

ORGANİK FOSFORLU İNSEKTİSİTLERİN BEYAZ FARELERDE BİYOLOJİK YOLLA TEŞHİSİ

Kemal Ozan*

Selahattin Ceylan**

Giriş

Bütün dünyada olduğu gibi memleketimizde de insan ve hayvanlarda büyük çapta zehirlenmelere sebep olan organik fosforlu insektisitlerin biyolojik yolla teşhisleri veya miktar tayinleri için çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda deney hayvanı olarak *Daphnia* türleri (5,6,8,9), *Gammarus*, *Musca domestica* ve *Aedes*ler (6), *Chrysomya chloropyga* ve *Lucilia sericata* sineklerinin larvaları (1) ve *Drosophila melanogaster* sinekleri (7) kullanılmıştır. Bunlardan başka Winbury ve arkadaşları (10) ve Güley (3) kolincsteraz enzimi inhibitörlerinin ratlara periton içi yolla şırınga edilmesi halinde, uygun dozlarda, hafif kanlı bol bir gözyaşı (Chromodacryorrhoe) husule getirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmaların ışığı altında biz de zehirlerin biyolojik yolla teşhisinde çok kullandığımız beyaz farelerden faydalanarak organik fosforlu insektisitlerin kısa yoldan, emin bir şekilde teşhis edilmesinde yardımcı olacak biyolojik bir test ortaya konulup konulamıyacağını düşündük.

Materyal ve Metot

Deney hayvanları :

Yirmi adet beyaz fare kullanıldı. Fareler buğday, ekme kırıntıları ve marul vs. gibi yeşillikle beslendi.

* A. Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Doçenti, Ankara, Türkiye.

** Aynı Kürsüde Dr. Asistan.

Zehirli olduğundan şüpheli materyal :

1 . Bursa Veteriner İşleri Müdürlüğünün 14.10.1969 tarihinde gönderdiği, zehirlenme sonucu ölmüş tavuk ve ördek kursaklarının içerikleri.

2 . İçel Veteriner İşleri Müdürlüğünün 20.10.1969 tarihinde gönderdiği, zehirlenme sonucu ölmüş 5 tavuğun kursak içerikleri.

3 . Buldan Cumhuriyet Savcılığının 24.12.1969 tarihinde gönderdiği, 6 tavuğun zehirlenmesine sebep olduğu bildirilen buğday numunesi.

Şahit materyal :

1 . Teknik parathion: O,O-Dietil-O-(p-nitrofenil) tiyonofosfat.

2 . Methyl parathion: O,O-Dimetil-O-(p-nitrofenil) tiyonofosfat.

Her iki insektisit, farelere verilmek üzere, zeytinyağı ile % 10 çözeltileri hazırlandı.

Metot :

a . Fareler bir cam kavanoz içerisinde bir gece aç bırakıldıktan sonra zehirli olduğundan şüpheli buğday numunelerinden istedikleri kadar yemeleri sağlandı.

b . Zehirlenme sonucu ölmüş tavukların kursak içerikleri ayrı ayrı erlenmeyer balonlarına alındı ve üstlerini örtecek miktarlarda hexan ilâve edilerek karıştırıldı. 24 saat laboratuvar ısısında maserasyona bırakılarak ekstraksiyon yapıldıktan sonra süzgeç kâğıdından süzüldü. Hexan, bir saç kurutma makinesi vasıtasıyla üzerinden sıcak hava akımı geçirilerek tamamen uçuruldu. Kapsüldeki kalıntı 0,5-1 ml. zeytinyağında eritildi ve küçük bir ekmek parçasına emdirildikten veya buğday taneciklerine iyice bulaştırıldıktan sonra farelere yedirildi.

c . Şahit materyal olarak kullanılan parathion ve methyl parathion'un % 10 zeytinyağlı çözeltisiyle bulaştırılmış buğdaylar ve ekmek kırıntıları da aynı şekilde şahit farelere yedirildi.

