

LINKOLISTINO EFEKTYVUMO IR TOKSIŠKUMO TYRIMAI

Vytautas Špakauskas, Irena Klimienė

Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys;

tel. (8-346) 6 06 92, el paštas: vspakau@one.lt

Santrauka. Atlikti antibiotikų linkomicino ir kolistino derinio (linkolistino) eksperimentiniai tyrimai su laboratoriniais gyvulėliais ir sveikomis bei mastitu sergančiomis karvėmis. Nustatyta, kad linkolistinas yra mažai toksiškas, nes jo LD₅₀ baltosioms pelytėms yra 7,10 ml/kg, jūrų kiaulytėms 6,60 ml/kg (pagal sausąsias medžiagas – 538,9–579,7 mg/kg), o pagal farmakopėją ir chemoterapiją vaistinės medžiagos, kurių LD₅₀ yra tarp 500 ir 5000 mg/kg, priklauso mažo toksiškumo grupei.

Nustatant linkolistino antimikrobinį veikimą *in vitro*, didžiausios praskaidrėjusios zonos rastos tose lėkštelėse, kuriose buvo pasėti *S. aureus*. Gerai linkolistinas veikė *Streptococcus uberis* (praskaidrėjusios zonos plotis 23,05±1,43 mm), *Candida albicans* (praskaidrėjusios zonos plotis 27,85±1,31 mm) ir *Escherichia coli* (praskaidrėjusios zonos plotis 20,19±0,52 mm). Linkolistinas mikrobų veikia bakteriostatiškai arba baktericidiškai.

Linkolistino efektyvumas gydant mastitus laktacijos metu yra apie 80%. Tas nustatyta tiriant karves kliniškai ir atliekant pieno bandinių laboratorinius tyrimus (atlikus pieno reakciją mastestu, nustačius somatinių ląstelių skaičių, atlikus bakteriologinius tyrimus).

Sušvirktus preparatą, inhibitorinės medžiagos su pienu išsiskiria po 12, 24, 36, 48, 60 valandų. Inhibitorinių medžiagų piene nenustatyta praėjus 72 valandoms po linkolistino injekcijos.

Raktažodžiai: karvės, linkolistinas, mastitas, gydymas.

RESEARCH OF EFFICACY AND TOXICITY OF LINCOLISTIN

Summary. The objective of our study was to determine efficacy and toxicity of Lincolistin (lincomycin+kolistin). The results on antimicrobial effects revealed that Lincolistin *in vitro* was most efficacious against *S. aureus* (transparency zone – 30.24±1.11 mm), against *S. agalactiae* (transparency zone – 23.05±1.43 mm), against *Candida albicans* (transparency zone – 27.85±1.31 mm), and least against *E.coli* (transparency zone – 20.19±0.52 mm).

Experiments of acute toxicity of Lincolistin were performed with nonlinear white mice and quinea-pigs by the method of probit - analysis proposed by Lichtfield and Wilcoxon (1963). Investigations revealed the following main toxicity parameters for Lincolistin: in white mice – LD₅₀ – 7.1 ml/kg of body weight; in quinea-pigs – 6.6 ml/kg.

Lincolistin have shown high efficiency against the main mastitis agents: staphylococci, streptococci and esherichias. From 10 cows treated with Lincolistin against subclinical and clinical mastitis 8 cows recovered (80.0 % efficacy). This was determined by clinical examination and laboratory analysis of milk samples.

After the injection of Lincolistin into the udder the antibacterial substances were excreted with milk in 60 hours.

Keywords: cow, Lincolistin, mastitis, treatment.

Įvadas. Stafilokokų ir streptokokų sukeltam mastitui gydyti dažniausiai vartojami šie riboto spektro antibiotikai: naturalūs ir pusiau sintetiniai penicilinai, eritromicinas, linkomicinas. Gramneigiamų bakterijų sukeltam mastitui gydyti dažniausiai vartojami polimiksinas, neomicinas, streptomocinas, kanamicinas (Gutenbock et al., 1993; Bewick, 1996; Pyörälä, 1995; Hoedemaker, 1996; Ratnakumar et al., 1996). Gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų sukeltiems mastitams gydyti vartojami plataus veikimo spektro antibiotikai – tetraciklinai, gentamicinas, ampicilinas, cefalosporinai, rifamicinai (Hamann et al., 1992; Peterson et al., 1992; Thurmond, 1993; Erskine et al., 1993; Pyörälä, 1995). Dažnai skiriami ne vienas, o iš karto keli antibiotikai. Kombinuotas gydymas taikomas norint sustiprinti antimikrobinį antibiotikų poveikį, stabdyti atsparių mikroorganizmų plitimą, taip pat sumažinti toksiško antibiotiko dozę. Gydant antibakteriniais preparatais, sąveikauja makroorganizmas, mikroorganizmas ir vaistas. Tik gerai pažįstant vaisto savybes (farmakodinamiką, farmakokinetiką, mikroorganizmų ypatybes), ligos patogenezę, kliniką, uždegimo ypatybes, gyvulio reaktyvumą, jo apsaugines jėgas prieš infekciją ir kt., galima tinkamai parinkti preparatą ir sergantį gyvulį racionaliai gydyti (Craven, 1987; Sandholm, 1995;

