

OTROVANJE ORGANOFOSFORNIM SPOJEVIMA I KARBAMATIMA

Levak, S.¹ i A. Prevendar Crnić²

¹ Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, studentica

² Zavod za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

.....

SAŽETAK

Organofosfati i karbamati su sintetski spojevi koji se rabe kao pesticidi u poljoprivredi, industriji i domaćinstvima. U veterinarskoj se medicini rabe kao antiparazitici. Njihova je toksičnost posljedica inhibicije enzima acetilkolinesteraze koja fiziološki hidrolizira neurotransmitor acetilkolin na sinapsama živčanog tkiva i živčano-mišićnih spojeva te efektivnih organa i žlijezda. Klinički se znakovi mogu podijeliti na lokalne i sistemske ili, prema učinku na receptorima, na muskarinske, nikotinske i centralne. Simptomi variraju od blagih (slinjenje, tremor) do ozbiljnih (konvulzije, napadaji, paraliza, smrt). Liječenje se temelji na simptomatskom liječenju i primjeni antidota. Antidoti za otrovanje antikolinesterazama su atropin i oksimi (samo za organofosfate).

.....

UVOD

Organofosfati i karbamati u svijetu se najčešće rabe kao pesticidi u poljoprivredi, industriji i u tretiranju vrtova. U veterinarskoj se medicini rabe i kao antiparazitici (Gupta, 2007.). Obje su skupine spojeva toksične zbog svoje sposobnosti inhibicije enzima acetilkolinesteraze na sinapsama živčanog tkiva i živčano-mišićnih spojeva. Zbog toga ih se naziva antikolinesterazama. Mnogi su spojevi iz skupine organofosfata i karbamata ekstremno toksični i nisu ovisni o vrsti te u slučajevima njihove nepažljive ili pogrešne primjene mogu biti opasni za okoliš, ljude i životinje, divljač i vodene sustave (Gupta, 2007.).

Jedan od prvih organofosfornih insekticida, paration, sintetizirao je kemičar Gerhardt Schrader tridesetih godina dvadesetog stoljeća. Rabi se širom svijeta, iako se danas sve više brani njegova uporaba. Prije Drugoga svjetskog rata u Njemačkoj sintetizirani su visokotoksični OF-spojevi (tabun, soman, sarin) – bojni otrovi, a pedesetih godina u Velikoj Britaniji i Sovjetskom savezu ekstremno toksični spojevi VX i VR. Nakon Drugoga svjetskog rata tisuće OF-spojeva sintetizirano je kako bi se pronašao spoj specifične toksičnosti za određene vrste, npr. visokotoksičan za insekte, a malo za sisavce. Primjer takvog spoja jest malation, spoj koji je primjenjivan više od pola stoljeća kao najpopularniji insekticid. Danas je u uporabi više od stotinjak OF-spojeva za različite svrhe, od zaštite usjeva, žitarica, vrtova, kuća, životinja te u javnome zdravlju.

Prvi karbamatni spoj, fizostigmin, izoliran je sredinom 1860. godine i rabio se u liječenju glaukoma. Većina karbamata (estera karbaminske kiseline) koji su se rabili kao pesticidi sintetizirana je šezdesetih i sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća. Karbaril je prvi karbamatni insekticid. Iako ih se sintetiziralo tisuće, samo ih je dvadesetak u praktičnoj uporabi. Danas se preferira uporaba karbamatnih pesticida u odnosu na organofosfate, zbog visoke toksičnosti nekih organofosfata, te njihove sposobnosti da uzrokuju prolongiranu polineuropatiju u životinja i ljudi.

Tablica 1. Popis OF i KM insekticida koji se koriste u RH (iz Glasnika zaštite bilja, 2011.)