Sonuçlar

Gerek parathion ve methyl parathion şahit numunelerinin, gerekse şüpheli maddelerin yedirildiği farelerde zehirlenme ile ilgili semptomlar çoğunlukla 30-60 dakika içerisinde ortaya çıkmıştır. Gördüğümüz başlıca zehirlenme belirtileri sulu bir tükürük akıntısı,

gözyaşı akıntısı, idrar artışı ve sürgün, iskelet kaslarında önce titre-meler ve sonra konvülsiyonlar, şiddetli bir solunum güçlüğü ve arka bacaklarda felçlerden ibaretti.

Organik fosforlu insektisitlerle zehirlenmelerde bütün hayvan-larda ve insanlarda, bazı küçük farklılıklar bir yana bırakılırsa, baş-lıca yukarıda sayılan semptomlar şekillenmektedir. Yaptığımız de-neylerde parathion ve methyl parathion'la zehirlenmiş farelerde göz yaşı akıntısının başlamasından 1-2 saat sonra gözlerin beyaz renkte, çökelmiş bir salgı ile tamamen örtüldüğünü müşahade ettik. Semp-tomların ortaya çıkışından itibaren izlediğimiz bu durumun şekil-lenmesi aşağıdaki sıraya göre olmaktadır (Şekil: 1):

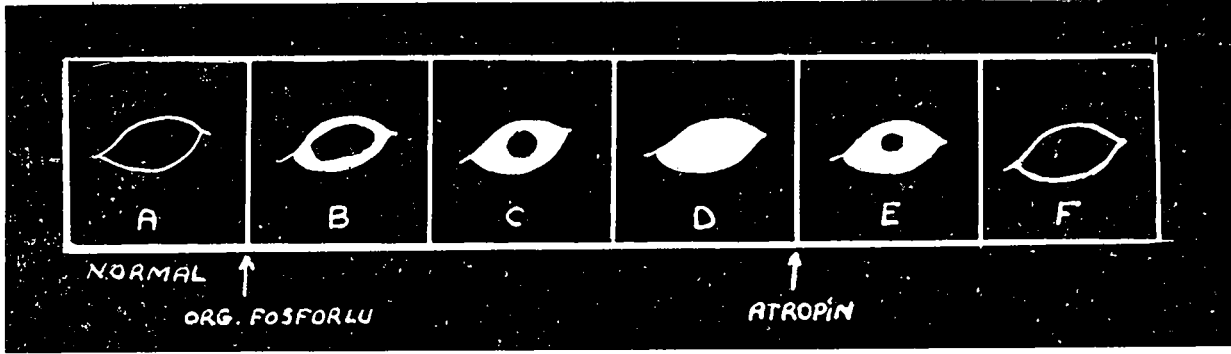
İlkin gözyaşı akıntısı göz kapaklarının arasını doldurduktan sonra gözün alt göz kapağına yakın kısmında, uçları yukarı dönük hilâl şeklinde ya da gözün çevresinde halka şeklinde gözyaşı salgısın-da bir beyazlaşma belirlemekte, zamanla bu hal ilerlemekte ve 2-3 saat içerisinde gözün ön kısmını beyaz renkte pıhtılaşmış bir salgı tamamen kapatmaktadır.

Bu durumdaki farelere bir saat ara ile iki defa 0,5 mg. atropin sülfat periton içi veya deri altı yolla şırınga edince 1-2 saat sonra, diğer muskarinik semptomların kaybolmasının yanında, gözdeki salgı ilkin korneanın ortasına rastlayan kısımdan başlamak üzere açılmakta ve birkaç saat içerisinde tamamen ortadan kalkarak göz-normal bir durumda ortaya çıkmaktadır. Gözdeki beyaz renkli salgı pamukla silinerek alınırsa, atropin sülfat uygulanmadığı takdirde yeniden teşekkül etmektedir.

