

BOLESŁAW WOJTOŃ, ELŻBIETA BARAN, JADWIGA DZIAŁOSZYŃSKA, MIROSŁAW MICHAŁSKI

Pozostałości monenzyny w mięsie kurcząt rzeźnych, żywionych paszami z dodatkiem tego kokcydiostatyku

Zakład Higieny Produktów Zwierzęcych Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Monenzyna jest antybiotykiem otrzymywanym na drodze fermentacji z hodowli *Streptomyces cinnamomensis* (5). Pod względem chemicznym należy do antybiotyków jonoforowych o sumarycznym wzorze $C_{36}H_{62}O_{11}$. Jako kwas i sól sodowa rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych i tłuszczach, jest nietrwała w roztworach kwaśnych (2). Cechuje się znaczną stabilnością w postaci krystalicznej soli sodowej, w temp. 52°C zachowuje aktywność przez 3 lata (1). Preparat ten posiada właściwości kokcydiobójcze i kokcydiostatyczne, poprzez blokowanie transportu jonów potasu działa hamująco na rozwój sporozoitów i trofozoitów (1–2 dzień cyklu rozwojowego (4)).

Monenzyna stosowana jest od wielu lat z dobrym skutkiem dla ochrony stad brojlerów przed kokcydiozą. W USA preparat mieszany jest z paszą w ilości 120 mg/kg, w krajach europejskich w tym w Polsce przyjęto dawkę 100 mg/kg. Przy dawce powyżej 150 mg/kg może wystąpić zmniejszenie przyrostów masy ciała kurcząt. Monenzyny nie należy podawać kurom nioskom (6).

Zgodnie z sugestią producenta, firmy „Elanco”, monenzyna może być stosowana w paszy aż do końca tuczu kurcząt rzeźnych bez okresu wyczekiwania przed ubojem. Przesłanką do rezygnacji z okresu wyczekiwania przed ubojem (karencji) ma być to, że monenzyna dodawana do paszy w ilości 120 mg/kg stwierdzana jest w tkankach kurcząt tylko w śladowych ilościach. Wiele krajów, w których dopuszczono monenzynę jako dodatek do pasz dla brojlerów, uznało jednak za konieczne utrzymanie okresu karencji. Okresy te są zróżnicowane i wynoszą w USA 5 dni, w krajach EWG 3 dni, w Finlandii 1 dzień, w Republice Południowej Afryki 0 dni (6).

Brak krajowych danych dotyczących pozostałości monenzyny w mięsie drobiu nie pozwala jednoznacznie stwierdzić, czy rezygnacja z okresu karencji (w naszym kraju obowiązują 3 dni) byłaby uzasadniona. Wyjaśnienie tego zagadnienia jest celem niniejszych badań, których dodatkowym zamiarem jest także sprawdzenie przydatności metody wybranej do oznaczania pozostałości monenzyny w mięsie drobiowym.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na tuszkach brojlerów pochodzących z partii 10 tys. kurcząt użytych do doświadczalnych nad wpływem różnych ilości monenzyny na efektywność tuczu. Kurczęta były podzielone na 5

grup po 2 tys. i żywione do czasu uboju paszami starter i finisz, zawierającymi w pierwszej grupie 80 oraz odpowiednio po 100, 120, 150 i 200 mg/kg monenzyny w pozostałych grupach. Po uboju z każdej z tych grup pobrano losowo po 20 tuszek. Do badań przeznaczono mięśnie piersiowe. W pierwszym etapie oznaczano zawartość monenzyny w 10 tuszkach każdej grupy, w drugim etapie, w pozostałych tuszkach po rocznym ich przechowywaniu w temp. 255,15°K (–18°C).

Dla sprawdzenia czułości metody każdorazowo przeprowadzano oznaczenia w próbach wzorcowych, pobranych z tuszek kurcząt żywionych paszą bez monenzyny oraz w próbach, do których dodano 0,02 i 0,04 ug standardu monenzyny.