KARBAMATI

PRIPRAVAK	DJELATNA TVAR	SVRHA
Mesurool WP 50	500 g/l ili g/kg metiokarb	<ul style="list-style-type: none"> Tretiranje tla i/ili sjemena Repelentno djelovanje na <i>ptice</i>
Mesurool FS 500		
Mesurool granulat	40 g/l ili g/kg metiokarb	Za tretiranje tla i/ili sjemena (povrće i ukrasno bilje, ratarski usjevi - suzbijanje <i>rovca</i> i <i>puževa</i>)
Metiol	10 g/l ili g/kg metiokarb	
Pirimor 50 WG	500 g/kg pirimikarb	Za suzbijanje <i>lisnih ušiju</i>

ORGANOFOSFATI

PRIPRAVAK	DJELATNA TVAR	SVRHA
Calinogor	400 g/l dimetoat	Suzbijanje insekata koji sišu i grizu, grinja
Chromogor 40		
Perfekthion		
Ritam		
Rogor 40		
Sistemin E-40		
Zagor		

Callifos 48 EC	480 g/l ili g/kg klorpirifos-etil	<ul style="list-style-type: none"> Suzbijanje štetnika voćaka, ratarskih usjeva Callifos 48 EC, Dursban E-48, Finish E-48, Nufos - Suzbijanje štetnika u tlu (480 g/l klorpirifos-etil) 	
Dursban E-48			
Finish E-48			
Nufos			
Pyrinex 250 ME			250 g/l ili g/kg klorpirifos-etil
Chromorel – D			500 g/l ili g/kg klorpirifos-etil + 50 g/l ili g/kg cipermetrin
Kalinorel D			
Nurelle D			
Pinurel D			
Pirel D			
Terel			
Chromorel Z	450 g/l ili g/kg klorpirifos-etil + 30 g/l ili g/kg zeta-cipermetrin	Suzbijanje nametnika krumpira i šećerne repe	
Chromorel ZP	18 g/l ili g/kg klorpirifos-etil + 1,4 g/l ili g/kg zeta-cipermetrin		
Chromorel P-2	18 g/l ili g/kg klorpirifos-etil + 2 g/l ili g/kg cipermetrin		
Kalinorel prašivo P2			
Dursban G-7,5	75 g/l klorpirifos-etil	Suzbijanje štetnika u tlu	
Finish G-7,5			
Lino	400 g/l klorpirifos - metil	Suzbijanje nametnika voćaka, vinove loze, pšenice, kupusa i uljane repice	
Reldan 40 EC			
Rely 40			
Pyrinex 48 EC	480 g/l klorpirifos - etil	Suzbijanje štetnika u tlu	
Actellic 50 EC	500 g/l pirimifos - metil	<ul style="list-style-type: none"> Suzbijanje štetnika voćaka i ratarskih usjeva Dezinsekcija žitarica 	
Pirimifos-metil 50 EC		Suzbijanje štetnika voćaka i ratarskih proizvoda	

Životinje se najčešće otruju nakon primjene insekticida u zaštiti bilja, pri higijenskoj dezinfekciji stočnih nastambi, zbog nestručne primjene antiparazitika ili slučajno primiješanih pripravaka u hranu. Mogući su i slučajevi sekundarnih otrovanja ingestijom većih količina otrovanih kukaca ili ptica (Beasley, 1999.; Srebočan i Srebočan, 2009.).

Tablica 2. Popis veterinarsko-medicinskih pripravaka koji sadržavaju OF i KM kao aktivnu tvar registriranih za uporabu u RH (MP, 2012.).

Naziv	Terapijska skupina	Farmaceutski oblik	Aktivna tvar	Ciljna živ. vrsta	Proizvođač	Zastupnik	ATC kod
KARBAMATI							
Kiltix ovratnik za srednje velike pse	Antiparazitik, ektoparaziticid za lokalnu primjenu, kombinacija karbamata i piretroida	Ovratnik	Propoksur, flumetrimin	Pas (11 – 20kg)	Bayer AH GmbH	Bayer d.o.o.	QP53AC55
Kiltix ovratnik za velike pse				Pas (>21kg)			
ORGANOFOSFORNI SPOJEVI							
Gamacid D	Antiparazitik, ektoparaziticid za lokalnu primjenu i artropocid za okoliš životinje	Koncentrirana otopina za pripremu emulzije	Diazinon	Ovca	Veterina d.o.o.	Veterina d.o.o.	QP53AF03
Hobby Cat Ectoband	Antiparazitik, ektoparaziticid za lokalnu primjenu	Ovratnik		Mačka	ICC Laboratories Veterinaires	Hobby Program d.o.o.	
Hobby Dog Ectoband				Pas			
Sebacil 50 EC		Tekući koncentrat za pripremu emulzije s vodom	Foksim	Svinja, ovca, pas	Bayer AH GmbH	Bayer d.o.o.	QP53AF01
ByeMite 500 mg/mL	Antiparazitik, antiectoparazitik za lokalnu primjenu	Koncentrat za pripremu emulzije za raspršivanje po nesilicama		Kokoši nesilice			

