

PATOLOGIA I TERAPIA

STEFAN KOSSAKOWSKI, CZESŁAW ŁYSEK

Doświadczalne zatrucia królików karbarylem

Ośrodek Naukowo Badawczy Służby Weterynaryjnej, ul. Dzierżyńskiego 2, 24-100 Puławy

Wśród stosowanych w weterynarii i rolnictwie środków do zwalczania pasożytów pestycydy karbaminowe stanowią odrębną grupę. Do grupy tej wchodzi pochodne kwasów karbaminowych, tiokarbaminowych i dwutiokarbaminowych. Związki te zostały zsyntetyzowane po raz pierwszy w USA przez Lambrecha w 1953 r. (1).

Działanie biologiczne związków karbaminowych polega głównie na unieczynnianiu cholinesteraz (ChE) enzymów rozkładających endogenną acetylcholinę (4, 15). Działanie to, podobne w zasadzie do działania związków fosforoorganicznych (Fo), jest jednak odwracalne tzn. kompleks inhibitora z enzymem ulega szybkiej hydrolizie i w efekcie następuje reaktywacja enzymu. Prócz unieczynniania ChE związki karbaminowe nie pozostają bez wpływu na inne enzymy np. powodują wzrost aktywności w surowicy krwi fosfatazy zasadowej, arginazy i transaminaz przy równoczesnym spadku aktywności tych enzymów w wątrobie (14).

Zatrucia zwierząt związkami karbaminowymi charakteryzują się objawami typowymi dla zatrucia związkami Fo, a mianowicie muskarynowymi i nikotynopodobnymi oraz objawami ze strony ośrodkowego układu nerwowego. Przebieg zatrucia w początkowym okresie ma charakter bardziej nasilony aniżeli przy związkach Fo, a po dawkach subletalnych, z upływem czasu, nasilenie choroby zmniejsza się.

Wśród pestycydów karbaminowych szerokie zastosowanie znalazł karbaryl (N-metylokarbaminian-1-naftyłu) — biała krystaliczna substancja słabo rozpuszczalna w wodzie, dobrze w rozpuszczalnikach organicznych. Karbaryl jest podstawową substancją aktywną w preparatach Sewin i Karbatox zaliczanych do trucizn II klasy toksyczności. Ostra doustna DL_{50} tego związku dla białych myszy wynosi 375—385 mg/kg, dla szczurów 450—700 mg/kg i naskórną dla królików 2000—5000 mg/kg (3).

Szerokie stosowanie karbarylu w weterynarii i rolnictwie stwarza groźbę zatrucia ludzi i zwierząt (3, 7). Z uwagi na brak, nie tylko w piśmiennictwie krajowym, odpowiednich w tym zakresie danych klinicznych i laboratoryjnych podjęto niniejsze badania.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na 36 królikach nierasowych o wadze około 3 kg, pochodzących z jednej hodowli, karmionych paszą standardową zgodnie z normatywami. Królikom podawano dożołądkowo kar-

baryl zawieszony w glikolu propylenowym (300 mg/1 ml). Badania wykonano w 6 grupach, a mianowicie: I — króliki kontrolne, którym podano jedynie glikol propylenowy (5 ml); II — króliki, które otrzymały dożołądkowo karbaryl w dawce 500 mg/kg; III — w dawce 750 mg/kg; IV — w dawce 1000 mg/kg; V — w dawce 1250 mg/kg; VI — w dawce 1500 mg/kg. U badanych królików rejestrowano objawy kliniczne, a w celu dodatkowego potwierdzenia stopnia nasilenia objawów klinicznych oznaczano aktywność ChE we krwi metodą Hestrina (9).

Badanie hematologiczne obejmowało oznaczanie poziomu hematokrytu i Hb, liczby krwinek czerwonych i białych z obrazem różnicowym oraz zawartość w surowicy krwi białka całkowitego, albumin i globulin z frakcjami α , β , γ . Badanie krwi przeprowadzano w sposób powszechnie stosowany, białko całkowite oznaczano wg Meibaum-Katzenellenbogen (12), a frakcje białkowe za pomocą elektroforezy bibulowej. Powyższe badania wykonano u wszystkich zwierząt przed zatruciem, a następnie po 1, 2, 3 godz. 1, 2, 3, 6, 14 dniach od zatrucia.