Piddock, 1996; Ratnakumar et al., 1996). Gydymo ir profilaktikos priemonės turi užkirsti kelią naujiems mastitams atsirasti, todėl antibakterinis gydymas turi didelę reikšmę likviduojant mastitą, kurio nepasisėkė išvengti taikant profilaktikos priemones. Būtinumas ieškoti plataus veikimo spektro preparatų, kurie gerai veiktų gramteigiamus ir gramneigiamus mikrobų, mikoplazmas, sąlygoja įvairių naujų antibakterinių medžiagų paieškas.

Linkolistino sudėtis: 100 g riebalinės suspensijos yra, g:

linkomicino hidrochlorido	1,2
kolistino sulfato	0,6
butilhidroksitoluenu (BHT)	0,03
emulsiklio (emulsifying wax)	2,5
skysto parafino	95,67

Veikliosios preparato medžiagos yra linkomicinas ir kolistinas. Linkomicinas – natūralus linkozamidas, bakteriostatiškai veikiantis gramteigiamus kokus (stafilokokus, streptokokus, pneumokokus), klostridijas, leptospiras, bruceles, raudonligės sukėlėjus ir mikoplazmas. Antibiotikas slopina bakterijų baltymų sintezę, geriau veikia silpnai šarminėje aplinkoje. Gydomoji antibiotiko koncentracija tešmens audinyje išlieka apie 24 valandas. Kolistino sulfatas (polimiksinas

E) yra polipeptidinis antibiotikas. Jis baktericidiškai veikia ekstraceliulariai esančius mikroorganizmus jų proliferacijos ir ramybės stadijoje. Kolistino sulfatas pakeičia įtemptą mikroorganizmų citoplazmos membranos paviršių, ir ji pasidaro laidesnė. Kolistino sulfatas stipriau veikia gramneigiamus mikroorganizmus: klebsieles, salmonėles, pastereles, ešerichijas, žaliamele pseudomoną ir kt. Į tešmenį sušvirktas preparatas blogai rezorbuojasi, todėl paveikia tik tešmens mikroflorą. Kadangi riebalai greitai oksiduojami, pasigamina kenksmingi produktai, Europos Sąjungos šalyse vartojami antioksidantai butilhidroksitoluenas (BHT) ir butilhidroksianizolis (BHA).

Darbo tikslas – atlikti antibakterinio preparato linkolistino eksperimentinius tyrimus su laboratoriniais

gyvūnėliais ir sveikomis bei mastitu sergančiomis karvėmis; nustatyti jo toksiškumą, poveikį ir tinkamumą mastitu sergančioms karvėms gydyti.

Tyrimų metodika. Linkolistino sukeliama ūminio toksiškumo bandymus atlikome su baltosiomis pelytėmis ir jūrų kiaulytėmis probit - analizės metodu, pasiūlytu M. Litčfildo ir L. Uilkoksono (Беленький, 1963). Pelės svėrė nuo 20 iki 25 g, jūrų kiaulytės – nuo 360 iki 410 g. Bandymui sudarytos penkios baltųjų pelių grupės po 10 gyvūnėlių kiekvienoje ir penkios jūrų kiaulyčių grupės po 5 gyvūnėlius kiekvienoje. Kiekvienai pelei ir jūrų kiaulytei į pilvo ertmę sušvirktas preparatas. Preparatų dozės nurodytos 1 lentelėje.

