

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXV, 13

SECTIO DD

1970

Z Katedry Farmakologii Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr habil. Grzegorz Staśkiewicz

Grzegorz STAŚKIEWICZ, Zbigniew ROLIŃSKI

**Oznaczanie pozostałości antybiotyku w tkankach i płynach ustrojowych
prosiąt po podawaniu z karmą oksytetracyliny (OTC) paszowej „Polfa”**

Определение остатков антибиотика в тканях и органических жидкостях поросят
после введения с кормом окситетрацилина „Polfa”

Determination of Antibiotic Residues in Tissues and Organic Fluids of Piglets
after the Administration of Fodder Oxytetracine "Polfa"

W piśmiennictwie krajowym zagadnieniem pozostałości tetracyklin i innych antybiotyków w tkance mięśniowej i narządach wewnętrznych zajmowali się Glapiś i wsp. (1), Rzewniś i Więclawek (6), Rutczyńska-Skoneczna (4, 5) i Pełczyńska (3).

Dotychczasowe badania wykonane w Katedrze Farmakologii WSR w Lublinie (8) nad zanikaniem antybiotyku z organizmu kurcząt po 21-dniowym podawaniu z karmą oksytetracyliny paszowej wykazały, że po 2 dniach od zaprzestania podawania OTC paszowej w ilości 200, 500 i 1000 mg grzybni na 1 kg paszy antybiotyk utrzymywał się na wykrywalnym poziomie jedynie w żółci, przy czym po dawce najniższej (200 mg/kg karmy) nawet w żółci nie wykrywano antybiotyku na drugi dzień od zaprzestania podawania OTC paszowej.

Celem niniejszych badań było oznaczanie poziomu OTC w tkankach i płynach ustrojowych prosiąt w trakcie podawania oksytetracyliny paszowej oraz w ciągu 15 dni od momentu zaprzestania podawania.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono z preparatem pod nazwą „oksyterracylina paszowa z grzybnią”, produkcji Pabianickich Zakładów Farmaceutycznych „Polfa”. Deklarowana zawartość oksytetracyliny zasady w preparacie — 10% czystego antybiotyku.

Badania wykonano na 12 prosiątach rasy wielkiej białej polskiej, obojga płci, w wieku 12—14 tygodni i wadze od 34 do 42 kg (w dniu rozpoczęcia badań). Prosięta podzielono na 2 grupy (I grupa — 6 szt., II grupa — 6 szt.) i karmiono

je mieszanką dla trzody chlewnej o składzie: otręby pszenne 19%, otręby żytnie 10%, śruta jęczmienna 15%, śruta pszena 20%, śruta owsiana 10%, mączka z krwi 1%, mączka rybna 6,5%, śruta poekstrakcyjna sojowa 9%, drożdże pastewne 1%, mączka z suszu zielonek 6%, sól pastewna 0,25%, kreda pastewna 1,25%, dodatek mineralno-witaminowy 1% (siarczan żelaza, siarczan miedzi, siarczan manganu, siarczan kobaltu, siarczan cynku, witamina A, D₃, E, B₂, B₁₂, witamina PP, pantotenu wapnia oraz mleko pełne i ziemniaki) z dodatkiem oksytetracyny paszowej w ilościach 200 i 1000 mg grzybni na 1 kg paszy, co w przeliczeniu na oksytetracynę zasadę stanowiło 20 i 100 mg na 1 kg paszy.

Prosięta poddawano ubojowi na 15 i 30 dzień karmienia paszą z dodatkiem oksytetracyny paszowej oraz na 2, 4, 8 i 14 dzień po wstrzymaniu dodawania antybiotyku do karmy. Zawartość OTC oznaczano: w mięśniach szkieletowych (partie mięśni przodu i zadu), sercu, wątrobie, śledzionie, nerkach, płucach, tkance tłuszczowej oraz we krwi i żółci metodą dyfuzji w agarze.

Oznaczenie stężeń OTC wykonano (z nieznacznymi modyfikacjami) wg metody Grove i Randalla (2). Każdorazowo dla świeżo przygotowanej zawiesiny zarodników *Bac. cereus* 8145 określano na płytkach, jaka ilość zawiesiny wykazuje dostateczną wrażliwość na OTC zasadę w stężeniu 0,025—0,05 mcg/ml. Odpowiednią wrażliwość uzyskiwano, gdy inoculum wynosiło 0,1%.

Jako standardu użyto OTC zasady o mocy 900 mcg/mg, którą otrzymano z Instytutu Leków w Warszawie. Z OTC zasady przygotowywano przez rozpuszczenie w 0,01 n HCl roztwór podstawowy zawierający 1000 mcg w 1 ml. Dla wykreślenia krzywej standardowej z podstawowego roztworu OTC zasady o stężeniu 1000 mcg/ml wykonywano dalsze rozcieńczenia robocze (0,4; 0,2; 0,1; 0,05 i 0,025 mcg/ml) przy użyciu mieszaniny cytrynianowo-acetonowej (4). Dalej postępowano podobnie jak w pracy poprzedniej (7).