Wyniki i omówienie

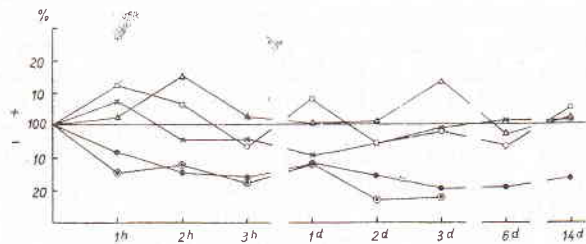
U królików kontrolnych nie stwierdzano badaniem klinicznym i hematologicznym istotnych odchyśleń od stanu wyjściowego tj. wyników badań przeprowadzonych przed rozpoczęciem doświadczenia. Również u królików II grupy nie występowały widoczne objawy kliniczne, a aktywność ChE we krwi zmniejszała się w ciągu 2 dni zaledwie o około 12%. U królików pozostałych grup występowały po upływie 1—3 godz. od zatrucia objawy kliniczne charakteryzujące się apatią, włóknikowym drżeniem mięśni, łzotokiem i ślinotokiem, przyspieszonym oddychaniem oraz wzmożonym wydalaniem kału i moczu; objawy te nasilały się wraz ze wzrostem dawek insektycydu. U królików V grupy występowała dodatkowo niezdolność ruchowa, a u królików VI grupy porażenia kończyn i zejście śmiertelne w ciągu 1—3 dni. Aktywność ChE krwi (ryc. 1.) zmniejszała się w ciągu 24 godz. o około 30% u królików III grupy, około 47% u królików IV grupy i około 50% u królików V grupy. Od drugiego dnia po podaniu karbarylu u królików tych następował wzrost aktywności ChE we krwi; po 14 dniach aktywność była wyższa w grupach II i III lub zbliżona w grupach IV i V do wielkości wyjściowej. Natomiast u królików VI grupy aktywność ChE zmniejszała się aż do śmiertelnego zejścia — po 24 godz. o około 52%, a po 2 dniach o około 57%.

Objawy kliniczne zatrucia karbarylem były więc typowe dla inhibitorów ChE tj. zarówno związków karbaminowych (3), jak i fosforoorganicznych (11). Miały one charakter podostrego

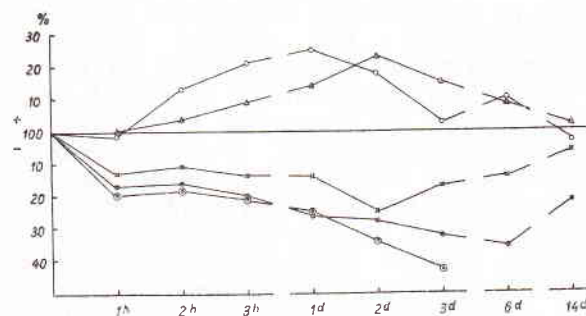
lub ostry nasilający się w ciągu 24 godz. ze wzrostem dawki stosowanego insektycydu, po czym następował odpowiednio do dawki powrót do zdrowia. Kliniczne objawy zatrucia korelowały w pewnym stopniu ze zmniejszeniem aktywności ChE we krwi. Godny przy tym podkreślenia jest fakt wyraźnie się zaznaczającej po 24 godz. od zatrucia samoistnej reaktywacji ChE, której poziom po dawkach 500 i 750 mg/kg przekraczał po 14 dniach wielkości wyjściowe, a po dawkach 1000 i 1250 mg/kg znacznie zbliżał się do tych wielkości. Karbaryl podany w dawce 1500 mg/kg powodował u wszystkich królików zejścia śmiertelne, przy czym u tych królików nie stwierdzano zjawiska reaktywacji ChE we krwi. Powyższe dane wskazują, że przy zatruciach zwierząt związkami karbaminowymi możliwości organizmu reaktywowania ChE maleją ze wzrostem dawki insektycydu.