1 lentelė. Linkolistino sukulto ūmaus toksiškumo parametrai

Dozė, ml/ kg		6,0	6,6	7,3	8,4	10,0		5,0	6,0	6,85	7,28	8,00	
Poveikis		1/10	3/10	5/10	9/10	10/10		0/5	1/5	3/5	4/5	5/5	
Matomas poveikis, % (S)		10,0	30,0	50,0	90,0	99,9		0,3	20,0	60,0	80,0	99,0	
Laukiamas poveikis, % (L)		9,0	27,0	56,0	90,0	99,7		1,0	18,0	59,0	82,0	97,0	
S ir L skirtumas		1,0	3,0	6,0	0,0	0,0		0,7	2,0	1,0	2,0	2,0	
Dėmesys, X ²		0,0015	0,005	0,015	–	–	0,019	0,015	0,003	–	0,003	0,015	0,036
Bandomojo reikšmė, x ²		0,215						0,180					
X ² reikšmė, kai p=0,05		7,82						7,82					
Patikimumo ribos, LD ₅₀	S	1,12						1,12					
	N	20						15					
	f ED ₅₀	1,075						1,09					
Toksiškumo parametrai, ml/kg	LD ₀	4,40						4,4					
	LD ₁₆	6,30						5,8					
	LD ₅₀	7,10 (6,60-7,63)						6,6 (6,05-7,19)					
	LD ₈₄	8,00						7,2					
	LD ₁₀₀	11,0						9,6					

Sušvirktę preparato, 10 parų stebėjome, kaip gyvūnėliai jaučiasi. Nugaišusius gyvūnėlius skrodėme, apžiūrėjome jų vidaus organus.

Linkolistino antibakteriniam poveikiui *in vitro* nustatyti, *E. coli*, *Candida albicans*, *S. aureus* mikrobai pasėti į tris mėgintuvėlius su mėsos peptono sultiniu (MPB). Jų kiekis nustatytas toks, kad matuojant makfarlandometru mikrobų koncentracija būtų 0,5 F, o *Str. uberis* pasėtas į mėgintuvėlį su MPB gausiau, kad makfarlandometro rodmenys būtų 2 F. Šios kultūros iš mėgintuvėlių po 0,5 ml pasėtos į Miulerio–Hintono agarą. Lėkštelės (neapverstos) palaikytos 15 minučių termostate 37° C temperatūroje. Ant kiekvienos lėkštelės agarą su mikrobais paviršiaus uždėti 6 filtrinio popieriaus diskeliai (diametras 7 mm), suvilgyti linkolistino tirpale. Lėkštelės su kultūromis ir diskeliais termostate 37° C temperatūroje laikytos 24 valandas. Tada slankmačiu matuotos praskaidrėjusios zonos.

Linkolistino baktericidinės savybės nustatytos su mišria mikrobų kultūra, išskirta iš karvės, sergančios mastitu. Į centrifuginius mėgintuvėlius buvo paimta po 1 ml kultūros ir įdėta po 0,5 ml linkolistino. Palaikius mėgintuvėlius skirtingą laiką (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 minučių), jie buvo centrifuguojami, susidaręs virš mikrobinių kultūrų skystis nupiltas ir užpilta po 3 ml sterilus fiziologinio tirpalo. Iš kiekvieno mėgintuvėlio imti bandiniai ir pasėti į Petri lėkšteles su 4% peptono agarą ir 1% gliukozės terpe, kurios laikytos termostate 37° C temperatūroje.

Pieno reakcija su mastestu buvo vykdoma tokiu būdu: į specialias baltas lėkšteles buvo pilama po 2 ml testo tirpalo ir sumaišoma su 2 ml tiriamo pieno. Lėkštelės buvo sukamos 5–10 sekundžių, tada vizualiai buvo nustatomi mišinio konsistencijos ir spalvos pokyčiai. Pagal pasikeitusią mišinio konsistenciją ir spalvą reakciją vertinome 5 balų sistema.

Prieš karves gydant nustatytas bakterijų jautrumas antibiotikams. Somatinių ląstelių skaičius nustatytas aparatu „Somatas“. Mastitu sergančioms karvėms išmelžus pieną, etilo spiritu nuvalius spenio galą, į kiekvieną ketvirtį per spenio lataką 2–3 kartus (tarpas tarp injekcijų – 24 val.) buvo švirškčiama 10 ml linkolistino, kol gyvulus pasveiko (nustatyta atliekant tešmens klinikinius ir pieno laboratorinius tyrimus).

