

ZDZISŁAW BORYCZKO

Badania nad doświadczalnym infekcyjnym zapaleniem jąder u buhajów

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Katowicach
Kierownik: dr hab. A. FUROWICZ

W zespole zmian zapalnych obejmujących narząd rozrodczy zapalenia jąder buhaja są często spotykanym procesem chorobowym (2, 3, 5, 7, 10, 19, 20). Problem ten jest szczególnie istotny w Zakładach Unasienniania Zwierząt, gdzie może eliminować z hodowli wartościowe buhaje — rozplodniki.

Etiologia tego schorzenia może być różna; notowane są zapalenia jąder na tle bakteryjnym (2, 3, 5, 10) drobnoustrojów z grupy *Bedsonia* (11, 19, 20), przypuszcza się również, że tłem mogą być mikoplazmy (6) i wirusy (5). Zejście tych schorzeń jest zazwyczaj nieomyślne i po przebytych stanach zapalnych jąder buhaj z reguły jest dyskwalifikowany jako rozplodnik.

Zagadnienie stanów zapalnych obejmujących narząd rozrodczy ze szczególnym uwzględnieniem jąder nabiera coraz większej wagi z powodu częstszego występowania tych procesów chorobowych na tle dawniej nie notowanych zakażeń (drobnoustroje z grupy *Bedsonia*) również w Polsce (11). W tej sytuacji istnieje potrzeba szybkiej i ścisłej diagnozy tych procesów, opartej między innymi na obserwacji zmian klinicznych, jak również zmian w nasieniu dla zapobiegania dalszemu szerzeniu się schorzenia na inne zdrowe buhaje.

Możliwości szczegółowych obserwacji procesów zapalnych jąder dostarczają doświadczalnie wywołane stany zapalne tych narządów.

Material i metody

Doświadczenie wykonano na trzech buhajach w wieku sześciu, ośmiu i dziewięciu lat rasy ncb.

Buhajom tym zaszczerpiono do jąder płynną, jednodiową hodowlę maczugowca ropotwórczego (*Corynebacterium pyogenes*) w ilości 3,0 ml (gęstość około 10^9 komórek bakteryjnych w 1 ml) do jednego jądra. Przy zakażeniu wzorowano się na metodzie podanej przez Bloma i Erno (6) oraz później przez Boryczkę i Furowicza (8).

Stan kliniczny narządu rozrodczego, jak również nasienie badano według metod opisanych przez Bielańskiego (4).

Wykonano jedno badanie przed oraz kilka badań każdego buhaja po zaszczerpieniu kulturami bakteryjnymi w okresie 14 dni po zabiegu. Po tym czasie buhaje poddano ubojowi.

W okresie 14 dni trwającego doświadczenia od badanych buhajów pobrano po zakażeniu 9 pierwszych i 6 drugich ejakulatów. Pobrane ejakulatory oceniano wstępnie; w dalszym ciągu badając koncentrację i procent zmian morfologicznych plemników.

Ze składników biochemicznych oznaczano poziom fruktozy wg metody Roe (15) w modyfikacji do nasienia opracowanej przez Manna (12) oraz poziom kwa-

su cytrynowego wg metody Specka i wsp. (17) przystosowanej do oznaczania w nasieniu przez Manna (13).

Dla orientacyjnego prześledzenia zachowania się białek plazmy nasiennej w przypadku doświadczalnie wywołanego stanu zapalnego jąder, wykonywano test precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym „filter paper disc modification” wg metody Stirma i wsp. (18), przystosowanej do badań w nasieniu przez Boryczkę i Furowicza (9). Do testu użyto plazmy nasiennej buhajów przed i po zakażeniu oraz surowicy krwi królika uodpornionego plazmą nasienną buhaja (surowica „antypłazma nasienna”).

Po uboju buhajów wypreparowano ich narządy rozrodcze notując szczegółowe zmiany sekcyjne. Z narządów tych pobrano wycinki do badań histologicznych.