Zmiany hematologiczne u królików, otrzymujących karbaryl były zależne od wielkości zastosowanej dawki karbarylu. Liczba hematokrytowa u wszystkich królików, którym podano karbaryl zmniejszała się w ciągu 3 godz. do 3 dni w granicach 3–30% bez istotnych różnic w grupach IV–VI. W ilości krwinek czerwonych (ryc. 2) zmiany wyrażały się nieznacznym wzrostem w grupie II i w ciągu 24 godz. w grupie III z nieznacznym spadkiem w grupie IV. Natomiast u królików V grupy występował spadek liczby krwinek czerwonych do 3 dnia po zatruciu o około 20% z powolnym następnie wzrostem w ciągu 14 dni. Z kolei u królików VI grupy spadek liczby krwinek czerwonych zaznaczał się wcześniej aniżeli w grupie poprzedniej i w okresie 2–3 dni wynosił 22–24%. Poziom Hb obniżał się w granicach kilkunastu procentów u królików w grupach IV–VI. W obrębie krwinek białych (ryc. 3) stwierdzano u królików grupy II i III w ciągu pierwszych dwóch dni wzrost ich ilości w granicach 22–25% z powrotem do wielkości wyjściowej po 14 dniach. Z kolei u królików IV grupy następowało zmniejszanie się liczby krwinek białych, które nasilało się do 2 dnia

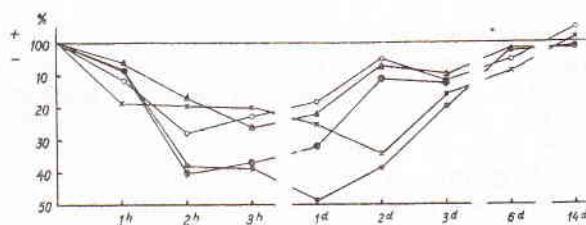
po zatruciu (–24%), a następnie wzrastało do 14 dnia (–6%), zaś u królików V grupy liczba krwinek białych malała do 6 dnia (–35%), po czym następował wzrost do 14 dnia (–21%). U królików VI grupy spadek liczby krwinek



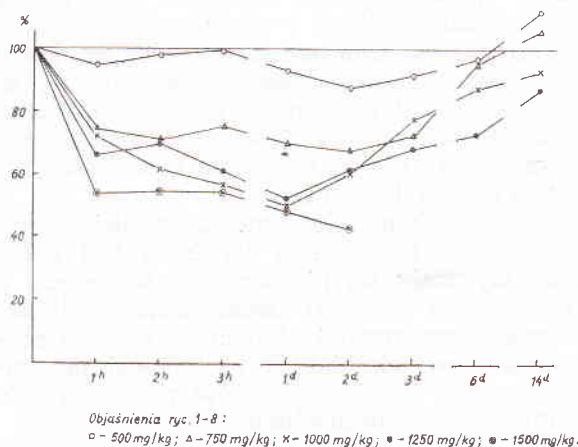
Ryc. 2. Krwinki czerwone



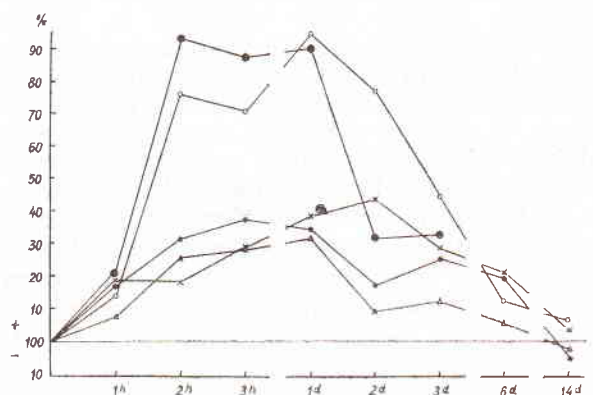
Ryc. 3. Krwinki białe



Ryc. 4. Limfocyty



Ryc. 1. Aktywność cholinesteraz we krwi



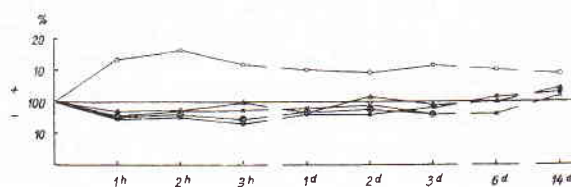
Ryc. 5. Granulocyty obojętnochnonne

białych nasilał się do zejścia śmiertelnego o około 43%. W obrazie różnicowym krwinek białych występował u wszystkich królików w ciągu 24 godz. spadek procentowej ilości limfocytów (ryc. 4) z równoczesnym wzrostem granulocytów obojętnochłonnych (ryc. 5).