Parathion'un % 10 zeytinyağlı çözeltisiyle bulaştırdığımız buğ-dayları yiyen şahit farelerden birinde zehirlenme semptomları 20 dakika içerisinde bütün şiddetiyle başlamış ve hayvan takriben 15 dakika sonra ölmüştür. Bu farede gözdeki karakteristik durum müşa-hade edilememiştir. Gözlerdeki beyaz, presipite olmuş salgı çoğunlukla farelerin 3-5 saat yaşaması ya da kurtulması mümkün olacak dere-deeki zehirlenmelerde görülmüştür.

Tartışma

Beyaz farelerde parathion ve methyl parathion'la zehirlenme sonucunda şekillenen gözyaşı toplanması ve bunun bir süre sonra beyaz, pıhtılaşmış bir durum alarak gözlerin üzerini bir tabaka şek-linde örtmesi ve bu karakteristik semptomun atropin verilerek iyileş-tirilebilmesi zehirlenmenin teşhisinde faydalı olmaktadır. Testin



Resim 1. Organik fosforlu insektisitle zehirlenmiş beyaz farede gözlerin durumu. A: Normal göz. B, C, D: Gözyaşı salgısının beyazimsı pıhtılaşmış bir durum kazanarak gözü tedricen örtmesi. E, F: Atropinin etkisi altında gözün tekrar eski haline dönmesi.

verdiği sonuç yanılmaya meydan bırakmayacak niteliktedir. Çünkü zehirli olduğundan şüphelenilen maddelerle yapılan deneylerde olduğu gibi şahit maddelerle de aynı sonuçlar alınmıştır. Ayrıca şüpheli maddelerdeki zehirin separasyonu ve identifikasyonu ince tabaka kromatografisi (2) vasıtasıyla yapılmış ve gerek şüpheli buğday numunelerinde ve gerekse zehirlenme sonucu ölmüş tavukların kursak içeriklerinde metabolize olmamış parathion bulunduğu kimyasal yolla da teyit edilmiştir.

İnsan ve hayvanlarda bu tür bileşiklerle husule gelen zehirlenmelerde görülen belirtiler arasında (2,3,4) farelerde gözlerde müşahade ettiğimiz karakteristik durumu belirten bir literatüre rastlayamadık.

Zehirlenmiş tavukların kursak içerikleri, zehirle bulaşık yem vs. gibi insektisitlerin metabolize olmamış halde bulunduğu maddelerdeki zehirin, metot bölümünde bahsettiğimiz, basit ve kısa teknikle ekstrakte edilerek farelere ağız yoluyla verilebilecek ya da ekmek, buğday gibi yiyeceklere bulaştırılıp yedirilebilecek duruma getirilmesi testin uygulanmasında büyük bir kolaylık sağlamaktadır.

Bu biyolojik test, aranılan zehirin parathion veya methyl parathion ya da başka bir organik fosforlu bileşik olduğu hususunda spesifik bir sonuç vermeye yetmez. Ancak organik fosforlu bir insektisit varlığı hakkında çabuk bir ön teşhis aracı olarak çok faydalıdır. Spesifik teşhisin gerekli olduğu durumlarda bunun yanında kimyasal metotlara da müracaat etmek gerekir.

Özet

Organik fosforlu insektisitlerin biyolojik bir test yardımıyla teşhis edilmelerinin mümkün olup olmayacağını araştırmak amacıyla beyaz fareler üzerinde yaptığımız deneyler neticesinde: Laboratuvarımıza zehirli olduklarından şüphe edilerek gönderilen marazî maddelerden ayrılan zehirli kalıntıları yedirmek suretiyle farelere verdiğimizde, içinde organik fosforlu insektisit bulunan kalıntıların farelerde bilinen klâsik zehirlenme semptomlarının yanında ayrıca gözyaşı akıntısının başlamasından bir süre sonra gözlerin beyazımsı renkte presipite olmuş bir salgı ile tamamen örtülmesine sebep olduğunu gördük. Bu farelere periton içi veya deri altı yolla atropin verdiğimizde, muskarinik semptomların kaybolmasının yanında, gözler de açılarak tekrar normale dönmektedirler (Şekil: 1).