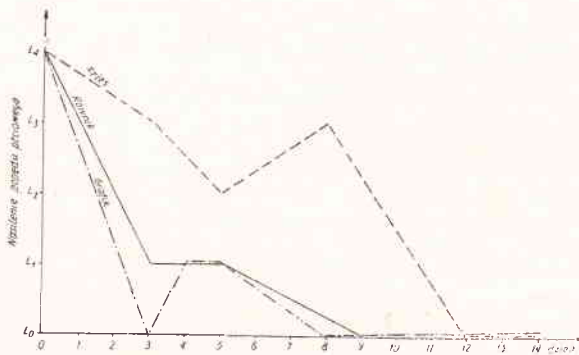
Wyniki

Wszczerpienie do jąder kultury maczugowca ropotwórczego (*Corynebacterium pyogenes*) spowodowało wystąpienie ostrego stanu zapalnego. Proces ten objawił się wyraźnie już w trzy dni po zakażeniu, manifestując się znacznym obrzękiem moszny i stwardnieniem tkanek gruczołowej jąder. Pomiaru obwodu worka mosznowego dokonane w chwili maksymalnego obrzęku, który wystąpił po zakażeniu, w stosunku do pomiarów wyjściowych wykonanych u zdrowych buhajów, wykazały u jednego buhaja zwiększony obwód moszny o 9 cm (z 45 cm do 54 cm — buhaj „Równik”), natomiast u dwóch pozostałych aż o 14 cm (z 38 cm do 52 cm — buhaj „Fries” i z 46 cm do 60 cm — buhaj „Grafik”). Maksymalne zwiększenie obwodu worka mosznowego obserwowano u pierwszego buhaja w piątym, u drugiego w ósmym, a u trzeciego w czternastym dniu doświadczenia.

Konsystencja jąder była twarda, zbita. Nie wyczuwało się ogonów najądrzy wskutek tego, że proces zapalny objął również osłonki jądrowe. Obserwowano bardzo znaczny obrzęk powrózków nasiennych.

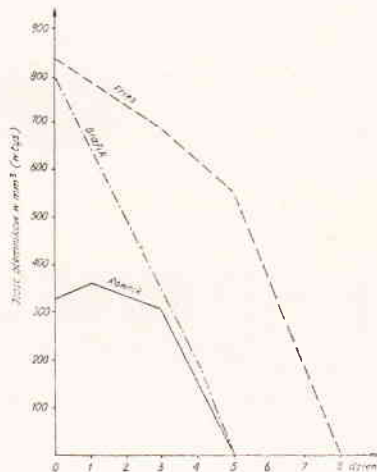
Pełniejszą obserwację zmian w nasieniu utrudniało w znacznej mierze obniżenie popędu płciowego, które zaznaczyło się u wszystkich buhajów (ryc. 1). Parametry jakościowe nasienia wszystkich trzech buhajów przed zaszczerpieniem zbliżone były do przeciętnych spotykanych u użytkowanych jako rozplodniki buhajów.

Doświadczalnie wywołany proces zapalny jąder spowodował zmiany we wskaźnikach jakości nasienia. W szregu ejakulatów wystąpiła nieprawidłowa barwa nasienia (różowa lub brązowa), stęchły, gnilny zapach. Ruchliwość ogólna nasienia była bardzo słabo zaznaczona, szczególnie w miarę rozwoju procesu chorobowego.



Ryc. 1. Zmiany w nasileniu popędu płciowego — libido buhaja w miarę rozwoju doświadczalnie wywołanego zapalenia jąder.