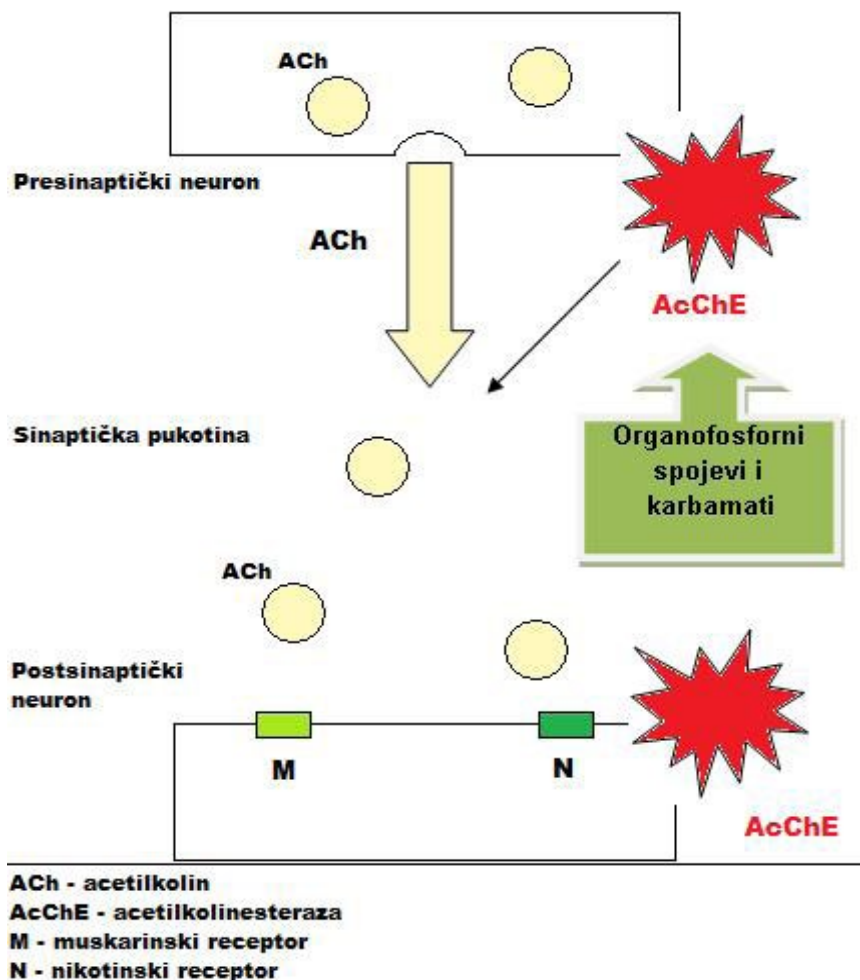
METABOLIZAM I MEHANIZAM DJELOVANJA

Liposolubilnost većine organofosfata omogućuje izdašnu i brzu oralnu, dermalnu i inhalacijsku resorpciju, iako ima i polarnih organofosfornih insekticida koji se brzo resorbiraju, pa liposolubilnost nije jedini čimbenik brzine resorpcije. Prodiru u sva tkiva, prolaze placentalnu barijeru i odlažu se u tkivo fetusa, obrnuto proporcionalno stupnju polarnosti spoja.