WYNIKI

Próby odzyskiwania znanych ilości OTC z tkanek. Do prób tych używano tkanek świń, które nie otrzymywały OTC. Próby przeprowadzano w sposób następujący: odważoną ilość tkanki (tkanka mięśniowa, tkanka wątrobowa) rozcierano w moździerzu z określoną ilością jałowego piasku, a następnie dodawano 1 ml cytrynianowo-acetonowego roztworu OTC o zawartości 8, 4, 2 i 1 mcg na 1 ml. Dalej postępowano analogicznie jak w pracy poprzedniej (7).

Jednocześnie nastawiano kontrolę negatywną z odpowiednią tkanką bez antybiotyku, z dodatkiem mieszaniny cytrynianowo-acetonowej. Badania kontrolne dawały wynik negatywny. Wyniki przedstawiono w tab. 1.

Oznaczanie stężenia OTC w tkankach prosiąt po podawaniu antybiotyku z karmą przez 30 dni. Prosięta zabijano po 15 i 30 dniach i w tych samych dniach wykonywano oznaczanie zawartości OTC w tkankach.

Próbki tkanek i płynów ustrojowych pobierano bezpośrednio po zabiciu prosiąt, gromadząc i przechowując próby do momentu ekstrakcji

Tab. 1. Ilości OTC odzyskiwane z tkanek prosiąt
 OTC amounts extracted from the tissues of piglets

Ilość dodanego OTC na 1 g tkanki	M. podłopatkowy		Wątroba	
	odzyskano		odzyskano	
	mcg/g	%	mcg/g	%
0,8 mcg/g	—	—	0,40	50,0
0,4 mcg/g	0,35	87,5	—	—
0,2 mcg/g	0,10	50,0	0,12	60,0

w temperaturze $\pm 4^{\circ}\text{C}$. Próby tkanek rozcierano w moździerzu z jałowym piaskiem, po czym dodawano porcjami mieszaninę cytrynianowo-acetonową w ilości 1 ml na 1 g tkanki. Próby tkanek rozcierano z tym płynem przez 10 minut i pozostawiano w temp. $\pm 4^{\circ}\text{C}$ przez 20 minut. Następnie próby wirowano i sączone przez bibułę, po czym określano stężenie OTC analogicznie jak w pracy poprzedniej (7). Wyniki przedstawiono w tab. 2.

Przy dodatku OTC paszowej z grzybnią w ilości 200 i 1000 mg/kg karmy po 15 i 30 dniach stosowania antybiotyków stwierdzano jedynie w żółci. Nie wykrywano go natomiast w próbach krwi oraz pozostałych tkanek.

Określenie czasu zanikania OTC z organizmu prosiąt. Po zaprzestaniu podawania OTC paszowej z karmą po 30 dniach oznaczano nadal ewentualne pozostałości antybiotyku w tkankach i płynach ustrojowych. Prosięta poddawano ubojowi po 2, 4, 8 i 14 dniach, po czym niezwłocznie pobierano materiał do badań. Oznaczenia wykonywano analogicznie do poprzednich (7). Wyniki badań przedstawiono w tab. 3.

Badania nad zanikaniem OTC z tkanek i płynów ustrojowych prosiąt wykazały utrzymywanie się antybiotyku na wykrywalnym poziomie wskutek obydwu dawek po 2 dniach od zaprzestania podawania preparatu jedynie w żółci. Po 4, 8 i 14 dniach od zaprzestania podawania preparatu nie wykrywano OTC nawet w żółci.

WNIOSKI

Badania wykazały, że oksytetracylina paszowa „Polfa”, podawana przez 30 dni z karmą w dawkach 200 i 1000 mg/kg powodowała u świń utrzymywanie się stężeń antybiotyku na wykrywalnym poziomie jedy-

Tab. 2. Zawartość OTC w tkankach i płynach ustrojowych prosiąt po 15 i 30 dniach podawania oksytetracyliny paszowej „Polfa”

OTC content in tissues and organic fluids of piglets after 15 and 30 days of the administration of fodder oxytetracycline "Polfa"

Dawka w mg/kg karmy	Dni	Kontrole negatywne	m. pod- łopat- kowy	Zawartość OTC w mcg/g tkanki lub w mcg/ml płynu ustrojowego						
				m. pośląd- kowy średni	serce	nerka	tkanka tłuszczowa	wątroba	żółć	krew
200	15	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	0,012	b. h.
1000		b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	0,015	b. h.
200	30	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	0,030	b. h.
1000		b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	0,035	b. h.

b. h. — brak hamowania wzrostu drobnoustroju testowego.

b. h. — the growth of test micro-organism not inhibited.