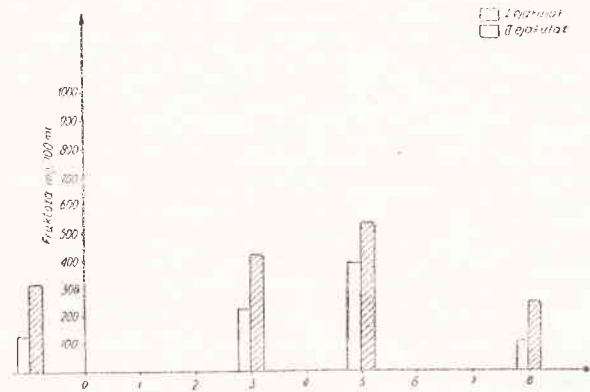
wego, a procent plemników o ruchu postępowym był znikomy (od 0 do 40%). Znacznym zmianom uległa koncentracja nasienia; pod koniec doświadczenia w ejakulatach obserwowano oligospermie lub nawet azoospermie — obrazem tych zmian jest ryc. 2. Z uwagi na wystąpienie oligospermii i azoospermii niemożliwe było ocenienie nasilenia się zmian morfologicznych plemników. W pierwszych dniach po zakażeniu zauważono w nasieniu wszystkich buhajów znaczny wzrost do około 50% wtórnie zmienionych plemników.



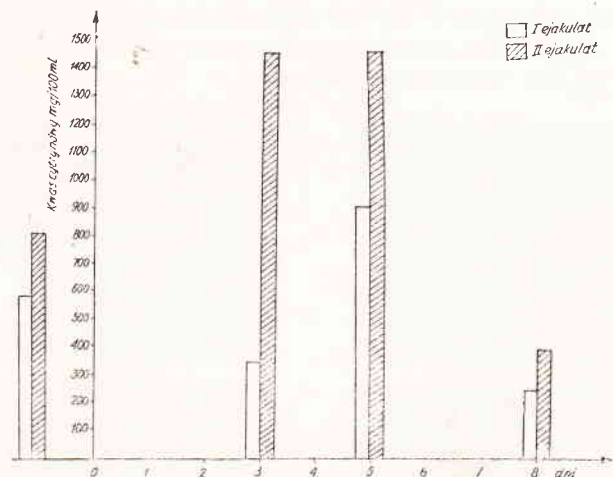
Ryc. 2. Krzywa spadku ilości plemników w mm³ w nasieniu poszczególnych buhajów z doświadczalnie wywołanym zapaleniem jąder.

Wahania w poziomie fruktozy i kwasu cytrynowego można prześledzić na przykładzie nasienia buhaja „Friesa”, gdzie w pierwszych dniach po zakażeniu obserwowano znaczny wzrost, a następnie spadek zawartości obu badanych składników. Ilustracją tych zmian jest ryc. 3 i 4. U buhaja „Równik”, u którego proces zapalny po 10 dniach od momentu zakażenia jąder objął również pęcherzyki nasienne zanotowano prawie całkowity brak fruktozy i kwasu cytrynowego w nasieniu.

Doświadczalnie wywołany stan zapalny jąder spowodował zmiany we frakcjach białkowych plazmy nasiennej, których odzwierciedleniem były zmiany zachodzące w liczbie „łu-



Ryc. 3. Zmiany w poziomie fruktozy w nasieniu buhaja „Friesa” w miarę rozwoju doświadczalnie wywołanego zapalenia jąder.



Ryc. 4. Zmiany w poziomie kwasu cytrynowego w nasieniu buhaja „Friesa” w miarę rozwoju doświadczalnie wywołanego zapalenia jąder.

ków” precypitacyjnych w obrazie precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym. W nasieniu buhaja „Friesa” obraz precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym przed zakażeniem oraz do czwartego dnia po zakażeniu przedstawiał trzy wyraźne łuki precypitacyjne; w szóstym dniu zniknął jeden z łuków precypitacyjnych (ryc. 5). W nasieniu buhaja „Grafika” zmiana polegająca na zniknięciu tego samego łuku co u buhaja „Friesa” wystąpiła już w czwartym dniu doświadczenia, a w szóstym obserwowano ledwo zauważalny pojedynczy łuk położony najbliżej krążka środkowego (ryc. 6). W nasieniu buhaja „Równika” łuki precypitacyjne utrzymywały się do piątego dnia. W dziesiątym dniu zniknęły wszystkie łuki precypitacyjne.

