynniki i materiały: acetonitryl i metanol o czystości „do LC-MS”, metanol, mrówczan amonu czystości HPLC J.T. Baker (Niemcy), wanilina Merck (Niemcy), dimetylosulfotlenek (DMSO), kwas mrówkowy i  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Sigma (Niemcy), kolumnienki SPE: Oasis HLB 60 mg/3 ml i Sep-Pak Alumina N firmy Waters (USA), heksan, metanol, kwas siarkowy (98%) cz.d.a. produkcji POCh (Polska), woda o stopniu czystości I (Millipore, Francja).

**Aparatura i sprzęt laboratoryjny.** Zawartość kokcydiostatyków w paszy oznaczano przy użyciu chromatografu cieczowego firmy Varian ProStar, który był wyposażony w zawór z pętlą dozującą o pojemności 50  $\mu\text{l}$ , pompę pracującą w układzie izokratycznym, termostat kolumny, automatyczny podajnik próbek, detektor fluorescencyjny i UV/Vis oraz przystawkę do tworzenia pochodnej pokolumnowej (PINNACLE PCX). Zestaw był sterowany przez oprogramowanie Galaxie.

Do oznaczania kokcydiostatyków w tkankach i treści przewodu pokarmowego użyto chromatografu cieczowego Agilent 1100 połączonego z detektorem mas API 3000 (AB Sciex) wyposażonego w źródło jonów z elektrozpraszaniem oraz analizator jonów typu potrójny kwadrupol, sterowanego przez oprogramowanie Analyst.

**Przygotowanie próbek.** Oznaczanie zawartości kokcydiostatyków w paszy przeprowadzono metodą chromatografii cieczowej z derywatyzacją pokolumnową, zgodnie z Normą Europejską PN-EN ISO 14183:2008 (14). Anality ekstrahowano z próbek mieszaniną metanol/woda (90/10) przez wytrząsanie przez 1 godzinę, następnie ekstrakty filtrowano. Analizę kokcydiostatyków wykonano z zastosowaniem chromatografii cieczowej z detekcją fluorometryczną (lazalocydu) i UV-Vis po przeprowadzeniu reakcji derywatyzacji pokolumnowej z waniliną (pozostałe kokcydiostatyki jonoforowe).

Przygotowanie próbek tkanek, zawartości wola i treści żołądków oraz oznaczanie w nich zawartości kokcydiostatyków wykonano zgodnie z opisem przedstawionym w opublikowanej wcześniej pracy (13). Izolowanie kokcydiostatyków z próbek polegało na ekstrakcji analitów acetonitrylem. Ekstrakty filtrowano przez kolumnienki Sep-Pak Alumina N i oczyszczano na kolumnienkach SPE Oasis HLB. Eluaty zagęszczano do sucha, pozostałość rozpuszczano w acetonitrylu i dozowano do kolumny chromatograficznej,

a następnie analizowano przy zastosowaniu chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas.

**Chromatografia i oznaczanie kokcydiostatyków.** Rozdział chromatograficzny analitów w ekstraktach z pasz wykonywano techniką elucji izokratycznej z zastosowaniem kolumny Luna C18 (250 mm × 4,6 mm, 3 µm, Phenomenex, USA) połączonej z prekolumną (4 × 3 mm, Security Guard, Phenomenex, USA). Jako fazy ruchomej użyto mieszaniny 88% metanolu i 12% 0,02 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  o pH 7,0 i przepływie 0,7 ml/min. Temperatura pieca kolumny wynosiła 32°C, a objętość dozowanej próbki 50 µl. W analizie zastosowano detektor UV-Vis ( $\lambda = 520$  nm) i detektor fluorescencyjny (długości fal: wzbudzenia 310 nm, emisji 420 nm).

Rozdział chromatograficzny ekstraktów z tkanek analizowano na zawartość kokcydiostatyków techniką elucji gradientowej z zastosowaniem kolumny Luna Phenyl Hexyl (3 µm, 150 mm × 2,0 mm) i fazy ruchomej składającej się z acetonitrylu, metanolu i mrówczanu amonu.

W celu identyfikacji kokcydiostatyków monitorowano jony macierzyste i potomne wytworzone w trybie jonizacji dodatniej, określano ich względne czasy retencji i względną intensywność jonów w próbkach badanych (ion ratio), liczoną względem standardu wewnętrznego (IS, nigerycyna), która powinna być zgodna ze względną intensywnością jonów uzyskanych w roztworach wzorcowych. Oznaczenia

ilościowe wykonano w odniesieniu do krzywych kalibracyjnych przygotowanych na odpowiednich matrycach.