Tab. 3. Zawartość OTC w tkankach i płynach ustrojowych prosiąt po 2, 4, 8 i 14 dniach od zaprzestania podawania oksytetracyliny paszowej „Polfa”
 OTC content in tissues and organic fluids of piglets after 2, 4, 8 and 14 days of stopping the administration of fodder oxytetracine "Polfa"

Dawka w mcg/kg karmy	Dni	Kontrola negatywna	m. pod łopat- kowy	Zawartość OTC w mcg/g tkanki lub w mcg/ml płynu ustrojowego						
				m. pośląd- kowy średni	serce	nerka	tkanka tłuszczowa	wątroba	żółć	krew
200	2	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	0,012	b. h.
1000		b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	0,022	b. h.
200	4	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.
1000		b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.
200	8	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.
1000		b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.
200	14	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.	b. h.

b. h. — brak hamowania wzrostu bakterii testowych.

b. h. — the growth of test bacteria not inhibited.

nie w żółci, natomiast nie wykrywano antybiotyku w pozostałych badanych tkankach. Po zaprzestaniu podawania OTC paszowej stwierdzono pozostałości antybiotyku na 2 dzień jedynie w żółci.

Na podstawie uzyskanych wyników należy przyjąć, że 2-dniowy okres od zaprzestania podawania świniom OTC paszowej w dawce 200 i 1000 mg/kg od momentu uboju jest wystarczający dla zaniku antybiotyku z tkanek poniżej dopuszczalnej normy (poniżej 1 ppm).

PIŚMIENNICTWO

1. Głapiś J., Rzewniś K., Więclawek B., Ruszczyc Z. Zawartość antybiotyku w narządach i tkankach świń otrzymujących oksytetracyklinę w paszy. *Rocz. Nauk Rol.*, seria B., 76, 101—110, 1960.
2. Grove D. C., Randall A.: *Assay Methods of Antibiotics. A Laboratory Manual.* Medical Encyclopedia, Inc., New York 1955.
3. Pełczyńska E.: Badania nad występowaniem antybiotyków, podawanych w celach żywieniowych, w tkance mięśniowej i narządach wewnętrznych zwierząt rzeźnych. *Med. Wet.*, 21, 717—718, 1965.
4. Rutczyńska-Skonieczna E.: Ilościowe oznaczanie antybiotyków z grupy tetracyklin, używanych do konserwowania mięsa. *Roczniki PZH*, 15, 153—165, 1964.
5. Rutczyńska-Skonieczna E.: Wpływ dawki i czasu podawania oksytetracykliny (OTC) kurom na poziom antybiotyku w jajach, mięsie i podrobach oraz ocena higieniczna tych produktów. *Roczniki PZH*, 15, 383—392, 1964.
6. Rzewniś K., Więclawek B.: Oznaczanie zawartości antybiotyku w narządach, tkankach i przewodzie pokarmowym kurcząt karmionych paszą z dodatkiem chlorotetracykliny. *Med. Wet.*, 19, 398—400, 1963.
7. Staśkiewicz G., Roliński Z.: Oznaczanie pozostałości antybiotyku w tkankach i płynach ustrojowych kurcząt po podawaniu z karmą oksytetracyliny paszowej „Polfa”. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD*, vol. XXIV, 17, 129—138, Lublin 1969 (1970).

РЕЗЮМЕ

Определяли остатки окситетрациклина „Polfa” у 12 поросят большой белой польской породы весом от 34 до 42 кг. Их разделили на 2 группы: I группа — 6 шт., II группа — 6 шт., которые получали с кормом в течение 30 дней окситетрациклин в количестве 200 и 1000 мг миллицелия на кг корма, что составляло 20 и 100 мг окситетрациклина основания на кг корма.

Поросят убивали (по одному из каждой группы) на 15 и 30 день кормления их кормом с окситетрациклином „Polfa”, а также на 2, 4, 8 и 14 день после отмены антибиотика. Содержание антибиотика в скелетных мышцах, печени, селезенке, почках, легких, жировой ткани,

крови и желчи определяли методом диффузии в агаре с применением стандартного штамма *Bac. cereus* 8145.

В период кормления поросят окситетрациклином антибиотик обнаруживали только в желчи. После отмены антибиотика его обнаруживали в желчи на 2 день. После 4, 8 и 14 дня во время отмены окситетрациклина остатков антибиотика не обнаружено даже в желчи.

SUMMARY

Determination of oxytetracycline (OTC) residues was carried out on 12 piglets of white big Polish breed, weighing from 34 to 42 kg, and divided into two groups, each consisting of 6 piglets. For 30 days the animals were given the antibiotic added to fodder in the doses of 200 and 1 000 mg mycelium per 1 kg of fodder which corresponded to 20 and 100 mg of oxytetracycline base per 1 kg of fodder.

The piglets were slaughtered (1 animal from each group) on the 15th and 30th day of feeding with fodder OTC and on the 2nd, 4th, 8th and 14th day after stopping the antibiotic administration. OTC content in skeletal muscles, liver, spleen, kidneys, lungs, fatty tissue, blood and bile was determined by diffusion in agar gel method using a standard strain *Bac. cereus* 8145.

During fodder OTC administration the antibiotic was detected only in bile. On the second day following the stopping of fodder OTC treatment, the antibiotic was also found in bile. However, after 4, 8 and 14 days of dropping OTC administration the antibiotic was not detected even in bile.