Wykonano także jednorazowe oznaczenie zawartości kokcydiostatyku w paszach starter i finisz, pobranych w czasie tuczu kurcząt. Oznaczanie w paszach przeprowadzono według metody mikrobiologicznej 2002 (VI)78-E firmy „Elanco”.

Monenzynę w mięsie oznaczano metodą bioautografii Nr 5801654 wg Eli Lilly and Company Greenfield Indiana USA, umożliwiającej wykrycie tego antybiotyku przy poziomie 0,025–0,05 ug. Próby mięsa ekstrahowano metanolem, ekstrakt oczyszczano czterochlorkiem węgla, odparowywano do suchej masy, którą ponownie upłynniano metanolem. Ekstrakty w ilości 20 ul nanoszono na płytki o wym. 20×20 cm pokryte żelazem krzemionkowym G. Chromatogramy rozwijano w komorze z mieszaniną czterochloru węgla, benzenu i eteru jednometylowego glikolu etylenowego w proporcji 80:10:6. Do wywołania użyto szczepu *Bacillus subtilis* 6633, którym zaszczepiano podłoże agarowe wylewane w cienkiej warstwie na chromatogram. Płytki inkubowano w temp. 37°C przez 18 godz. Do pożywki agarowej dodano wodny roztwór chlorku 2,3,5 trójfenylo-tetrazolu, który pod wpływem dehydrogenaz bakteryjnych daje czerwono zabarwione produkty utleniania. W rezultacie strefy zahamowania wzrostu *B. subtilis* uwidaczniały się jako białe plamy na czerwonym tle.

Wyniki i omówienie

Zawartość monenzyny w paszach użytych do karmienia kurcząt ilustruje tab. 1. Dane tabeli wskazują na dość znaczne rozbieżności pomiędzy deklarowanymi a faktycznie stwierdzonymi ilościami tego antybiotyku. Przyczyną tych rozbieżności było zapewne niezbyt staranne wymieszanie składników pasz bądź zbyt niska zawartość monenzyny w dodawanym premiksie.

Wyniki oznaczeń pozostałości monenzyny w mięśniach piersiowych kurcząt, przeprowadzonych natychmiast po uboju przedstawiono w tab. 2. Dane tabeli wskazują, że w próbach kontrolnych nie stwierdzono monenzyny. Próby te były pobrane z tuszek kurcząt żywionych paszami bez tego antybiotyku, a zatem ujemne wyniki oznaczeń są zgodne z oczekiwaniami. W próbach, do których dodano monenzynę w ilości 0,02 ug także tego antybio-

Tab. 1. Zawartość monenzyny w paszach użytych do karmienia kurcząt rzeźnych

Rodzaj mieszanki	Deklarowana zawartość monenzyny w mg/kg				
	80	100	120	150	200
DKA starter	77,0	86,0	117,0	127,0	138,0
DKA finisz	70,0	88,0	111,0	122,0	159,0

Tab. 2. Pozostałości monenzyny w tuszkach kurcząt żywionych paszami z dodatkiem tego kokcydiostatyku w mg/kg

Nr próby	Tuszki							
	kontrolne	z dodatkiem monenzyny		kurcząt karmionych paszą z dodatkiem monenzyny				
		0,02	0,04	80	100	120	150	200
1	-	-	+	-	-	-	+	-
2	-	-	+	+	+	+	+	-
3	-	-	+	+	-	+	+	+
4	-	-	+	+	-	+	+	+
5	-	-	+	+	-	+	-	+
6	-	-	+	-	-	-	+	+
7	-	-	+	-	+	-	+	-
8	-	-	+	-	-	+	-	+
9	-	-	+	-	-	+	+	+
10	-	-	+	-	+	+	+	+

Objaśnienie: + obecność monenzyny w ilości < 0,04 mg/kg.