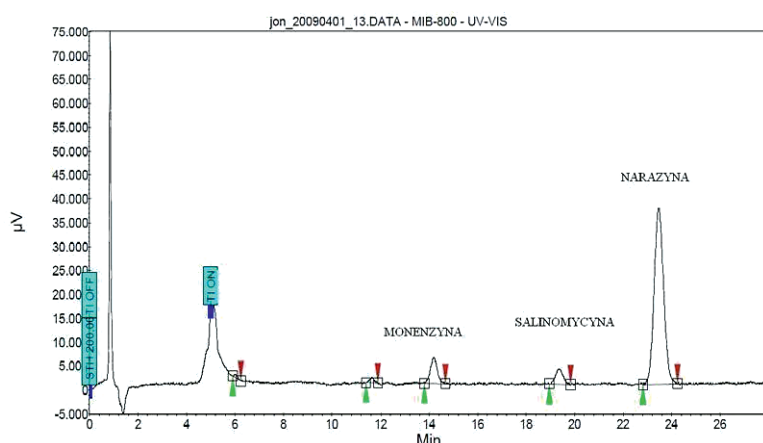
**Zapewnienie jakości badań.** Znormalizowaną metodę oznaczania kokcydiostatyków w paszach sprawdzono w warunkach laboratorium, określono jej powtarzalność, odzyski oraz granicę oznaczalności, która wynosi dla monenzyny, narazyny i salinomycyny 0,5 mg/kg.

Oznaczenia kokcydiostatyków w tkankach indyków i treści przewodu pokarmowego wykonano metodą własną opracowaną w laboratorium i wcześniej opublikowaną (13). Metodę tę zwalidowano zgodnie z wymaganiami dla metod oznaczania pozostałości substancji niepożądanych w żywności oraz akredytowano i sprawdzono w badaniach biegłości. Granice oznaczalności metody wynoszą, odpowiednio: dla treści wola i zawartości żołądka 100 µg/kg; wątroby 2 µg/kg; mięśni 1 µg/kg.

## Wyniki i omówienie

**Badanie paszy.** W przysyłanych do analizy próbkach paszy podawanej indykom wykryto narazynę, salinomycynę i monenzynę (ryc. 1, tab. 3). Stwierdzona zawartość narazyny wynosiła średnio  $26,0 \pm 7,8$  mg/kg, co świadczy o zanieczyszczeniu paszy tym kokcydiostatykiem w stężeniu przekraczającym znacznie maksymalną zawartość zanieczyszczeń paszy dla indyków, wynoszącą 0,7 mg/kg (tab. 1). Podawanie indykom tak zanieczyszczonej paszy mogło być przyczyną zatrucia. W opisanym przez innych autorów zatruciu indyków, które otrzymywały przez 4 dni paszę zawierającą 25,8 mg/kg narazyny, następowały upadki wśród 22-tygodniowych indyków już od 3. dnia podawania zanieczyszczonej paszy (tab. 2). Obserwowana przez tych autorów przez 11 dni śmiertelność w stadzie liczącym 897 ptaków, sięgnęła 69% (1).

Średnie stężenia pozostałych kokcydiostatyków jonoforowych: monenzyny i salinomycyny wynosiły w badanych próbkach pasz, odpowiednio,  $0,85 \pm 0,25$  mg/kg i  $1,19 \pm 0,35$  mg/kg. Stężenia monenzyny we wszystkich przebadanych próbkach były niższe od maksymalnej zawartości dla indyków w wieku powyżej 16 tygodni (1,25 mg/kg). Natomiast stężenie salinomycyny w 9 z 10 przebadanych indywidualnych próbek przekraczało maksymalną zawartość dla indyków (0,70 mg/kg) (tab. 3). Biorąc pod uwagę fakt, że salinomycyna z powodu wysokiej gatunkowej wrażliwości jest niedozwolona do stosowania u indyków, można przypuszczać, że zanieczyszczenie paszy nawet na tak niskim poziomie mogło nie być obojętne dla tych ptaków, już otrzymujących paszę zawierającą około 26 mg/kg narazyny. Jeżeli zaś chodzi o obecność w paszy monenzyny, to zgodnie z obecnym stanem wiedzy, nie stanowi ona zagrożenia, a nawet jest dozwolona do stosowania u indyków rzeźnych do 16. tygodnia ich życia (tab. 1). W opisywanym przypadku zatruciu uległy indyki starsze, 31-tygodniowe,