Ciljno tkivo je živčano tkivo, tj. enzim acetilkolinesteraza, čiju aktivnost ti insekticidi. Neki organofosforni spojevi minimalno djeluju na acetilkolinesterazu, ali uzrokuju fosforil a

inhibiraju. Inhibiraju i eritrocitnu kolinesterazu, serumsku i jetrenu pseudokolinesterazu te neke hidrolaze, fosfataze, pa čak i peptidaze.

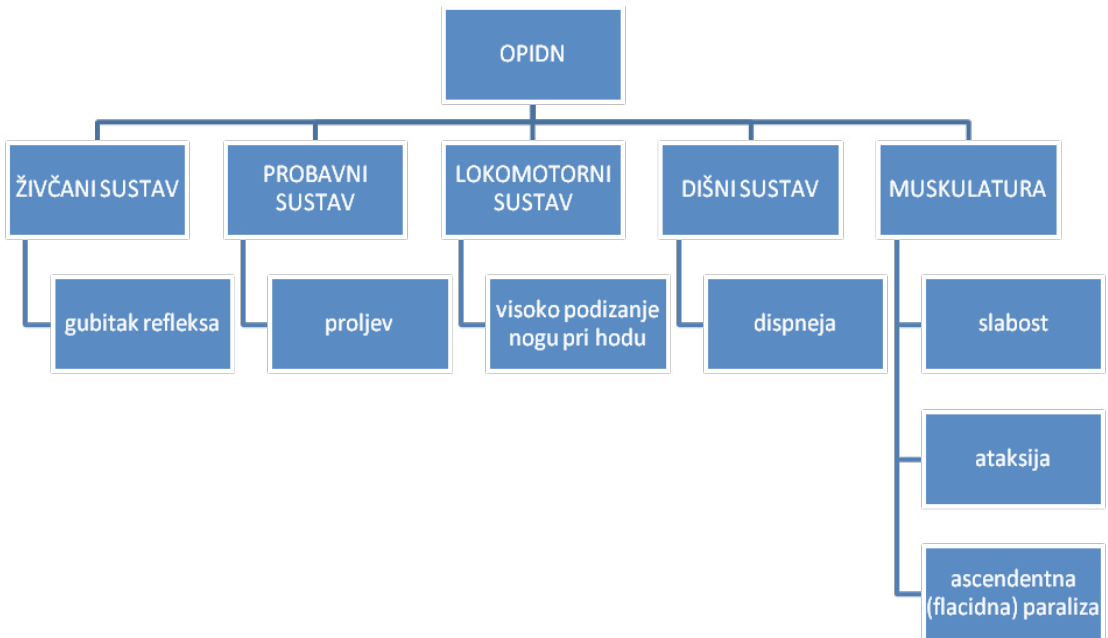
Inhibicija acetilkolinesteraze uzrokuje najprije nakupljanje acetilkolina, a zatim iscrpljivanje depoa tog neurotransmitora na kolinergičnim receptorima, što se najprije očituje u učestalosti, a potom u inhibiciji prijenosa impulsa, odnosno funkcije organa kad je riječ o završnim sinapsama.



Slika 1. Inhibicija acetilkolinesteraze i nakupljanje acetilkolina u sinaptičkoj pukotini (prema Boelsterli, 2003.)

Organofosforni spoj sadržava fosforni radikal kojim se veže za esterski dio molekule enzima čime kompetitivno inhibira acetilkolinesterazu i druge kolinesteraze. Prvi stupanj reakcije je rani stadij hidrolize acetilkolina, što je reverzibilno, a drugi i treći stupanj čini fosforilacija acetilkolinesteraze, što je ireverzibilno (Srebočan i Srebočan, 2009.). Karbamati pak karbamiliraju taj enzim, ali je inhibicija u pravilu reverzibilna, pa se nakon nekog vremena enzim reaktivira (Beasley, 1999.).

Neki organofosforni spojevi minimalno djeluju na acetilkolinesterazu, ali uzrokuju fosforilaciju i starenje (dealkilaciju) proteina prisutnog u neuronima – *neuropathy target esterase* (Beasley, 1999.), što uzrokuje klinički sindrom prolongirane polineuropatije – *organophosphorus – induced delayed neuropathy*, OPIDN (Beasley i Poppenga, 1999.). Taj se sindrom pojavljuje 10 do 14 dana nakon otrovanja, a posljedica je degeneracije dugih i širokih motornih i senzornih aksona perifernih živaca i leđne moždine (Srebočan i Srebočan 2009.; Gupta, 2007.).