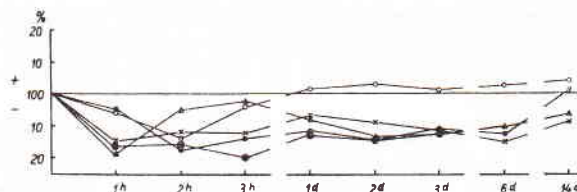
Jak wynika z powyższych danych w badaniu hematologicznym wysuwało się na plan pierwszy zmniejszenie liczby krwinek czerwonych i białych u królików po dawkach karbarylu 1000, 1250 i 1500 mg/kg. Zmiany tego rodzaju pozostają w związku z osłabieniem czynności szpiku kostnego wskutek pobudzenia przez ACh układu nerwowego cholinergicznego (16). Powodem tych zmian może być również skrócenie przeżywalności krwinek w naczyniach krwionośnych. Stwierdzono (5), że pod wpływem ACh granulocyty znikają z krwiobiegu znacznie szybciej. Stwierdzono też (9) skrócenie przeżywalności krwinek czerwonych po zastosowaniu inhibitorów Fo. Wielce prawdopodobny jest również bezpośredni wpływ związków karbaminowych na krwinki i w efekcie powstawanie w krwinkach zmian sprzyjających ich niszczeniu w układzie siateczkowo-śródbłonkowym. W obrazie różnicowym krwinek białych istotne zmiany zachodzą w stosunkach procentowych granulocytów obojętnochłonnych, których liczba wzrasta i limfocytów, których liczba maleje. Tego rodzaju zmiany stwierdzane również przez innych autorów (6) uważa się za efekt wpływu kortykoidów przeciwzapalnych wytwarzanych podczas działania stresora (15).

Badanie białek surowicy krwi wykazywało kilkunastoprocentowy wzrost poziomu białka całkowitego (ryc. 6) u królików II grupy i kilkuprocentowy spadek u królików pozostałych grup. W obrębie zaś białka całkowitego następował u zatrutych królików spadek poziomu albumin (ryc. 7) z odpowiednim wzrostem globulin (ryc. 8) szczególnie zaznaczony u królików II grupy, a w pozostałych grupach odpowiednio bez istotnych różnic. W badaniu frakcji globulinowych stwierdzono niespecyficzne i nieistotne dla poszczególnych grup królików wahania α i β globulin, podczas gdy γ globuliny wykazywały tendencje wzrostowe szczególnie wyraźnie zaznaczone u królików II grupy. Powyższe zmiany były podobne do zmian stwierdzanych przy ostrych zatruciach królików różnymi innymi związkami chemicznymi (10). Spadek poziomu albumin pozostaje prawdopodobnie w związku z faktem, że albuminy niezależnie od ważnej funkcji osmotycznej spełniają również we krwi czynności detoksykacyjne (2) i może on być spowodowany przesunięciem albumin do przestrzeni pozanaczyniowej. Równoczesny zaś wzrost globulin jest efektem działania podstawowych mechanizmów regulujących poziom białek z utrzymywaniem podstawowych poziomów albumin i globulin. Zasadniczą zaś przyczyną powyższych zmian są niewątpliwie uszkodzenia wątroby spełniające,

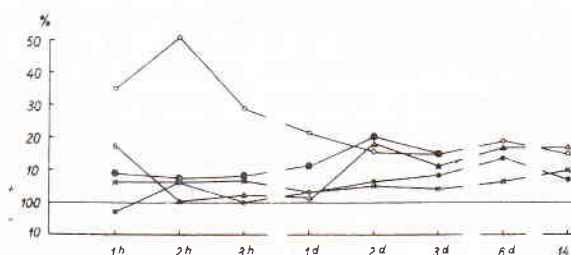
zwłaszcza przy zatruciach przez przewod pokarmowy, podstawowe w organizmie funkcje detoksykacyjne.



Ryc. 6. Białko całkowite



Ryc. 7. Albuminy



Ryc. 8. Globuliny

Wnioski

1. U królików otrzymujących dożołądkowo karbaryl w dawkach 500 mg/kg nie występowały widoczne objawy kliniczne; po dawkach 750, 1000, 1250 i 1500 mg/kg występowały charakterystyczne objawy muskaryno- i nikotynopodobne oraz objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego; po dawkach 1500 mg/kg króliki padały w ciągu 1—3 dni.