Ryc. 1. Chromatogram próbki paszy nr 7 zawierającej MON, SAL, NAR w stężeniach, odpowiednio: (1,09; 1,57; 23,0) mg/kg

Tab. 3. Zawartość kokcydiostatyków jonoforowych w próbkach paszy, wyniki średnie z 2 oznaczeń ± niepewność wyniku, mg/kg

| Pasza, oznakowanie próbek           | Monenzyna               | Salinomycyna            | Narazyna                |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Pasza 1                             | $0,82 \pm 0,25$         | $1,02 \pm 0,31$         | $32,5 \pm 6,5$          |
| Pasza 2                             | < 0,50                  | $0,75 \pm 0,22$         | $29,3 \pm 5,9$          |
| Pasza 3                             | $0,90 \pm 0,27$         | $1,72 \pm 0,51$         | $23,2 \pm 4,6$          |
| Pasza 4                             | $0,70 \pm 0,21$         | $1,29 \pm 0,39$         | $26,3 \pm 5,3$          |
| Pasza 5                             | $0,90 \pm 0,27$         | $1,37 \pm 0,41$         | $24,2 \pm 4,8$          |
| Pasza 6                             | $0,76 \pm 0,23$         | $1,21 \pm 0,36$         | $24,8 \pm 5,0$          |
| Pasza 7                             | $1,09 \pm 0,32$         | $1,57 \pm 0,47$         | $23,0 \pm 4,6$          |
| Pasza 8                             | $0,89 \pm 0,27$         | $1,32 \pm 0,40$         | $24,1 \pm 4,8$          |
| Pasza 9                             | $1,00 \pm 0,30$         | < 0,50                  | $28,8 \pm 5,8$          |
| Pasza 10                            | $0,95 \pm 0,29$         | $1,18 \pm 0,35$         | $23,5 \pm 4,7$          |
| Średnia ± SD ze wszystkich oznaczeń | $0,85 \pm 0,25$<br>< ML | $1,19 \pm 0,35$<br>> ML | $26,0 \pm 7,8$<br>>> ML |

dla których maksymalna zawartość monenzyny w paszy wynosi 1,25 mg/kg.

Obraz i uwarunkowania zatrucia prawdopodobnie się zmieniają w sytuacji, kiedy dochodzi do zatrucia paszą zanieczyszczoną równocześnie kilkoma kokcydiostatykami jonoforowymi. Należy pamiętać, że wszystkie one wykazują ten sam mechanizm działania toksycznego. W opisywanym przypadku miało miejsce zanieczyszczenie trzema kokcydiostatykami, których nie powinno być w paszy dla indyków w tym wieku i należących do tej kategorii hodowlanej. Autorom nie są znane żadne naukowe dane na temat skojarzonego działania toksycznego mieszaniny kokcydiostatyków jonoforowych. Zalecenia odnośnie do możliwości równoległego stosowania w paszy kilku kokcydiostatyków są dość jednoznaczne – nie powinno się stosować mieszaniny kokcydiostatyków w paszy, jednak nie we wszystkich dokumentach autoryzacyjnych (19) znajduje się uwaga o zakazie takiego proceduru. Także niewiele wiadomo na temat szkodliwości wieloskładnikowego zanieczyszczenia pasz kokcydiostatykami.

**Badanie tkanek i treści przewodu pokarmowego.** Obecność kokcydiostatyków jonoforowych badano w treści przewodu pokarmowego (wola, żołądek mięśniowy), mięśniach i wątrobie pobranych od przysyłanych do badań padłych indyków (tab. 4). Wyniki badań potwierdziły obecność narazyny we wszystkich badanych próbkach, natomiast monenzyna i salinomycyna były obecne w stężeniach powyżej granicy oznaczalności metody tylko w zawartości wola. W przypadku tkanek (wątroba, mięśnie) stwierdzone stężenia salinomycyny i monenzyny były bardzo niskie (pomiędzy granicą wykrywalności i oznaczalności). Taka sytuacja wynika z właściwości farmakokinetycznych kokcydiostatyków jonoforowych, które w małym stopniu przechodzą do tkanek i szybko z nich zanikają (10). Fakt stwierdzenia obecności narazyny w wątrobach i mięśniach świadczy o tym, że indyki jadły paszę zawierającą ten niedozwolony dla nich kokcydiostatyki w dość wysokich stężeniach i do ostatniej chwili, kiedy z uwagi na stan zdrowotny były w stanie pobierać pokarm. Wykrycie kokcydiostatyków w tkankach było możliwe również dlatego, że materiał do badań był właściwie pobrany i zabezpieczony.