Prieš duodant vaistus, atliekant pieno bandinių bakteriologinius tyrimus veterinarijoje taikomomis metodikomis, išskirti ligų sukėlėjai ir nustatytas jų jautrumas antibiotikams. Linkolistino poveikio tyrimai atlikti Kauno r. LVA Praktinio mokymo centro karvių fermose ir Kaišiadorių r. ūkininkų fermose. Gydymo metu buvo atliekami bendrieji klinikiniai tyrimai. Bakteriologiniai tyrimai pakartoti praėjus 7 dienoms po paskutinės injekcijos. Tiriamo vaisto poveikis įvertintas lyginant gyvulių sergamumą, ligos trukmę ir pasveikusių karvių skaičių bandomojoje grupėje.

Inhibitorinių medžiagų išsiskyrimo su pienu, sušvirškštus linkolistino, laikui nustatyti atrinktos dvi karvių grupės. Bandomosios grupės mastitu sergančioms šešioms karvėms į tešmenį sušvirškštus linkolistinas, kontrolinėms sveikoms karvėms preparatai nešvirškšti. Pienas tirtas „Valio T101“ (VĮ „Pieno tyrimai“) testu prieš švirškčiant vaistus ir po 24, 48, 60, 72, 84 valandų sušvirškštus preparatus. „Valio T101“ pagrindą sudaro *Streptococcus thermophilus* kultūra, jautri įvairiems antibiotikams ir inhibitorinėms medžiagoms, taip pat ir plovimo bei dezinfekavimo priemonėms.

Moksliniai tyrimai atlikti laikantis laboratorinių gyvūnų naudojimo moksliniams bandymams reikalavimų

(LR valstybinės veterinarinės tarnybos 1999 01 18 įsakymas Nr. 4-16).

Tyrimo rezultatai ir statistiniai duomenys apskaičiuoti kompiuterinėmis programomis „Sigma Plot“ ir „Microsoft Excel 97“. Apskaičiuoti statistinių duomenų aritmetiniai vidurkiai (M), absoliutinė paklaida (m), vidutinis kvadratinis nuokrypis (σ), patikimumo koeficientas (p). Skirtumas patikimas tada, kai $p < 0,05$.

Tyrimų rezultatai. Baltosios pelės ir jūrų kiaulytės, gavusios linkolistino, buvo nejudrios, apsnūdusios, mažai ėdė. Sušvirškštus preparato, dažniausiai gyvulėliai gaišo pirmą ir antrą parą. Išskrostų gyvulėlių pilvo ertmėje aptikta nesirezorbavusio preparato. Pastebėta, kad tose vietose, kur sušvirškšta preparato, audiniai parudavę, pilvaplėvė ir žarnos paraudusios, inkstai hiperemiški. Tyrimais nustatėme tokius ūmaus toksiškumo parametrus: baltosioms pelytėms – LD₅₀ – 7,10 ml/kg, jūrų kiaulytėms – LD₅₀ – 6,60 ml/kg (1 lentelė).

Linkolistino antimikrobinio poveikio duomenys pateikti 2 lentelėje. Iš jų matyti, kad aplink linkolistinu sumirkytus diskelius didžiausios praskaidrėjusios zonos (30,24±1,11 mm) nustatytos tose lėkštelėse, kuriose buvo pasėti stafilokokai (*S. aureus*). Gerai linkolistinas veikė ir streptokokus (praskaidrėjusios zonos plotis 23,05±1,43 mm, p palyginti su stafilokokais mažesnis už 0,05), mikroskopinius grybus (*C. albicans*) (praskaidrėjusios zonos plotis 27,85±1,31 mm). Ešerichijas ir enterokokus linkolistinas antibakteriškai veikė vienodai (praskaidrėjusios zonos plotis atitinkamai 20,19±0,52 mm ir 20,06±0,63; $p > 0,05$).

2 lentelė. Antimikrobinis linkolistino poveikis (*in vitro*)

Preparatas	Praskaidrėjusios zonos plotis, mm				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Str. uberis</i>	<i>C. albicans</i>	Enterokokai
Linkolistinas	22,30	32,10	23,25	32,00	17,80
	20,75	30,45	24,90	25,05	19,00
	18,80	28,20	28,30	25,00	20,30
	19,00	34,65	19,35	31,80	22,25
	20,30	27,85	19,00	27,10	20,00
	20,00	28,20	23,50	26,200	21,05
M±m	20,19±0,52	30,24±1,11	23,05±1,43	27,85±1,31	20,06±0,63

Baktericidinių savybių tyrimų duomenimis, išlaikius mėgintuvėlius su kultūra ir linkolistinu 10, 15, 20 minučių, pasėtose terpėse augo pavienės mikrobu kolonijos. Palaikius mėgintuvėlius ilgiau kaip 20 minučių, pasėtose terpėse mikrobai neaugo. Vadinasi, preparatas veikia bakteriostatškai ir baktericidiškai.

