

lactating cows which were allotted to three groups. 50 cows (group A) were given two injections of 0.5 mg of ICI 80-996 at the interval of 12 days. The cows of this group were inseminated twice (72 and 96 hours) after the second injection disregarding the signs of oestrus. A group B consisting of 60 cows was been given for 14 days 25 mg of CAP daily and inseminated during the synchronised oestrus. A group C comprised 50 cows was used as a control and the animals were inseminated during the first oestrus

observed after the beginning of premedication of the experimental group A. First inseminations of cows of the groups A, B and C were performed  $64.0 \pm 1.17$ ;  $65.2 \pm 2.36$  and  $63.2 \pm 3.94$  days after parturition. The following indices of fertility were obtained in the groups A, B and C: 49.9, 43.3 and 62.7% respectively. The cows of the above groups were conceived following all inseminations in 91.8, 85.0, 91.7% after  $79.3 \pm 3.30$ ,  $86.3 \pm 5.91$  and  $70.8 \pm 4.45$  days since calving.

KAZIMIERZ ROSLANOWSKI, TADEUSZ LOSIŃSKI, MARIA MICHALKIEWICZ

## Mikroflora nasienia buhajów jako element zooweterynaryjnej oceny warunków produkcji i pielęgnacji stada

Z Zakładu Profilaktyki Niepłodności Instytutu Weterynarii Oddział w Poznaniu

Do stale aktualnych problemów w praktyce sztucznego unasieniania zwierząt należy zanieczyszczenie nasienia rozplodników nieswoistą florą bakteryjną. Liczne badania i obserwacje w tym zakresie (1, 3, 4, 9, 11, 12, 14) nie dały jak dotychczas jednoznacznej odpowiedzi, która pozwoliłaby w pełni wyjaśnić wpływ tych drobnoustrojów na wartość nasienia. Znaczne różnice zarówno w ilości jak i rodzaju bakterii, które mogą występować w nasieniu buhajów (2, 6, 7, 9, 10, 13) pozwalają przypuszczać, iż o stopniu bakteryjnego zanieczyszczenia nasienia decydować mogą także czynniki egzogenne, wynikające z ogólnego stanu higieny w zakładach unasieniania (5, 8, 13, 15). Jest to istotne przede wszystkim z tego względu, że jak należy sądzić na podstawie wyników badań (6, 9, 16), zbyt obfita flora bakteryjna w nasieniu może w określonych warunkach wpływać niekorzystnie na plemniki, a tym samym na skuteczność unasieniania. Dodatkowym aspektem tego zagadnienia jest również fakt, iż zarówno import jak i eksport nasienia, zgodnie z międzynarodowymi wymogami, uwarunkowany jest stopniem jego zanieczyszczenia drobnoustrojami.

Mając powyższe względy na uwadze, podjęto badania nad występowaniem nieswoistych drobnoustrojów w nasieniu buhajów z uwzględnieniem zarówno ilości jak i rodzaju bakterii, podejmując równocześnie próbę konfrontacji uzyskanych wyników z ogólną oceną warunków pielęgnacji stada buhajów oraz produkcji nasienia w poszczególnych zakładach unasieniania.

### Materiał i metody

Badaniem objęto ogółem 565 ejakulatów pobranych w odstępach 6-12 miesięcy (I i II badanie) od 320 buhajów w 6-ciu różnych zakładach unasieniania. Próbkę nasienia przeznaczoną do badania bakteriologicznego pochodziły z pierwszych ejakulatów pobranych przy pomocy odkażonego sprzętu (sztuczne poch-

wy, zbiorniki na nasienie itp.). Czas od pobrania nasienia od buhaja do wykonania posiewu na podłożach bakteriologicznych wynosił przeciętnie 4-6 godzin. Badanie bakteriologiczne nasienia obejmowało:

a) określenie liczby drobnoustrojów — w oparciu o metodę posiewu powierzchniowego: 0,1 ml nasienia rozcieńczano roztworem fizjologicznym soli w stosunku 1:100 oraz 1:1000 i posiewano na płytki agarowe z dodatkiem 5% krwi cielęcej, inkubowano przez 48 godzin w temp. 37°C, po czym liczono poszczególne kolonie,

b) określenie rodzaju drobnoustrojów — nierozcieńczone nasienie posiewano na płytki agarowe z dodatkiem 5% krwi cielęcej oraz na podłoże Mc Conkey'a i po inkubacji przez 24-48 godzin w temp. 37°C identyfikowano wyrosłe kolonie.