Slika 2. Prikaz simptoma OPIDN (prema Beasley, 1999.)

Izlučivanje iz organizma je putem žuči i mokraćom; više mokraćom ako je spoj polarne prirode. Izlučuju se i mlijekom, ali u mnogo manjoj mjeri, također ovisno o stupnju polarности, ali i o načinu ulaska u organizam; najmanje nakon dermalne aplikacije (Srebočan i Srebočan, 2009.).

KLINIČKA SLIKA

Znakovi otrovanja variraju ovisno o spoju, dozi, vrsti i dobi životinje, ali i putu ulaska otrova u tijelo. Pojavljuju se u razdoblju od petnaest minuta do sat vremena nakon izlaganja (Gupta, 2007.). Kratko izlaganje parama ili kapima organofosfornog spoja može izazvati lokalni učinak na očima i dišnom sustavu. Na očima se očituje miozom, povećanim intraokularnim tlakom i punokrvnošću spojnice, a na dišnom sustavu povećanom sekrecijom u dušniku i bronhima te kihanjem. Opći ili sistemski učinak nastaje nakon resorpcije otrova

u organizam s mjesta primjene (Srebočan i Srebočan, 2009.), a očituje se simptomima od strane mozga, skeletne muskulature, pluća, srca i drugih organa (Gupta, 2007.). Nakupljanje acetilkolina na receptorima izaziva smanjenje funkcije organa i tkiva (Srebočan i Srebočan, 2009.). Simptomi otrovanja variraju ovisno o tomu koji su receptori prepodraženi, a dijelimo ih na muskarinske, nikotinske i simptome središnjega živčanog sustava (tablica 1).

Tablica 3. Prikaz učinaka organofosfornih spojeva i karbamata s obzirom na receptore (prema Beasley, 1999.; Flanagan i Jones, 2001.; Gfeller i Messonnier, 2004.; Gupta, 2007.; Srebočan i Srebočan, 2009.).

RECEPTORI	MJESTO	UČINAK
MUSKARINSKI	Središnji živčani sustav, gangliji autonomnog živčanog sustava, glatka muskulatura, žlijezde, srce	Imitacija nadražaja parasimpatikusa: gubitak teka, mučnina, povraćanje, količni bolovi, pojačana peristaltika, proljev, znojenje, suženje, bradikardija, otežano disanje, plućni edem, cijanoza, bljedilo kože, mioza, inkontinencija mokrenja i bageanja, u gravidnih životinja – pobačaj
NIKOTINSKI	Neuromuskularne veze skeletne i voljne muskulature, gangliji u autonomnom živčanom sustavu, u srži nadbubrežne žlijezde i SŽS-a	Stimulacija pa paraliza muskulature: trzanje mišićja jezika, očne jabučice, lica i na koncu cijele muskulature, a nakon toga slijede slabost, mlohavost, atonija i paraliza mišićja
CENTRALNI	Sinapse SŽS-a	Stimulacija pa depresija aktivnosti: vrtoglavica, razdražljivost, strah, ataksija, tremor, pospanost, prisilne kretnje, konvulzije, gubitak refleksa, koma

DIJAGNOSTIKA

Iako je klinička slika donekle specifična, dijagnoza se mora potvrditi za života ili 24 sata nakon uginuća životinje određivanjem aktivnosti kolinesteraza u krvi, ili aktivnosti serumske pseudokolinesteraze, ili eritrocitne acetilkolinesteraze (kolinesteraze krvi ili pune krvi). Laboratorijski test utvrđivanja inhibicije aktivnosti kolinesteraze provodi se na sljedeći način: 1. u testu pratimo nastanak jednoga od produkata reakcije i to s pomoću indikatorskog papira koji nas upozorava na pad pH-vrijednosti zbog nastanka octene kiseline kao produkta, odnosno 2. pratimo tvorbu obojenog kompleksa s octenom kiselinom i kolinom kao produktima reakcije. Iz heparizirane venske krvi se centrifugiranjem razdvoje