3 lentelėje pateikti duomenys rodo, kad sušvirškštus linkolistino pirmą dieną statistiškai patikimai padidėja somatinių ląstelių skaičius (SLS). Vėliau SLS sumažėja ir patikimo skirtumo nėra. Nežymiai padidėjęs SLS skaičius rodo, kad linkolistinas nežymiai trumpam sudirgina tešmens audinį.

4 lentelėje matyti, kad iš visų mastitu sergančių karvių pieno buvo išskirti streptokokai arba stafilokokai. Stafilokokai buvo jautrūs eritromicinui (iš 4 mėginių), streptomycinui (iš 3 mėginių), penicilinui (iš 4 mėginių), gentamicinui (iš 4 mėginių), linkomicinui (iš 4 mėginių)

ir linkolistinui (iš 8 mėginių). Streptokokai buvo jautrūs eritromicinui (iš 5 mėginių), streptomycinui (iš 4 mėginių), penicilinui (iš 4 mėginių), gentamicinui (iš 2 mėginių), linkomicinui (iš 4 mėginių) ir linkolistinui (iš 8 mėginių). Praskaidrėjimų zonų pločio skirtumai statistiškai nepatikimi, išskyrus linkolistino.

Linkolistino poveikio gydant karves, sergančias mastitu, rezultatai pateikti 5 lentelėje. Iš jų matyti, kad trys karvės sirgo slaptuoju, o septynios – klinikinio mastitu. Po trijų gydymo linkolistinu dienų pasveiko 8 karvės. Tai nustatyta tiriant karves kliniškai ir atliekant pieno bandinių laboratorinius tyrimus (atlikus pieno reakciją su mastestu, nustatius somatinių ląstelių skaičių, atlikus bakteriologinius tyrimus).

Sergančių karvių pieno ir mastesto reakcijos buvo vertintos 4 ir 5 balais, somatinių ląstelių skaičius kito nuo 928 iki 8231 tūkstančių 1 ml pieno (6 lentelė). Praėjus 7

gydymo dienoms linkolistinu, stafilokokai išskirti tik iš dviejų karvių pieno, pieno ir mastesto reakcijos buvo vertintos 1 ir 2 balais (dviejų karvių pienas mastestu

vertintas 4 balais), somatinių ląstelių skaičius kito nuo 213 iki 1294 tūkstančių 1 ml pieno (dviejų karvių piene nustatytas padidėjęs somatinių ląstelių skaičius).

3 lentelė. Somatinių ląstelių skaičiaus piene pokyčiai sušvirkštus linkolistino

Karvės Nr.	Tešmens ketv.	Preparatas	SLS prieš injekciją	SLS praėjus dienoms po injekcijos							
				1	2	3	4	5	6	7	8
1	PD	Linkolistinas	269	445*	321	300	250	312	294	279	259
	PK	Linkolistinas	325	469*	334	320	300	345	310	300	305
	UD	Kontrolė	95	110	118	100	125	150	145	125	99
	UK	Kontrolė	103	143	135	128	150	148	151	123	132
2	PD	Linkolistinas	132	310*	200	185	182	220	168	142	154
	PK	Linkolistinas	325	458*	338	329	354	340	274	305	317
	UD	Kontrolė	205	213	215	212	245	220	241	235	226
	UK	Kontrolė	186	205	210	198	230	224	210	196	201
3	PD	Linkolistinas	243	459*	352	349	396	365	274	233	227
	PK	Linkolistinas	324	469*	344	350	360	298	251	304	324
	UD	Kontrolė	346	359	350	360	374	395	304	306	335
	UK	Kontrolė	230	248	250	253	286	289	243	240	235
4	PD	Linkolistinas	310	468*	358	334	365	354	295	310	289
	PK	Linkolistinas	153	435*	212	179	220	310	184	163	185
	UD	Kontrolė	167	179	181	172	180	197	165	177	181
	UK	Kontrolė	184	198	200	197	210	158	162	174	164
M			224,8	323,0	257,3	247,8	264,1	270,3	229,4	225,7	227,0
m			21,06	33,85	20,87	21,62	21,55	20,51	14,92	17,34	18,19
p				<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

p – palyginti su duomenimis, gautais prieš injekciją. p* – <0,05

Santrumpos: PD, PK – priekinis dešinysis (kairysis), UK, UD – užpakalinis kairysis (dešinysis)