Şâhit fareler üzerinde, organik fosforlu insektisitlerin yağlı çözeltilerini kullanmak suretiyle yaptığımız kontrol deneylerinde de hemen daima aynı karakteristik cevap gözlenmiş olup; bu biyolojik test yanılmaya meydan vermiyecek şekilde, kısa ve çabuk bir yolla organik fosforlu insektisitlerin teşhisini mümkün kılmaktadır. Her ne kadar bu test spesifik bir sonuç vermeye yeterli değilse de, kimyasal yolla yapılan kontrollerin de aynı sonuçları teyit etmesi, toksikoloji laboratuvarlarında yapılan günlük analizlerde, zehirlenmenin organik fosforular ile olup olmadığı hakkında bir ön fikir edinmek amacıyla bu testten yararlanılabileceği kanısındayız.

Résumé

Identification d'Insecticides Organo-phosphorés par le Test Biologique chez les Souris Blanches.

Dans le présent travail, nous avons recherché un test-biologique pour l'identification d'insecticides organo-phosphorés. Dans ce but, nous avons utilisé des souris blanches. Lorsque nous avons fait mangé aux souris des résidus extraits des organes prélevés sur les animaux intoxiqués avec des insecticides organo-phosphorés, nous avons observé que les secretions lacrymales se coagulaient peu à peu et finissaient par recouvrir complètement les yeux d'une pellicule blanchâtre. Après l'injection d'atropine à ces souris, cette pellicule blanche sur les yeux disparaissait (figure: 1). Ce test biologique observé presque toujours permet d'identifier l'intoxication par les organo-phosphorés, sans risque d'erreur. Nous avons toujours observé la même réponse caractéristique sur des souris témoins en utilisant des solutions huileuses organo-phosphorées. D'autre part, tous les résultats ont été vérifiés avec les méthodes chimiques. De ce fait, il nous semble qu'on peut recourir à ce test, pour l'identification urgente des intoxications par les organo-phosphorés dans les laboratoires de toxicologie.

Literatür

- 1 - **Behrenz, W.** (1959): *Biologische Bestimmung des Wirkstoff gehaltes in Fleisch von Schafen und Rindern zu verschiedenen Zeiten nach Peroraler Behandlung Neguon.* Vet. med. Nachr., 1, 41.
- 2 - **Ceylan, S.** (1969): *Organik fosforlu insektisitlerle zehirlenmelerde bunlardan başlıcalarının materyalden kimyasal yol ile araştırılması.* Dokt. Tezi. A. Ü. Vet. Fak. (Basılacak).

- 3 - **Güley, M.** (1961): *Organik fosforlu insektisitlerle husule gelen zehirlenme olayı dolayısıyla bu bileşiklerin laboratuvar imkânlarımız içinde tesbiti üzerinde araştırma.* A. Ü. Vet. Fak. Derg., 8 (2), 217-238.
- 4 - **Holmstedt, B.** (1959): *Pharmacology of Organophosphorus Cholinesterase Inhibitors.* Pharm. Rev., 11 (1), 567-688.
- 5 - **Kocher, C. et al.** (1953): *Bestimmung Kleiner Mengen insektizide mit Daphnia pulex de Geer.* Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft, 26, 47-55.
- 6 - **Newman, J. F.** (1954): *Biological Assay of Phosphorus Insecticides.* Chemistry and Industry, 617-619.
- 7 - **Phillips, W. F. et al.** (1962): *Estimation of Insecticide Residues in Foods through Parallel Screening Methods.* J. Agr. Food Chem., 10, 486-490.
- 8 - **Seume, F. W. and Fuchs, W. H.** (1961): *Effekte von Wirkstoff-Kombinationen bei Daphnia.* Arzn. Forsch., 2, 307.
- 9 - **Şentürk, I.** (1959): *Bio-assay ile parathionlu bir müstahzarda aktif maddenin tayini.* Bitki K. Bül., 1/2, 23.
- 10 - **Winbury, M. M. et al.** (1949): *A Simple Assay for Parasympatholytic Agents Using Lacrimation Response in Rats.* J. Pharmacol., 95, 53.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 4.2.1970 günü gelmiştir.