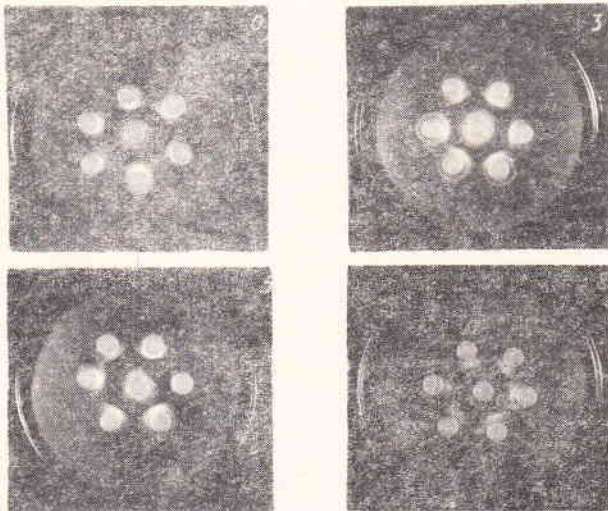
W narządach rozrodczych zakażonych buhajów zaobserwowano rozsiew ognisk zapalnych z pierwotnego ogniska zakażenia tzn. z tkanki jąder do innych odcinków narządu rozrodczego (najądrzy, pęcherzyków nasiennych i baniek nasieniowodów) w formie przerzutowych ognisk zapalnych, powodujących zmiany w ciężarze tych narządów. Ciężar jąder i najądrzy doświadczalnych buhajów był znacznie większy

Tab. 1

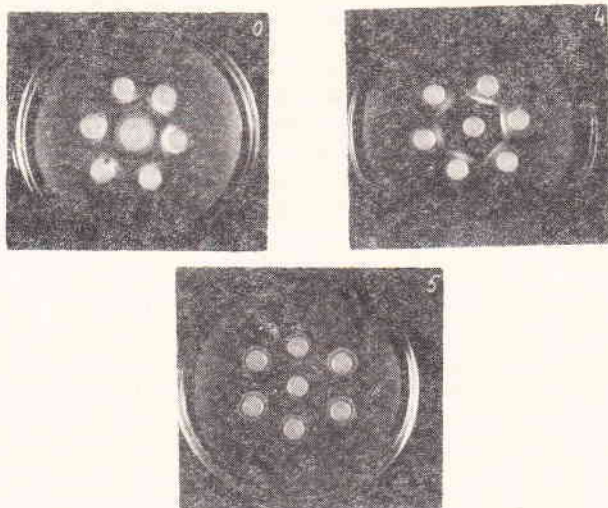
Nazwa buhaja	Wynik pomiarów ciężaru jąder i najądrzy w gramach							
	Jądra		Najądrza					
	lewe	prawe	głowa		trzon		ogon	
			lewa	prawa	lewy	prawy	lewy	prawy
Równik	597	593	34	70	17	31	32	34
Grafik	545	845	92	112	38	40	46	84
Fries	442	420	72	74	41	35	68	55
Buhaje kontrolne*	347	353	19	17	5	5	12	12

* — wyniki średnich ciężarów jąder i najądrzy po uboju czterech buhajów z klinicznie zdrowym narządem rozrodczym

w porównaniu do wyników kontrolnych uzyskanych dla buhajów z klinicznie zdrowym narządem rozrodczym (tab. 1).