Ponadto w każdym objętym obserwacją zakładzie unasieniania przeprowadzono ocenę ogólnego stanu higieny uwzględniając następujące elementy:

- higiena pomieszczeń dla zwierząt,
- higiena stanowisk,
- higiena okólników,
- higiena sprzętu do pielęgnacji buhajów,
- higiena i pielęgnacja buhajów,
- higiena napletków,
- higiena sprzętu do pobierania nasienia,
- higiena pobierania nasienia,
- higiena badania i konserwacji nasienia,
- higiena pomieszczeń laboratoryjnych.

Skala oceny zarówno jednostkowej (1-5 punktów) jak i ogólnej (10-50 punktów) wymienionych elementów, opierała się na ustalonym w toku badania schemacie:

stan bardzo dobry	5 punktów	(41-50 punktów)
stan dobry	4 „	(31-40 „ )
stan zadowalający	3 „	(21-30 „ )
stan dostateczny	2 „	(15-20 „ )
stan niedostateczny	1 „	(10-14 „ )

Wyniki oceny ogólnego stanu higieny w poszczególnych zakładach starano się porównywać ze stopniem zakażenia nasienia buhajów stwierdzoną florą bakteryjną.

### Wyniki i omówienie

Badając ogólną ilość drobnoustrojów występujących w nasieniu buhajów w poszczególnych zakładach unasieniania stwierdzono, że w 1 ml nasienia nierozcieńczonego występuje średnio 684 445 drobnoustrojów nieswoistych z tym, że w trakcie pierwszego badania ilość ta wynosiła

757 591 bakterii. Różnice między zanieczyszczeniem nasienia buhajów pochodzących z poszczególnych zakładów były dość znaczne. Najmniej bakterii (średnio 330 559 w 1 ml nasienia) stwierdzono w nasieniu buhajów w zakładzie A/3, natomiast najwyższe zanieczyszczenie drobnoustrojami (średnio 1 025 000 w 1 ml nasienia) wykazywało nasienie buhajów w zakładzie A/2. Mniejsze różnice stwierdzono podczas drugiego badania (537 567—985 721).

zakresu (2, 4, 6, 9, 13) i dowodzą, że istnieją różnice zarówno między poszczególnymi buhajami jak też między zakładami unasienniania.

Przeprowadzona w poszczególnych zakładach ocena ogólnego stanu higieny wykazała, że został on oceniony jako dobry tylko w jednym zakładzie (A/3=32 punkty), natomiast w pozostałych ogólny stan higieny był zadowalający (23—27 punktów). Wydaje się, że na uwagę zasługuje fakt istnienia pewnych korelacji wyni-

Tab. 1. Mikroflora nasienia buhajów w ujęciu procentowym

Zakład unasienniania	Liczba buhajów	Kolejność badania	Średnia liczba bakterii w 1 ml nasienia	Odsetek buhajów o określonym stopniu zakażenia w 1 ml nasienia									
				< 100 Lys.	100-250	250-500	500-750	750-1000	1000-1250	1250-1500	1500-1750	1750-2000	> 2000
A/1	47	I	392807	55,3	14,9	6,4	6,4	2,1	2,1	4,3	2,1	0	6,4
A/2	44	I	1025000	6,8	13,6	15,9	11,4	4,5	4,5	2,3	0	0	34,1
A/3	34	I	330559	35,3	29,5	20,6	2,9	2,9	0	2,9	0	0	5,9
A/4	45	I	775844	15,6	17,8	13,3	11,1	11,1	0	13,3	2,2	0	15,6
A/5	32	I	506003	31,3	18,8	18,8	3,1	9,4	6,2	6,2	0	0	6,2
A/6	43	I	637585	25,6	23,3	11,7	13,9	2,3	2,3	0	0	0	20,9
Ogółem	245	I	611299	28,2	19,2	13,9	8,6	6,5	2,4	4,9	0,8	0	15,5
				61,2					38,8				
A/1	56	II	985721	25,0	16,0	12,5	0	1,8	0	1,8	1,8	0	41,1
A/2	48	II	859270	25,0	10,4	16,7	6,2	2,1	6,2	2,1	2,1	2,1	27,1
A/3	52	II	570961	36,5	13,5	15,5	7,7	3,8	3,8	3,8	3,8	1,9	9,7
A/4	51	II	964156	11,7	13,7	15,6	10,0	8,0	1,9	0	1,9	1,9	35,3
A/5	70	II	627871	42,9	7,1	18,6	4,3	1,4	0	1,4	1,4	0	22,9
A/6	43	II	537567	27,9	16,8	19,0	14,0	9,2	0	7,0	2,3	0	7,0
Ogółem	320	II	757591	29,1	12,8	15,6	6,6	4,1	1,9	2,5	2,2	0,9	24,4
				57,5					42,5				

Bardziej szczegółowe wyniki obrazujące równocześnie odsetek buhajów wykazujących w nasieniu określone ilości drobnoustrojów przedstawiono w tab. 1. Należy podkreślić, że w tym aspekcie wyniki pierwszego i drugiego badania są zbliżone do siebie i wskazują, iż około 40% buhajów (38,8 i 42,5%) posiadało nasienie zanieczyszczone drobnoustrojami w ilości ponad 500 tys. w 1 ml. Podkreślić należy również fakt, że stosunkowo wysoki odsetek buhajów (15,5 i 24,4%) wykazywał w 1 ml nasienia obecność ponad 2 milionów drobnoustrojów. Do najczęściej występujących zanieczyszczeń należały bakterie z rodzaju *Bacillus*, *Micrococcus*, *Proteus* oraz *Pseudomonas* z tym, że dwa pierwsze rodzaje występowały jako drobnoustroje dominujące (tab. 2).