2. Aktywność ChE we krwi królików, które uległy zatruciu karbarylem zmniejszała się ze wzrostem dawki w ciągu 24 godz. po zatruciu, po czym następowała samoistna reaktywacja enzymu, która nie występowała u królików zatrutych dawką 1500 mg/kg.

3. Zmiany hematologiczne u królików, którym podano karbaryl w dawkach 500 i 750 mg/kg wyrażały się nieznacznym wzrostem, a u pozostałych zwierząt zmniejszeniem liczby krwinek czerwonych i białych, w obrazie różnicowym krwinek białych następował procentowy spadek ilości limfocytów przy wzroście granulocytów obojętnochłonnych.

4. W białkach surowicy krwi występował nieznaczny spadek poziomu białka całkowitego

ze zmniejszeniem poziomu albumin i wzrostem globulin, w których zaznaczał się wzrost globulin.

Piśmiennictwo

1. Back R. C.: J. agric. Fd Chem. 13, 198, 1965.
2. Bogdanikowa B., Murawski K.: Rozpoznawanie zmian w białkach krwi. PZWL, 1968.
3. Carev S. G.: Toksikologija jadochimičkatov primenjaemych v sel'skom chozajstvie. Moskwa, 1969.
4. Casida I. E.: A. Rev. Entomol. 8, 39, 1963.
5. Filušina E. G.: Bjuł. eksp. Biol. Med. 65, 26, 1963.
6. Gončarova N. J.: Veterinarija, Moskva, 44, 82, 1968.
7. Graczyk S.: Medycyna Wet. 33, 475, 1977.
8. Isamov N. N., Barimuradov T. B., Bogdanov V. M., Rjas-manski S. A., Nezametdinov S. A., Khatov V. R.: Veterinarija, Moskva, 10, 39, 1977.
9. Juszkiewicz T., Mizak B., Paleolog A.: Medycyna Wet. 22, 303, 1966.
10. Kariozen Z.: Med. Pr. 16, 293, 1965.
11. Kossakowski S.: Medycyna Wet. 30, 400, 1974.
12. Meibaum-Katzenellenbogen W.: Acta bioch. pol. 2, 279, 1953.
13. Morejnis J. A., Edrin I. M.: Vrač. delo 11, 100, 1963.
14. Onikenko F. A.: Farmak. Toks. 33, 23, 1972.
15. Selye H.: Stress życia. PZWL, 1960.
16. Walawski J.: Fizjologia patologiczna. PZWL, 1960.

Adres autora: prof. dr Stefan Kossakowski, ul. Wojska Polskiego 5/3, 24-100 Puławy.

Коссаковский С., Лысек Ч. — Экспериментальные отравления кроликов карбарилем.

Исследования провели на 36 кроликах, которым ввели внутривенно карбарил в дозах 500, 750, 1000, 1250, 1500 мг/кг. У этих кроликов кроме записи клинических симптомов определяли через 1, 2, 3 часа, 1, 2, 3, 6, 14 дней активность холинэстеразы в крови, гематокрит, число эритроцитов, уровень Hb, число лейкоцитов с дифференциальной картиной и исследовали электрофоретически белки сыворотки крови. У кроликов, получивших дозу 500 мг/кг, не обнаруживали заметных болезненных симптомов, а у остальных появлялись мускариновые и никотиноподобные изменения, а также изменения со стороны центральной нервной системы. Эти изменения усиливались с ростом дозы до 24 часов

после отравления, после чего следовало улучшение общего состояния животных за исключением получавших дозу 1500 мг/кг, которые погибали через 1—3 дня. С этими симптомами коррелировали уровни холинэстеразы в крови. У кроликов, получавших дозы карбарила выше 750 мг/кг, обнаруживали уменьшение гематокритного числа, числа эритроцитов в лейкоцитах с понижением процентного числа лимфоцитов и ростом нейтрофильных гранулоцитов. В сыворотке крови отмечалось незначительное понижение полного белка с понижением уровня альбуминов и ростом уровня глобулинов.

Kossakowski S., Łysek Cz. — Experimental carbaryl intoxication in rabbits.