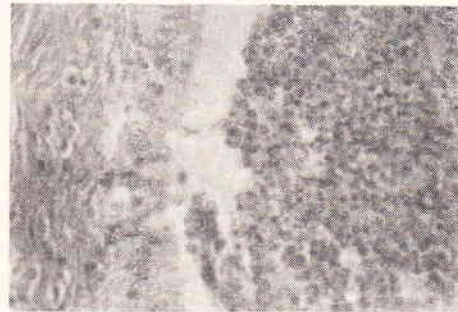


Ryc. 5. Zmiany w obrazie testu precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym "filter paper disc modification" nastawionego dla nasienia buhaja „Friesa” (zakażonego dojądrowo). 0 — zdjęcie płytki z testem przed zakażeniem; 3, 5, 8 — zdjęcia płytek po zakażeniu w trzecim, piątym i ósmym dniu doświadczenia.

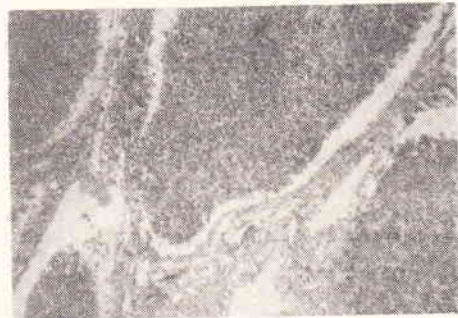


Ryc. 6. Zmiany w obrazie testu precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym "filter paper disc modification" nastawionego dla nasienia buhaja „Grafika” (zakażonego dojądrowo). 0 — zdjęcie płytki z testem przed zakażeniem; 4, 5 — zdjęcia płytek po zakażeniu w czwartym i piątym dniu zakażenia.

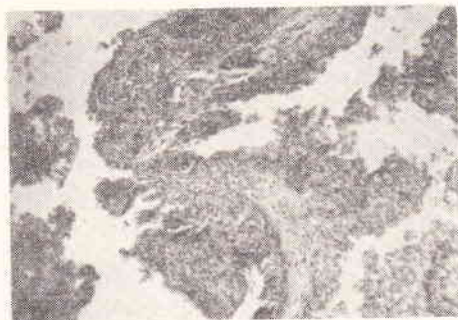
W objętych stanem zapalnym jądrach, najądrzach, bańkach nasieniowodów i pęcherzykach nasiennych doszło do procesów zwyrodnieniowych i nacieczenia komórkowego (ryc. 7, 8, 9, 10, 11, 12).



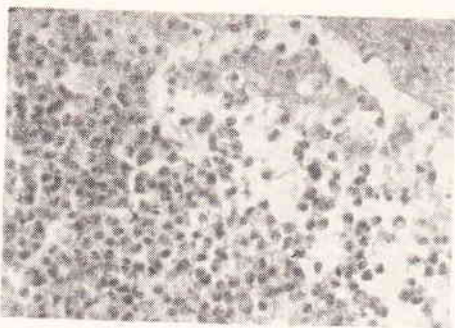
Ryc. 7. Naciekanie komórkowe w świetle kanalików prawej głowy najądrza buhaja „Grafika”.



Ryc. 8. Naciekanie komórkowe i zwyrodnienie nabłonka wydzielniczego lewego pęcherzyka nasiennego buhaja „Grafika”.



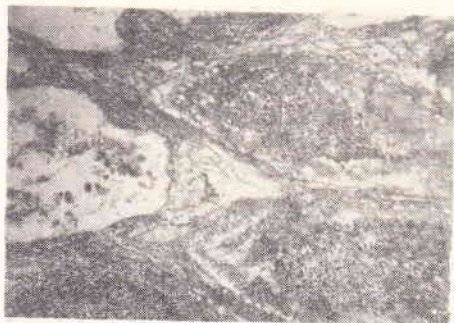
Ryc. 9. Naciekanie komórkowe w świetle i tkance gruczołowej lewej bańki nasieniowodu buhaja „Grafika”.