4 lentelė. Iš karvių išskirtų kokių jautrumas antibiotikams

Karvių Eil. Nr.	Praskaidrėjusios zonos, mm											
	Stafilokokų						Streptokokų					
	Erit.	Strep.	Pen.	Gen.	Lin.	Rf.	Erit.	Strep.	Pen.	Gen.	Lin.	Rf.
1	10	9	11	12	20	13	9	17	9	6	18	14
2	20	18	23	10	20	14	7	9	10	8	19	15
3	9	8	10	20	22	12	20	16	7	21	20	16
4	22	17	11	9	20	16	5	8	5	5	18	15
5	8	7	8	19	23	15	22	17	7	20	19	14
6	5	8	7	20	21	16	20	6	22	22	20	14
7	9	4	6	18	24	14	21	18	10	21	21	13
8	4	3	20	9	19	15	4	9	21	7	18	14
9	6	17	23	7	21	16	8	5	8	6	20	11
10	21	16	21	5	22	17	7	4	4	4	18	12
M	11,5	10,7	13,7	13,0	21,2	14,8	12,4	11,0	10,3	11,8	19,1	13,8
m	1,98	1,64	2,00	1,65	0,49	0,49	2,12	1,58	1,78	2,24	0,34	0,46

Santrumpos: Erit. – eritromicinas, Strep. – streptomocinas, Pen. – penicilinas, Gen. – gentamicinas, Lin. – linkomicinas, Rf.– rifamicinas

Mastesto rodmenų ir somatinių ląstelių skaičiaus skirtumai prieš gydymą ir praėjus 7 dienoms po gydymo statistiškai patikimi. Dviem karvėms po gydymo linkolistinu nustatytas tik sumažėjęs tešmens uždegimas, tačiau visiškai karvės nepasveiko (buvo pakitęs pienas, pieno reakcija mastestu įvertinta 4 balais, somatinių ląstelių skaičius 1 ml pieno buvo daugiau kaip milijonas, iš jų pieno išskirti sukėlėjai). Vėliau karvės gydytos kitais preparatais, tačiau galutinai taip pat nepasveiko. Šios

karvės išbrokuotos. Iš 4 gydytų karvių, kurių piene išskirti stafilokokai, pasveiko 3 (gydymo efektyvumas – 75%). Iš 6 karvių, kurių piene išskirti streptokokai, pasveiko 5 (gydymo efektyvumas – 83,3%). Iš viso gydyta 10 mastitu sergančių karvių, pasveiko 8. Gydymo efektyvumas – 80%.

Tyrimais nustatyta, kad prieš švirkščiant vaistus bandymui parinktų karvių piene inhibitorinių medžiagų nebuvo (7 lentelė). Sušvirkštus preparata, inhibitorinės

medžiagos su pienu nustatytos po 12, 24, 36, 48, 60 piene neberasta. valandų. Praėjus 72 valandoms inhibitorinių medžiagų

5 lentelė. Linkolistino efektyvumas gydant mastitu sergančias karves

Karvės Eil. Nr.	Sušvirkšta preparato dozių	Gydyta dienų	Tešmens uždegimas	Gydymo efektyvumas	Pastabos
1	12	3	Slaptasis	Pasveiko	
2	14	3	Klinikinis	Nepasveiko	Išbrokuota
3	13	3	Klinikinis	Pasveiko	
4	12	3	Slaptasis	Pasveiko	
5	12	3	Klinikinis	Pasveiko	
6	13	3	Klinikinis	Pasveiko	
7	13	3	Klinikinis	Pasveiko	
8	14	3	Klinikinis	Nepasveiko	Išbrokuota
9	12	3	Klinikinis	Pasveiko	
10	12	3	Slaptasis	Pasveiko	
M±m	12,7 ± 0,26	3 ± 0,0	–	–	–

6 lentelė. Karvių pieno tyrimai prieš gydant ir praėjus 7 dienoms po gydymo

Karvės Eil. Nr.	Išskirti sukėlėjai		Mastesto rodmenys, balais		Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	
	Prieš gydant	Praėjus 7 d. po gydymo	Prieš gydant	Praėjus 7 d. po gydymo	Prieš gydant	Praėjus 7 d. po gydymo
1	<i>S. agalactiae</i>	Nerasta	5	2	2166	410
2	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	5	4	8231	925
3	Koaguliazei neg. stafilokokai	Nerasta	5	2	3933	386
4	<i>S. dysgalactiae</i>	Nerasta	5	1	1864	313
5	<i>S. agalactiae</i>	Nerasta	5	1	7938	365
6	<i>S. uberis</i>	Nerasta	5	1	1963	292
7	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>	5	4	8024	1362
8	<i>S. aureus, S. agalactiae</i>	Nerasta	5	1	4255	284
9	<i>E. coli</i>	Nerasta	5	1	5277	296
10	<i>S. aureus</i>	Nerasta	4	1	928	213
M	–	–	4,90	1,80	4457,9	484,6
m	–	–	0,10	0,38*	886,42	108,19*

p < 0,05 – palyginti su duomenimis, gautais prieš gydant

7 lentelė. Antimikrobinių medžiagų išsiskyrimas su pienu po linkolistino injekcijos