Tab. 3. Pozostałości monenzyny w tuszkach kurcząt żywionych paszami z dodatkiem tego kokcydiostatyku, przechowywanych przez 1 rok (255,15°K)

Nr próby	Tuszki							
	kontrolne	z dodatkiem monenzyny		kurcząt karmionych paszą z dodatkiem monenzyny (mg/kg)				
		0,02	0,04	80	100	120	150	200
1	-	-	+	-	-	+	+	-
2	-	-	+	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-
4	-	-	+	+	-	-	-	-
5	-	-	+	+	-	-	-	+
6	-	-	+	-	+	-	-	-
7	-	-	+	-	-	-	-	-
8	-	-	+	-	-	-	-	+
9	-	-	+	-	-	+	+	-
10	-	-	+	-	-	-	-	-

Objaśnienie: + obecność monenzyny w ilości < 0,04 mg/kg.

tyku nie stwierdzono. Obecność monenzyny stwierdzono natomiast we wszystkich próbach mięsa zawierającego 0,04 ug tego antybiotyku. Na tej podstawie można przyjąć, że uzyskano poziom wykrywalności mieszczący się w granicach przewidzianych dla tej metody (0,025—0,05 ug).

Pozostałości monenzyny na poziomie 0,04 ug lub nieco wyższym (ustalono szacunkowo przez porównanie wielkości plamek) stwierdzono w 4 tuszkach na 10 przy 80 mg/kg w paszy i odpowiednio 3/10 przy 100 mg/kg, 6/10 przy 120 mg/kg, 8/10 przy 150 mg/kg, 7/10 przy 200 mg/kg. Uzyskane wyniki wskazują, że częstotliwość występowania pozostałości monenzyny w mięśniach drobiu wzrastała wraz ze wzrostem zawartości tego kokcydiostatyku w paszy.

Wyniki oznaczeń monenzyny w tuszkach przechowywanych w temp. 255,15°K (-18°C) przez 1 rok ilustruje tab. 3. Z danych tabeli wynika, że pozostałości monenzyny na poziomie 0,04 ug stwierdzono tylko w 8/50 tuszek, niezależnie od poziomu antybiotyku w paszach użytych do karmienia kurcząt. Fakt zdecydowanie mniejszej częstotliwości występowania

monenzyny w tuszkach po rocznym przechowywaniu w stanie zamrożenia w temp. 255,15°K prawdopodobnie łączy się z jej unieczynnianiem w tych warunkach. Uzyskane wyniki wskazują jednak na możliwość utrzymywania się pozostałości tego antybiotyku w tuszkach drobiu przechowywanych w temp. 255,15°K co najmniej przez 1 rok.

Wnioski

1. W tuszkach kurcząt rzeźnych, karmionych paszą z dodatkiem monenzyny w ilości od 80 do 200 mg/kg, poddanych ubojowi bez okresu karencji, występują pozostałości tego kokcydiostatyku; w tej sytuacji okres wyczekiwania przed ubojem jest uzasadniony.

2. Przechowywanie tuszek drobiu w stanie zamrożenia (255,15°K) przez 1 rok nie eliminuje całkowicie pozostałości monenzyny.

3. Metoda bioautografii użyta do oznaczeń nie nastręcza większych trudności wykonawczych i może być przydatna w rutynowej praktyce laboratoryjnej.

Piśmiennictwo

1. Agarap A., Chamberlin J. W.: Antimicrobial agents and chemotherapy. Am. Soc. Microbiol. 1968, s. 359.
2. Kavanagh F.: Analytical microbiology. Acad. Press. 1972, s. 295.
3. Kline R. M., Golab T.: J. Chromatogr. 18, 409, 1965.
4. Shumard R. F., Callender M. E.: Antimicrobial agents and chemotherapy. Am. Soc. Microbiol. 1968, s. 363.
5. Stark W. M., Konz N. G., Westhead J. E.: Antimicrobial agents and chemotherapy. Am. Soc. Microbiol. 1968, s. 353.
6. Sympozjum Elanco „Nowoczesne aspekty profilaktyki i zwalczania chorób w produkcji kurcząt rzeźnych”. Warszawa, 1980.