Ryc. 10. Zwyródnienie nabłonka wydzielniczego i naciek komórkowy w świetle kanalika prawego pęcherzyka nasiennego buhaja „Grafika”.



Ryc. 11. Zwyródnienie kanalików nasieniowórczych i nacieki komórkowe w tkance interstycjalnej oraz widoczne w rogu ognisko martwicze z naciekiem komórkowym w lewym jądrze buhaja „Friesa”.



Ryc. 12. Zwyródnienie nabłonka wydzielniczego oraz nacieki komórkowe w świetle kanalików prawego pęcherzyka nasiennego buhaja „Friesa”.

Omówienie wyników

Zmiany kliniczne w narządzie rozrodczym oraz zmiany we wskaźnikach jakości nasienia obserwowane w przebiegu doświadczalnie wywołanego procesu zapalnego jąder zakażonych maczugowcem ropotwórczym są podobne do zmian, które opisali inni autorzy w przypadkach sztucznie wywołanych zapaleń jąder (6, 8, 16, 20), jak również w obserwacjach przypadków klinicznych (2, 7, 20).

Charakterystycznym zjawiskiem, które wystąpiło u wszystkich doświadczalnych buhajów, było zanikanie popędu płciowego w miarę rozwoju procesu zapalnego w jądrach.

Doświadczalnie wywołany proces zapalny jąder, spowodowany zakażeniem kulturą maczugowca ropotwórczego, spowodował szybkie rozszerzenie się procesu zapalnego do innych odcinków narządu rozrodczego, z tendencją do tworzenia ropnych ognisk przerzutowych. Można przypuszczać, że dużą rolę w przenoszeniu się procesu zapalnego z jąder do najądrzy i pęcherzyków nasiennych odgrywa układ limfatyczny lub krwionośny; nie można jednak całkowicie wykluczyć drogi zstępującej (z nasieniem) z jąder do najądrzy i pęcherzyków nasiennych.

Podobnie, jak w przypadkach klinicznych stanów zapalnych jąder obserwowanych przez innych autorów (2, 7), w doświadczalnie wywołanym stanie zapalnym jąder występowały wahania w koncentracji plemników; w końcu doświadczenia obserwowano azoospermie. Tak, jak się można było tego spodziewać, w miarę rozwoju procesu zapalnego nastąpił znaczny wzrost procentu plemników zmienionych morfologicznie — typu zmian wtórnych.

Ciekawych spostrzeżeń dostarczyły obserwacje poziomu badanych składników biochemicznych, fruktozy i kwasu cytrynowego. W pierwszych dniach po zakażeniu notowano dość znaczny wzrost poziomu tych składników, następnie spadek, a w okresie kiedy proces zapalny objął u jednego z buhajów pęcherzyki nasienne, gwałtowne obniżenie poziomu badanych składników, co nieomylnie wskazywało na stan zapalny tych dodatkowych gruczołów.

Wskaźnikiem zaburzeń w jądrach, najądrzach oraz dodatkowych gruczołach płciowych spowodowanych stanem zapalnym wydają się być zmiany ilości łuków precypitacyjnych w tekście dyfuzyjnej w żelu agarowym. Według badań Pernot i Szumowskiego (14) w plazmie nasiennej obecne są cztery główne frakcje białkowe, a mianowicie: alfa-, beta- i gammaglobuliny oraz albuminy. Należy przypuszczać, że właśnie te frakcje białkowe, silne immunogennie, są odpowiedzialne za powstawanie poszczególnych łuków precypitacyjnych. W świetle tych przypuszczeń można sądzić, że zanikanie poszczególnych łuków precypitacyjnych jest spowodowane brakiem pewnych frakcji białkowych plazmy nasiennej na skutek upośledzenia procesu wydzielania w różnych odcinkach męskiego układu rozrodczego. Za takim tłumaczeniem przemawiają dodatkowo badania Balbierza i wsp. (1), którzy wykazali w badaniach elektroforetycznych plazmy nasienia buhajów w przypadku procesów patologicznych toczących się w obrębie narządu rozrodczego, częściowy lub całkowity brak niektórych frakcji białkowych. Zniknięcie pośredniego łuku w obrazie precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym należy więc łączyć z zaburzeniami w funkcjach wydzielniczych jąder