Kokcydiostatyki jonoforowe wykazują wspólny mechanizm toksyczności, w związku z tym obraz kliniczny przebiegu zatrucia oraz wyniki badań laboratoryjnych były bardzo zbliżone do opisywanych podczas doświadczalnego podawania indykom paszy zawiera-

jącej narazynę (11) czy opisanego przypadku zatrucia salinomycyną (11, 21) oraz monenzyną (7, 20). We wszystkich opisanych przypadkach ptaki wykazywały zaburzenia lokomocyjne, słabość nóg, drżenie mięśni, brak koordynacji ruchów i utratę masy ciała. Nasilenie objawów chorobowych i śmiertelność ptaków były uzależnione od stężenia preparatu w paszy oraz czasu skarmiania. Śmierć następowała w ciągu kilku dni po spożyciu paszy.

Zatrucie indyków po podaniu paszy zawierającej jako zanieczyszczenia narazynę, monenzynę i salinomycynę ma wiele cech wspólnych z przypadkami opisanymi w piśmiennictwie. Pierwszy przypadek zatrucia indyków narazyną opisał Davis (6), który po podaniu paszy z narazyną odnotował śmiertelność wynoszącą 44% u 18-tygodniowych indyków. Natomiast Halvorson i wsp. (9) opisują przypadek w którym padnięcia osiągały 23% przy zawartości salinomycyny na poziomie 27,6 mg/kg paszy, a przy poziomie 56,8 mg/kg wynosiły 90%. Według Stuarta (21), znacznie większy wskaźnik śmiertelności u indyków starszych należy wiązać z większym spożyciem paszy. Koncicki i wsp. (11) uzależniają śmiertelność indyków od okresu skarmiania paszą zawierającą kokcydiostatyki jonoforowe. W stadach indyczek i indorów 45- i 50-tygodniowych, w których stopniowo w przeciągu 5 dni wprowadzono do żywienia paszę z podwyższoną zawartością salinomycyny (40-51 mg/kg), w ciągu 6 dni od chwili odnotowania pierwszych przypadków śmiertelnych padło od 4,3% do 15,2% indyczek i od 21,5% do 40,3% indorów.

W historii prac diagnostycznych Zakładu Farmakologii i Toksykologii PIWet-PIB w Puławach już wielokrotnie diagnozowano przypadki zatruc u zwierząt, głównie indyków poprzez wykazanie obecności w paszy jednego lub kilku antybiotyków jonoforowych (dane z rejestru badań diagnostycznych ZFT PIWet-PIB w Puławach). Zastosowanie techniki LC-MS/MS w diagnostyce opisanego przypadku pozwoliło wykryć obecność kokcydiostatyków jonoforowych w próbkach narządów pobranych od padłych indyków. Wyniki tych oznaczeń stanowiły uzupełnienie i potwierdzenie oznaczeń wykonanych w próbkach paszy. Można zatem sądzić, że stosowana technika analityczna może być z powodzeniem stosowana do diagnostyki zatruc w sytuacji, gdy z jakichś powodów próbki paszy są niedostępne. Należy jednak dość ostrożnie oceniać wyniki oznaczeń w tkankach, ponieważ niewykrycie w nich kokcydiostatyków nie zawsze jest dowodem na nieobecność w paszy tych związków. Bardzo wiele zależy od czasu, jaki upłynął od wystąpienia pierwszych objawów zatrucia lub śmierci ptaków do chwili pobrania próbek oraz od sposobu ich zabezpieczenia.

### Podziękowanie

Diagnostyka i analiza opisanego przypadku była możliwa dzięki profesjonalnej współpracy z lekarzem weterynarii opiekującym się stadem oraz Powiatowym

Tab. 4. Zestawienie wyników oznaczeń kokcydiostatyków w próbkach pobranych od padłych indyków, µg/kg

| Materiał do badań | Monenzyna | Salinomycyna | Narazyna    |
|-------------------|-----------|--------------|-------------|
| Zawartość wola    | 130 ± 40  | 280 ± 80     | 6880 ± 2170 |
| Treść żołądka     | < 100     | < 100        | 910 ± 270   |
| Wątroba           | < 2,0     | < 2,0        | 5,85 ± 1,75 |
| Mięśnie           | < 1,0     | < 1,0        | 3,54 ± 1,06 |

Lekarzem Weterynarii, właściwym dla terenu, na którym znajdowała się ferma indyków. Tym Kolegom, choć nie wymienionym z nazwiska, autorzy składają podziękowania.