Adres autora: dr Bolesław Wojtoń, ul. Kruczkowskiego 3, 24-100 Puławy

Войто́нь Б., Баран Э., Дзяло́шинская Я., Михальский М. — Остатки монензина в мясе мясных цыплят, кормленных кормами с прибавкой этого кокцидиостатика

Исследовали остатки монензина в мясе бройлеров, кормленных кормом с добавкой разных количеств этого кокцидиостатика (80, 100, 120, 150 и 200 мг/кг). Для исследований взяли по 20 тушек из 5 групп, насчитывающих в общем 10 тыс. цыплят. Половину взятых тушек, исследовали сразу после убоя, остальные после годичного хранения в temp. 255,15°K (-18°C). Определения провели методом биоавтографии чувствительностью 0,025—0,5 мкг. Отмечено остатки на уровне 0,04 мкг в 4/10 тушек при 80 мг/кг монензина в корме и соответственно в 3/10 при 100 мг/кг, 6/10 при 120 мг/кг, 8/10 при 150 мг/кг, 7/10 при 200 мг/кг. После годичного хранения в temp. 255,15°K отмечено остатки монензина только в нескольких тушках независимо от количества этого антибиотика в корме. Полученные результаты указывают на необходимость сохранения периода каренции перед убоем цыплят.

Wojtoń B., Baran E., Działoszyńska J., Michalski M. — Antibiotic residues in meat of chickens fed with fodder containing monensin

The presence of monensin residues in broilers fed with fodder containing different amounts of the drug (80, 100, 120, 150, and 200 mg/kg) was evaluated. Twenty carcasses were taken from each five groups including 10.000 chickens. A half of the carcasses was examined immediately after slaughter and the

rest after a year storage at -18°C . The determinations were performed by bioautography at a sensitivity between 0.025—0.5 μg . It was found the residues at a level of 0.04 μg in 4 per ten carcasses at the concentration of 80 mg/kg of monensin in fodder, and in 3/10 at 100 mg per kg, 6/10 at 120

mg/kg, 8/10 at 150 mg/kg, 7/10 at 200 mg/kg, respectively. After a year storage at -18°C only in few carcasses some amounts of monensin residues were noted independently on the amount of the antibiotic contained in fodder. The findings point to the necessity of keeping a carency period before slaughter.

FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

MARIAN WIŚLIŃSKI, BARBARA NAGÓRNA-STASIAK, AGNIESZKA ŁAZUGA-ADAMCZYK,
MICHAŁ REICHERT, WOJCIECH CYBULSKI

Niektóre wskaźniki hematologiczne i zmiana Hb F przez Hb B u jagniąt w pierwszych dwóch miesiącach życia^{*})

Zakład Fizjologii Zwierząt Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Mało jest badań hematologicznych wykonanych na jagniętach szczególnie w pierwszych tygodniach po urodzeniu. Wyniki badań do 1960 r. zostały podsumowane w hematologii weterynaryjnej przez Shalma (14). Różnorodność ras, warunki geograficzne, zoohigieniczne i żywieniowe powodują zmiany we wskaźnikach hematologicznych. Z tych też względów wyniki badań autorów zagranicznych są mało przydatne w warunkach hodowli owiec w Polsce. Nadto istnieją rozbieżności odnośnie do liczby krwinek białych oraz ich podziału u jagniąt po urodzeniu: wg jednych przeważają krwinki obojętnochłonne, wg innych limfocyty (14).