Karvės Eil. Nr.	Prieš švirkščiant vaistus	Inhibitorinių medžiagų buvimas piene						
		Praėjus val. po injekcijos						
		12	24	36	48	60	72	84
1	Nerasta	+	+	+	+	+	Nerasta	Nerasta
2	Nerasta	+	+	+	Nerasta	Nerasta	Nerasta	Nerasta
3	Nerasta	+	+	+	+	+	Nerasta	Nerasta
4	Nerasta	+	+	+	+	Nerasta	Nerasta	Nerasta
5	Nerasta	+	+	+	Nerasta	Nerasta	Nerasta	Nerasta

Rezultatų aptarimas. Mastitu sergančių karvių gydymas ir profilaktika atliekami atsižvelgiant į ligos sukėlėją ir kitas etiologines priežastis, uždegimo pobūdį, pieno liaukos audinio pažeidimo mastą, bendrą gyvulio sveikatos būklę bei pieno fizines ir chemines savybes. Mastitu sergančios karvės gydomos daugeliu antimikrobinių preparatų, kurie švirkščiami į tešmenį arba

į raumenis. Būtinumas ieškoti plataus veikimo spektro preparatų, kurie gerai veiktų gramteigiamus ir gramneigiamus mikrobus, mikoplazmas, įgalina komponuoti įvairius antibakterinių medžiagų derinius. Linkolistinas skirtas mastitu sergančioms karvėms gydyti laktacijos metu. Linkolistino veiklioji medžiaga linkomicinas veikia besidauginančius mikroorganizmus,

trikdo jų ribonukleino rūgšties sintezę (Thurmond, 1993; Pyörälä S., Pyörälä E., 1994; Sandholm, 1995).

Mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad linkolistinas geriausiai veikia gramteigiamas bakterijas (stafilokokus ir streptokokus), kurios dažniausiai sukelia karvių slaptąjį ir klinikinį mastitą laktacijos metu. Nežymiai padidėjęs SLS skaičius rodo, kad linkolistinas šiek tiek trumpam sudirgina tešmens audinį. Tačiau analogišką SLS padidėjimą sušvirkštus antibakterinių preparatų nustatė daugelis mokslininkų (Gutenbock et al., 1993; Pyörälä S., Pyörälä E., 1994; Bewick, 1996; Piddock, 1996). Tešmens audinys yra jautrus, ir net nedidelis cheminių medžiagų kiekis gali sukelti nežymius audinio pokyčius ir greitai padidinti SLS.

Tyrimų rezultatai rodo, kad linkolistinas yra mažai toksiškas, nes jo LD₅₀ yra 6,60–7,10 ml/kg (pagal sausąsias medžiagas – 538,9–579,7 mg/kg), pagal farmakopėją ir chemoterapiją vaistinės medžiagos, kurių LD₅₀ yra tarp 500 ir 5000 mg/kg, priklauso mažo toksiškumo grupei. Nustatytas linkolistino išlaukos laikas (72 h) mažai skiriasi nuo kitų analogiškų preparatų (Craven, 1987; Gutenbock et al., 1993; Peterson, Shanholtzer, 1998).

Linkolistinas gerai gydė karves, sergančias klinikiniu mastitu, kurio sukėlėjai buvo mažai jautrūs kitiems antibiotikams. Kitų straipsnių autoriai (Ziv, 1992; Hamann et al., 1992; Gutenbock et al., 1993; Vasil, 1996) nurodo, kad linkozamidai efektyviai veikia kokus, yra tinkami gramteigiamų mikroorganizmų sukeltiems mastitams gydyti.

Išvados.

1. Linkolistinas yra mažai toksiškas, nes jo LD₅₀ baltosioms pelytėms yra 7,10 ml/kg, jūrų kiaulytėms – 6,60 ml/kg (pagal sausąsias medžiagas – 538,9–579,7 mg/kg).