plazma i eritrociti. Eritrociti se zatim suspendiraju u vodi, razrijede s puferom i zamrznu radi hemolize. Razlikujemo postupak za plazmu i postupak za eritrocite. Pri postupku za plazmu određujemo aktivnost butirilkolinesteraze, nespecifične AChE. Postupkom za eritrocite određujemo aktivnost specifične acetilkolinesteraze. Rezultat se procjenjuje prema promjeni boje otopine plazme i reagensa. Ako je intenzitet boje jači, tada je životinja zdrava. Slabije obojenje upućuje na otrovanje organofosforim spojevima ili karbamatima te je aktivnost enzima snižena, a reakcija usporena (Pompe-Gotal, 2000.).

Pri interpretaciji rezultata treba imati na umu da oni variraju ovisno o dobi, spolu, pa čak i pasmini, ali i gojnom stanju te bolesti životinje (metiljavost, jetrene bolesti, otrovanje hranom). Stupanj inhibicije tih enzima nije uvijek u koleraciji s težinom kliničke slike otrovanja, tj. životinja može pokazivati jake kliničke znakove sa slabo umanjenom aktivnošću kolinesteraza u krvi, i obrnuto. Drugi tip laboratorijskog testiranja jest dokazivanje spoja i/ili metabolita u krvi, sadržaju želuca i crijeva i u tkivu organa (jetra, bubrezi, mozak) te mlijeku (Srebočan i Srebočan, 2009.).

Postoji i test kada se životinji aplicira atropin (0,02 do 0,04 mg/kg iv.). Pojave li se ubrzo znakovi atropinizacije (tahikardija, suha usta, midrijaza), tada životinja nije otrovana antikolinesterazama (Gfeller i Messonnier, 2004.).

LIJEČENJE

Ovisno o težini kliničke slike, odlučuje se hoće li se najprije pristupiti dekontaminaciji ili će prednost imati primjena antidota. Antidoti su atropin i reaktivatori kolinesteraze (samo za otrovanje organofosfatima zbog ireverzibilne reakcije) (Srebočan i Srebočan, 2009.).

Atropin, alkaloid *Atrope belladonne* farmakološki je antidot za otrovanje karbamatima i organofosfatima, kompetitivni antagonist acetilkolinu, koji izrazito koči muskarinski učinak tih otrova (Flanagan i Jones, 2001.). Pri teškim otrovanjima potrebno je dati 1/2 ili 1/3 doze atropina intravenski, a ostalo intramuskularno ili supkutano. Ako je potrebno, treba primjenu ponavljati svakih 10 minuta, a u preživača svakih 1 do 2 sata, dok se ne postigne atropinizacija životinje (smanjeno slinjenje, dilatacija zjenice, suha koža i normalna frekvencija srca).

Reaktivatori kolinesteraze su pralidoksim, 2-PAM i toksogonin (kemijski antidoti). To su hidroksimske kiseline i oksimi čija se oksimska skupina (-NOH) veže na kompleks organofosforni spoj – enzim, odcijepe organofosforni spoj i hidroliziraju ga, pa se enzim reaktivira. Oksimi otklanjaju muskarinski i nikotinski učinak, ali ne i centralni jer ne prelaze moždanu barijeru (osim toksogonin) (Srebočan i Srebočan, 2009.).

Pralidoksim se može ponovno aplicirati nakon jednoga sata. Aplikacija toksogonina može se ponoviti jedan do dva puta u razmaku od dva sata. Ako je životinja blago otrovana, redovito je dovoljno primijeniti samo atropin, a pri teškim otrovanjima organofosforim spojevima, potrebno je dati i oksime (Srebočan i Srebočan, 2009.).

Otrovanoj životinji moguće je primijeniti i difenhidramin (antihistaminik) koji uspješno ublažava nikotinske učinke, ali se ne preporučuje u kombinaciji s atropinom (Srebočan i Srebočan, 2009.).