U owiec występuje zróżnicowanie (polimorfizm) hemoglobiny. Harris i Warren (10) pierwsi wykazali elektroforetyczne zróżnicowanie typów hemoglobiny dojrzalej i płodowej, które różnią się migracją elektroforetyczną. Typy hemoglobiny przekazywane są na potomstwo przez dwa geny, allele, które oznaczone zostały przez Evansa i wsp. (6) jako A i B. Elektroforetycznie występują trzy typy: AA, AB, BB. Hemoglobina A (HbA) migruje w elektroforezie bibułowej szybciej niż Hb B. U heterozygot występują jednocześnie oba typy barwnika oznaczone jako Hb AB. Obydwa typy hemoglobin różnią się właściwościami fizyko-chemicznymi i powinowactwem do tlenu.

Hemoglobina A wykazuje większe powinowactwo do tlenu niż wolno migrujące Hb (11). Owce posiadające Hb A mają więcej krwinek czerwonych, większe stężenie hemoglobiny i wyższą wartość hematokrytową (6, 7, 8, 11, 19). Badania nad tymi hemoglobinami mają również aspekt praktyczny. Stwierdzono bowiem wpływ typu hemoglobiny na produkcję owiec oraz odporność na niektóre choroby pasożytnicze (1, 5).

Celem pracy było określenie poziomu niektórych wskaźników hematologicznych u jagniąt

polskiej owcy nizinnej, typ wełnistoplennej, w okresie dwóch pierwszych miesięcy życia, czasu zmiany barwnika płodowego na dojrzalej i ewentualnego wpływu typu hemoglobiny na stężenie hemoglobiny, wartość hematokrytu i liczbę krwinek czerwonych.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w okresie od stycznia do marca na 53 jagniętach, z których 24 pochodziły z ciąży bliźniaczej, rasy polskiej owcy nizinnej, typ wełnistoplennej, w jednym z gospodarstw RZD AR w Lublinie. Jagnięta przebywały z matkami i pochodziły od 3—4 letnich owiec, żywionych grupowo w owczarni nieogrzewanej w dobrych warunkach higienicznych. Matki były odrobaczane dwukrotnie w ciągu roku, a owczarnia uznana jako wolna od zarobaczenia. W okresie przed zakoceniem i ciąży owce żywione były mieszanką B₄, sianem łąkowym i burakami pastewnymi, zaś po wykoceniu paszą treściwą i objętościową.

Krew od tych samych jagniąt wybranych losowo ze stada liczącego 300 owiec pobierano siedmiokrotnie z żyły szyjnej zewnętrznej po 24 godzinach od urodzenia w godzinach od 8.00 do 10.00, co 7 dni w okresie pierwszego miesiąca i co 14 dni w drugim miesiącu życia. Natychmiast po pobraniu 2 ml krwi do próbki z heparyną, sporządzano rozmazy krwi i pobierano krew do oznaczeń stężenia hemoglobiny. Oznaczenia wartości hematokrytowej, liczby krwinek czerwonych i białych wykonywano w ciągu najbliższych 3 godzin w laboratorium. Krwinki czerwone liczono przy pomocy licznika krwinek TUR ZG 2 (NRD), krwinki białe metodą tradycyjną, hemoglobinę oznaczano metodą spektrofotometryczną z płynem Drabkina. Białko oznaczano metodą biuretową, wartość hematokrytową określano mikrometodą w 2 kapilarach heparynizowanych. Procentowy podział krwinek białych obliczano z preparatów barwionych metodą Pappenheima. Wszystkie oznaczenia wykonywano w dniu pobrania krwi, podobnie jak opisano poprzednio (12). Rozdziału hemoglobiny płodowej od dojrzalej dokonywano metodą elektroforezy w 1% żelu agaroz (BHD) przy użyciu buforu cytrynianowego 0,05 M o pH 6,2 wg zmodyfikowanej (20) metody Robinsona i wsp. (13).

W celu porównania uzyskanych wartości hematologicznych jagniąt z dorosłymi owcami, pobrano jednorazowo krew od 20 matek w 60 dniu po porodzie. Różnicowanie hemoglobin u owiec dojrzalej przeprowadzano identycznie jak u jagniąt. Częstość genów

^{*} Problem M.R.II.10.3, 3.A-10.