i najądrzy, które w tym momencie doświadczenia objęte były stanem zapalnym. Zniknięcie natomiast wszystkich łuków precypitacyjnych w 10 dni po zakażeniu u buhaja „Równika” (9), jak również podobny obraz precypitacji w 5 dni po zakażeniu u buhaja „Grafika” (gdzie zarysował się tylko jeden bardzo słabo widoczny łuk precypitacyjny), jest następstwem uogólnienia procesu zapalnego, który objął w tej fazie swym zasięgiem prawie cały narząd rozrodczy.

Wnioski

1. Charakterystycznym objawem towarzyszącym doświadczalnie wywołanemu procesowi zapalenia jąder jest stopniowe zanikanie popędu płciowego w miarę rozwoju stanu zapalnego w narządzie rozrodczym.

2. Doświadczalnie wywołany stan zapalny jąder powoduje wystąpienie zaburzeń szeregu wskaźników jakości nasienia (zmiana barwy, konsystencji ejakulatów, koncentracji, morfologii i inne).

3. Doświadczalnie wywołany proces zapalny jąder powoduje zmiany w strukturze białek oraz poziomie niektórych składników biochemicznych (fruktoza i kwas cytrynowy) plazmy nasiennej.

Piśmiennictwo

- Balbierz H., Nikolajczuk M., Senze A., Stehlik Z.: Pol. Arch. wet. 14, 99, 1971.
- Ball L., Griner L. A., Carroll E. J.: Am. J. vet. Res. 25, 291, 1964.
- Bendixen H. C., Blom E.: Vet. J. 103, 337, 1947.
- Bielanski W.: Rozród zwierząt. PWRiL, 1962.
- Blom E., Christensen N. O.: Nord. Vet. Med. 17, 435, 1965.
- Blom E., Erno H.: Acta vet. scand. 8, 186, 1967.
- Boryczko Z.: Acta Agraria, 11, 2, 3, 1971.
- Boryczko Z., Furowicz A.: Medycyna Wet. 27, 423, 1971.
- Boryczko Z., Furowicz A.: Medycyna Wet. (w druku).
- Galloway D. B.: Acta vet. scand. 5, 2, 1, 1964.
- Jaśkowski L., Truszczyński M., Zebrowski L., Sadowski M., Matusiewicz J., Biżejnis-Kłosowska D.: Zesz. probl. Post. Nauk. roln. 124, 99, 1971.
- Mann T.: Biochem. J. 40, 481, 1966.
- Mann T.: Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract. Methuen, 1964.
- Pernot E., Szumowski P.: Bull. Soc. Chin. biol. 40, 1423, 1958.
- Roe J. H.: J. Biol. Chem. 107, 15, 1934.
- Romaniuk J.: Pol. Arch. wet. 13, 3, 369, 1971.
- Speck J. F., Moulder M. I., Evans E. A.: J. Biol. Chem. 164, 119, 1946.
- Stirm S., Ørskov F., Ørskov J., Mansa B.: J. Bact. 2, 731, 1967.
- Storz J., Carroll E. J., Ball L., Faulkner L. C.: Am. J. vet. Res. 29, 49, 1968.
- Veznik Z.: Referat, Brno, 1970.

Adres autora: dr Zdzisław Boryczko, Katowice, ul. Bankowa 27 m. 166.

Борычко З. — Исследования по экспериментальному инфекционному орхиту у быков.