The experiments were performed on 36 rabbits, which were given into stomach carbaryl at a dose of 500, 750, 1000, 1250 and 1500 mg/kg of body weight. In experimental animals besides clinical signs was also determined after 1, 2, 3 hr and 1, 2, 3, 6 and 14 days cholinesterase activity, haematocrit, number of red blood cells, level of haemoglobin, number and differential count of leukocytes, and electrophoretic pattern of serum blood proteins. In rabbits after the application of carbaryl at a dose of 500 mg/kg of body weight any clinical signs were not observed. After higher doses of carbaryl were noted muscarine-like and nicotine-like signs, and the central nervous system disturbances. These changes increased along with the increasing dose of the drug after 24 hr after its application, and then a general state of animals improved, excluding animals which were given carbaryl at a dose of 1500 mg/kg of body weight. These animals died after 1—3 days. With the above changes correlated the levels of ChE in blood. In rabbits intoxicated with carbaryl at doses over 750 mg/kg of body weight was observed a decrease of haematocrit number, number of erythrocytes and leukocytes, decrease of the number of lymphocytes and increase of neutrophils. In sera was observed a minimal decrease of total protein and albumin, and increase of globulins.

SIGEL C. W., MACKLIN A. W., GRACE M. E., TRACY C. H.: Stężenie trójmetypru i sulfadiazyny w płynie komórkowym i ciałku szklanym psa. (Trimethoprim and sulfadiazine concentrations in aqueous and vitreous humors of the dog). Vet. Med. small anim. Clin. 76 991—993, 1981 (7).

Tribissen (TMP + sulfadiazyna) jest silnym środkiem przeciwbakteryjnym stosowanym powszechnie w leczeniu zakażeń bakteryjnych w tym również w endoftalmitis. Stężenie sulfadiazyny i TMP w płynie komórkowym oraz w ciałku szklanym określono na 2 psach, które otrzymały tribissen 120 w dawce 20 mg TMP i 100 mg sulfadiazyny, dwa razy dziennie, przez 4 kolejne dni. Poziom TMP i sulfadiazyny określono po 3 godzinach po podaniu ostatniej dawki leku. Średnie stężenie sulfadiazyny ($\mu\text{g/ml}$) w surowicy wynosiło $26,7 \pm 7,3$, w płynie komórkowym $12,8 \pm 3,8$, w płynie ciałka szklanego $11,8 \pm 5,3$, zaś stężenie TMP wynosiło odpowiednio $1,01 \pm 0,6$; $0,33 \pm 0,27$ i $0,53 \pm 0,34$. Te stężenia w wielu przypadkach przewyższały wartość MIC uzyskane dla sulfadiazyny i TMP w przypadku drobnoustrojów, które często wywołują choroby oczu (Escherichia, Streptococcus, Proteus, Salmonella, Pasteurella, Shigella).

G.

GOUGH R. E., WYETH P. J., BRACEWELL C. D.: Odpowiedź immunologiczna kurcząt na trójkwalentną szczepionkę z dodatkiem emulsji olejowej: odpowiedź na zakaźne zapalenie oskrzeli. (Immune responses of breeding chickens to trivalent oil emulsion vaccines: Responses to infectious bronchitis). Vet. Rec. 108, 99—101, 1981 (5).

Szczepienia przeprowadzono w trzech stadach brojlerów liczących po 6000 sztuk ptaków w wieku 20 tygodni. W stadzie A podano monowalentną szczepionkę przeciwko chorobie Newcastle z emulsją olejową (ND), w stadzie B podano szczepionkę biwalentną przeciwko chorobie Newcastle i zakaźnemu zapaleniu oskrzeli (ND/IBD), zaś w stadzie C ptaki zaszczepiono szczepionką trójkwalentną przeciwko chorobie Newcastle, zakaźnemu zapaleniu oskrzeli i zapaleniu bursy Fabricy w emulsji olejowej (ND/IBD/IB). Brojlery w wieku 37 tygodni zakażono w aerozolu wirusem IB. Brojlery ze stada C wykazywały wyższe średnie miano przeciwciał dla wirusa IB 4 tygodnia po szczepieniu. Jednakże wzrost miana swoistych przeciwciał dla tego wirusa występował we wszystkich trzech badanych stadach, co przemawiało za aktywnym procesem zakaźnym.

G.