2. Nustatant linkolistino antimikrobinį veikimą *in vitro*, didžiausios praskaidrėjusios zonos (30,24±1,11 mm) rastos tose lėkštelėse, kuriose buvo pasėti stafilokokai (*S. aureus*). Gerai preparatas veikė streptokokus (praskaidrėjusios zonos plotis 23,05±1,43 mm), mikroskopinius grybus (praskaidrėjusios zonos plotis 27,85±1,31 mm) ir patenkinamai – ešerichijas (praskaidrėjusios zonos plotis 20,19±0,52 mm). Linkolistinas mikrobus veikia bakteriostatiškai ir baktericidiškai.

3. Sušvirkštus linkolistino, pirmą dieną statistiškai patikimai padidėja somatinių ląstelių skaičius. Vėliau SLS sumažėja ir patikimo skirtumo nėra.

4. Linkolistino efektyvumas gydant mastitą laktacijos metu yra apie 80%. Tas nustatyta tiriant karves kliniškai ir atliekant pieno mėginių laboratorinius tyrimus (atlikus pieno reakciją mastestu, nustačius somatinių ląstelių skaičių, atlikus bakteriologinius tyrimus).

5. Sušvirkštus preparatą, inhibitorinės medžiagos su pienu nustatytos po 12, 24, 36, 48, 60 valandų. Inhibitorinių medžiagų piene nerasta praėjus 72 valandoms po injekcijos.

Literatūra

1. Bewick T. Intramammary antibiotic diffusion within the treated udder. *Cattle-Practice* (United Kingdom). 1996. Vol. 4 (1). P. 85–86.

2. Craven N. Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation – a review. *British Veterinary Journal*. 1987. Vol. 143. P. 410–415.

3. Erskine R., Kirk J., Tyler J., deGraves F. Advances in the therapy of mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1993. N. 9 P. 499–517.

4. Gutenbock W., Van Eenennaam A., Anderson R., Gardner I. Efficacy of intramammary antibiotic therapy of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *Journal of Dairy Science*. 1993. Vol. 76. P. 3437–3444.

5. Hamann J., Gedek W. Zur Bedeutung der Therapie in Rahmen der Bekämpfung der Rindesmastitis. *Milch-Praxis*. 1992. Bd. 30. N 30. S. 108–113.

6. Hoedemaker M. Mastitis – Ursachen und Massnahmen. *Kurzeit- oder Langzeitantibiotika? Rinderwelt* (Germany). 1996. Vol. 21 (6). S. 8–12.

7. Peterson L. R., Shanholtzer C. J. 1992. Tests for bactericidal effects of antimicrobial agents: technical performance and clinical relevance. *Clin. Infect. Dis*. 1998. 27(1). P. 28–32.

8. Piddock L. Does the use of antimicrobial agent in veterinary medicine and animal husbandry select antibiotic resistant bacteria that infect man and compromise antimicrobial chemotherapy? *J. Antimicrob. Agents and Chemother.* 1996. 38. P. 1–3.

9. Pyörälä S. Therapy of clinical mastitis. In: *The bovine udder and mastitis* (Sandholm M., Honkanen-Buzalski T., Kaartinen L., Pyörälä S., eds.), University of Helsinki. 1995. P. 201–209.

10. Pyörälä S., Pyörälä E. Efficacy of therapy in clinical mastitis during lactation. XVII Nordic Veterinary Congress. Reykjavik. 1994. P. 134–145.

11. Ratnakumar A. V., Hamza P. A., Choudhuri P. C. Treatment of subclinical mastitis in early lactation. *Indian Veterinary Journal*. 1996. 73. N.9. P. 970–972.

12. Sandholm M. A critical view on antibacterial mastitis therapy. In: *The bovine udder and mastitis* (Sandholm M., Honkanen-Buzalski T., Kaartinen L., Pyörälä S., eds.), University of Helsinki. 1995. P. 169–186.

13. Thurmond M. Epidemiological methods in mastitis treatment and control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1993. Vol. 9. P. 435–444.

14. Vasil M. Reduction of mastitis occurrence in dairy cow herds using combined antimastitis methods. *Polnohospodarstvo* (Slovakia). 1996. Vol. 42 (3). P. 221–232.

15. Ziv G. Treatment of peracute mastitis. *Food Animal Practice. Applied Pharmacology and Therapeutics*. 1992. N 8. P. 1–16.

16. Бельский М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Ленинград: Изд. Мед. Лит., 1963. С. 1–148.