### Piśmiennictwo

1. Behr K.-P., Lüders H., Glünder G., Friedrichs M.: Narasin- Intoxikation bei Puten. Dtsch. tierärztl. Wschr. 1988, 95, 107-111.
2. Commission Regulation (EC) No 1464/2001 of 17 August 2004 concerning the authorization for 10 years of the additive 'Monteban' in feedingstuffs, belonging to the group of coccidiostats and other medicinal substances. OJ L 270, 8-10.
3. Commission Regulation (EC) No 884/2010 of 7 October 2010 amending Regulation (EC) No 1464/2004 as regards the withdrawal time of additive 'Monteban', belonging to the group of coccidiostats and other medicinal substances. OJ L 265, 4.
4. Commission Regulation (EC) No 885/2010 of 7 October 2010 concerning the authorization of the preparation of narasin and nicarbazin as a feed additive for chickens for fattening (holder of authorization Eli Lilly and Company Ltd) and amending Regulation (EC) No 2430/1999. OJ L 265, 5-8.
5. Council Directive 2009/8/EC of 10 February 2009, amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards maximum levels of unavoidable carry-over of coccidiostats or histomonostats in non target feed. OJ L 40 (2009) 23.
6. Davis C.: Narasin toxicity in turkeys. Vet. Rec. 1983, 113, 627.
7. Ficken M. D., Wages D. P., Gonder E.: Monensin toxicity in turkey breeder hens. Avian Dis. 1989, 33, 186-190.
8. Gawel A., Mazurkiewicz M.: Przebieg zatrucia narazyną w stadzie indyków rzeźnych. Med. Weter. 2004, 60, 154-159.
9. Halvorson D. A., Van Dijk C., Brown P.: Case Report – ionophore toxicity in turkey breeders. Avian Dis. 1982, 266, 634-639.
10. Kennedy D. G., Blanchflower W. J., O'Doran B. C.: Development of an ELISA for salinomycin and depletion kinetics of salinomycin residues in poultry. Food Addit. Contam. 1995, 12, 93-99.
11. Koncicki A., Kurowski A.: Zatrucia indyków kokcydiostatami jonoforowymi. Życie Wet. 1987, 62, 393-396.
12. Oehme F. W., Pickrell J. A.: An analysis of the chronic oral toxicity of polyether ionophore antibiotics in animals. Vet. Hum. Toxicol. 1999, 41, 251-257.
13. Olejnik M., Szprengier-Juszkiewicz T., Jedziniak P.: Multi-residue confirmatory method for the determination of twelve coccidiostats in chicken liver using liquid chromatography tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A. 2009, 1216, 8141-8148.
14. PN-EN ISO 14183: Pasze – Oznaczanie zawartości monenzyny, narazyny i salinomycyny. Metoda chromatografii cieczowej z derywatyzacją pokolumnową. PKN, grudzień 2008.
15. Potter L. M., Blake J. P., Blair M. E., Bliss B. A., Denbow D. M.: Salinomycin toxicity in turkeys. Poultry. Sci. 1985, 65, 1955-1959.
16. Regulation (EC) No/1831/2003. European Union Register of Feed Additives. Edition 170 Annex I – 03.09.2013.
17. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. OJ L 268/29.
18. Sályi G., Szabó E., Bagó G., Banhidi G., Szilágyi M.: Narasin poisoning in turkeys. Acta Vet. Hung. 1988, 36, 107-114.
19. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. Cross-contamination of non-target feedingstuffs by narasin authorized for use as a feed additive. The EFSA Journal. 2007, 552, 1-35.
20. Stuart J. C.: An outbreak of monensin poisoning in turkeys. Vet. Rec. 1978, 102, 303-304.
21. Stuart J. C.: Salinomycin poisoning in turkey. Vet. Rec. 1983, 113, 597.
22. Ustawa z dnia 22 lutego 2013 r. o paszach. Dz. U. 2013, 253, 12-14.

Adres autora: mgr Iwona Szymanek-Bany, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: iwona.szymanek@piwet.pulawy.pl