У 3 быков исследовали влияние экспериментального орхита на качество семени. Орхит вызвали введением в ткань яичек культуры *Corynebacterium pyogenes*. Установили понижение ряда параметров качества семени: изменение цвета и консистенции эякулятов, понижение концентрации живчиков, яркое повышение числа живчиков с морфологическими изменениями. Установили также колебания уровня фруктозы и лимонной кислоты: сначала довольно большое повышение уровня, особенно лимонной кислоты, а потом понижение концентрации обоих компонентов. Серьезные расстройства наблюдали также в составе белков плазмы семени. Отра-

жением их было исчезновение в реакции жельпреципитации (filter paper disc modification) некоторых преципитационных линий, что можно связывать с отсутствием некоторых белковых фракций.

Boryczko Z. — Investigations on the experimental infectious orchitis in bulls.

The influence of experimental orchitis on the quality of semen was examined. Orchitis was caused by infection with *Corynebacterium pyogenes*. As a result of orchitis there was found a decrease of several indices of semen quality. There was observed the change of semen colour, consistency and its concentration. Instead, the percentage of morphologically changed spermatozoons increased. In the first days after infection there was noted an essential increase of the level of citric acid, and then a decrease of citric acid and fructose. In addition, there was noted some disturbances in semen plasma by means of double diffusion test in gel (filter paper disc modification); some precipitation lines disappeared that was probably related with the lack of semen protein fractions in the semen.

AL. AUBAID J. M., FABRICANT J.: Metody oczyszczania mieszanych hodowli mykoplazm. (Methods for purification of mixed cultures of Mycoplasmas). Cornell Vet., 61, 599—605, 1971 (4).

Przebadano 128 hodowli mykoplazm izolowanych z układu oddechowego, rozrodczego, mleka, mazi stawowej, krwi i węzłów chłonnych krów. Badania nad czystością hodowli oparto o określanie morfologii kolonii, właściwości hodowlane i reakcje biochemiczne na 6 podłożach (EP, IIP, IVP, VFSP i RYEP). Po oczyszczeniu wyosobniono 166 szczepów. Badania wykazały, że 40% hodowli było zanieczyszczone. Do różnicowania mykoplazm nie wystarcza badanie samej morfologii kolonii, należy uwzględnić charakter wzrostu przy pH 5,5 i 9,5 oraz właściwości serologiczne i biochemiczne. Istnieją bowiem przypadki, że szczepy mykoplazm o identycznych właściwościach biochemicznych różnią się wyraźnie właściwościami serologicznymi.

Z.

MENGELING W. L., VAN DER MAATEN M. J.: Identyfikacja wybranych wirusów zwierzęcych przy pomocy przeciwciał fluoryzujących i poliwalentnych surowic odpornościowych. (Identification of selected animal viruses with fluorescent antibodies prepared from multivalent antisera). Am. J. vet. Res., 32, 1825—1838, 1971 (11).

Do sporządzania konjugatów do odczynu immunofluorescencji użyto surowice poliwalentne dla wybranych grup wirusów zwierzęcych. Każdy wirus po namnożeniu na hodowli tkankowej badano z odpowiednim konjugatem w celu określenia różnic w rozmieszczeniu antygenu wirusowego. Przy użyciu tych konjugatów z łatwością można było odróżnić wirusy wścieklizny rzekomej, choroby Newcastle, pomoru, pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej i parainfluenzy — 3 oraz wirusy zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła, wirusowej biegunki bydła. Ponadto można było również odróżnić zakażenie mieszane wywołane przez te wirusy. Nie uzyskano pozytywnych wyników przy rozpoznawaniu zakażeń wywołanych przez wirusy ściśle pokrewne, głównie wirusy parainfluenzy 1, 2, 3. Wielowalne konjugaty sporządzone dla wirusów zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła, parainfluenzy — 3, wirusowej gorączki bydła oraz dla wirusa pomoru świń i wścieklizny rzekomej mogą znaleźć powszechne zastosowanie w weterynaryjnej diagnostyce wirusologicznej.

Z.