Tablica 6. Doziranje difenhidramina (prema Gfeller i Messonnier, 2004.; Srebočan i Srebočan, 2009.)

DIFENHIDRAMIN (im., po. 3 puta dnevno)	1 - 4 mg/kg
--	-------------

Diazepam (sedativ) u kombinaciji s antikolinergicima umanjuje depresiju centra za disanje uzrokovanu otrovanjem organofosfatima i pomaže u kontroli nikotinskih učinaka (Gfeller i Messonnier, 2004.; Srebočan i Srebočan, 2009.).

Kontraindicirana je primjena miorelaksansa i sedativa fenotijazinske skupine. (Gfeller i Messonnier, 2004., Srebočan i Srebočan, 2009.).

Tablica 7. Simptomatsko i hitno kliničko liječenje (prema Gfeller, 2004.; Srebočan, 2009.)

	POSTUPAK
KOŽA	<ul style="list-style-type: none"> • Pranje životinje u toploj vodi i detergentu ili 0,1%-tnom otopinom natrijeva hipoklorita (obavezno s rukavicama) • Sušenje i grijanje ako je došlo do hipotermije
INGESTIJA	<ul style="list-style-type: none"> • Crijevni adsorbensi – životinjski ugljen ili kaolin • Emetici kontraindicirani jer životinja već povraća (izazivanje povraćanja jedino ako pacijent ne povraća u prvih sat vremena) • Nježno ispiranje želuca
BRONHALNA SEKRECIJA I SLINJENJE	<ul style="list-style-type: none"> • Držati životinji glavu nisko • Izvaditi sekret i sluz da ne dođe do gušenja • Endotrahealna intubacija
DEHIDRACIJA	<ul style="list-style-type: none"> • Infuzija tekućina i elektrolita • Acidoza - bikarbonati
BAKTERIJSKA KOMPLIKACIJA	<ul style="list-style-type: none"> • Antibiotici
MIR	<ul style="list-style-type: none"> • Pacijent mora biti pod nadzorom i u prostoriji bez mehaničkih, zvučnih i svjetlosnih podražaja
KRV	<ul style="list-style-type: none"> • Laboratorijski nalaz

LITERATURA

ANONIMUS (2011): Glasnik zaštite bilja 2-3. str. 192-200.

BEASLEY, V. (1999): Toxicants that Affect the Automatic Nervous System – Chapter 9; 3. Inhibitors of Cholinesterase; Organophosphorus and Carbamate Insecticides. U: Veterinary Toxicology. (Beasley, V.) (<http://www.ivis.org/advances/Beasley/toc.asp>)

BOELSTERLI, U. A. (2003): Mechanistic Toxicology, Taylor and Francis. London. str. 244-249.

FLANAGAN, R. J., A. L. JONES (2001): Antidotes, Taylor and Francis. London. str. 168-186.

GFELLER R. W., S. P. MESSONNIER (2004): Handbook of Small Animal Toxicology and Poisonings, 2nd ed., Mosby – An Affiliate of Elsevier Science. USA. str. 77-81.

GUPTA, R. C. (2007): Organophosphates and carbamates. U: Veterinary toxicology – Basic and Clinical Principles. (Gupta, R. C., ur.). Academic Press is an imprint of Elsevier. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. str. 477-488.

MPRRR (2010): Popis veterinarsko-medicinskih proizvoda. <http://www.mps.hr/UserDocsImages/VETERINA/VET%20MED%20PRO/Popis%20veterinarsko-medicinskih%20proizvoda%2028.02.2012.pdf>

POMPE-GOTAL, J. (2000): Laboratorijski test za utvrđivanje inhibicije aktivnosti kolinesteraza. Nastavni materijal. Zavod za farmakologiju i toksikologiju, Veterinarski fakultet u Zagrebu. Neobjavljeno.

SREBOČAN V., E. SREBOČAN (2009): Veterinarska toksikologija, drugo obnovljeno i dopunjeno izdanje, Medicinska naklada. Zagreb. str. 39-53.