Uzyskane wyniki dotyczące zarówno ilości jak i rodzaju drobnoustrojów nieswoistych występujących w nasieniu buhajów są w zasadzie zgodne z wynikami wcześniejszych prac z tego

kających z porównania wyników oceny ogólnego stanu higieny z ilościowym zanieczyszczeniem nasienia bakteriami. Zakład w którym wykazano najniższą w stosunku do ogółu buhajów ilość drobnoustrojów w 1 ml nasienia, wyliczoną z dwóch kolejnych badań przeprowadzonych w ciągu roku, uzyskał równocześnie najniższą w porównaniu z innymi zakładami punktową ocenę ogólnego stanu higieny. Rozpatrując jeden cykl badań wykazano również w tym zakładzie najniższy stopień przeciętnego zakażenia nasienia, natomiast najwyższy w zakładzie, który uzyskał najniższą przeciętną ocenę ogólną dotyczącą higieny (tab. 1 i 3).

Powyższe stwierdzenia pozwalają przypuszczać, iż o stopniu bakteryjnego zanieczyszczenia nasienia mogą również decydować drobnoustroje, które dostają się do nasienia już poza organizmem zwierzęcia. W związku z tym wydaje się, że warunki higieniczne środowiska, w którym przebywają buhaje oraz higiena produkcji

Tab. 2. Najczęściej występujące rodzaje drobnoustrojów w nasieniu buhajów

Zakład unasienniania	Liczba buhajów	Odsetek buhajów wykazujących w nasieniu obecność poszczególnych rodzajów drobnoustrojów						
		<i>Bacillus</i> sp.	<i>Micrococcus</i> sp.	<i>Proteus</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Escherichia coli</i>	<i>Corynebacterium</i> sp.	Pałeczki G-*)
A/1	56	94,0**	73,2	10,7	57,0	8,9	1,8	1,8
A/2	48	41,7	87,5**	4,2	14,6	0	4,2	2,1
A/3	52	30,4**	59,6	28,8	53,8	5,8	0	11,5
A/4	51	68,6	94,1**	13,7	35,3	0	0	19,6
A/5	70	75,1	95,0**	14,3	27,1	1,4	4,3	0
A/6	43	34,9	86,0**	4,6	23,2	0	0	4,6

Objaśnienia: \*) = z wykluczeniem pał. *Salmonella*; \*\*) = drobnoustroje dominujące.

nasienia w zakładach unasienniania, mogą mieć także pewien wpływ na ilość bakterii występujących w nasieniu (13, 15).

Przedstawiona propozycja stosowanej w toku przeprowadzonych badań oceny stanu higieny w zakładach unasienniania, uwzględniająca poszczególne elementy postępowania z buhajami oraz ich nasieniem, stanowi poszerzenie wcześniejszych sugestii w tym zakresie (9) i ma na celu ujednolicenie działań weterynaryjnych w ramach nadzoru nad tymi zakładami.

Tab. 3. Wyniki oceny ogólnego stanu higieny w 6-ciu zakładach unasienniania

Elementy oceny	Punkty oceny dla poszczególnych zakładów unasienniania					
	A/1	A/2	A/3	A/4	A/5	A/6
Higiena pomieszczeń dla zwierząt	3	3	4	3	2	3
Higiena stanowisk	3	3	4	2	2	3
Higiena okólników	2	3	3	3	2	3
Higiena sprzętu do pielęgnacji buhajów	2	2	3	3	3	3
Higiena i pielęgnacja buhajów	2	2	3	2	2	3
Higiena naplezków	2	2	4	1	3	1
Higiena sprzętu do pobierania nasienia	3	2	3	2	4	3
Higiena pobierania nasienia	2	2	2	2	2	2
Higiena badania i konserwacji nasienia	3	2	3	3	3	3
Higiena pomieszczeń laboratoryjnych	3	2	3	2	4	3
Ogólna ocena	25	23	32	23	27	27

### Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań i uzyskanych wyników nasuwają się następujące wnioski:

1. Przeciętną w stosunku do ogółu buhajów ilość drobnoustrojów w 1 ml nasienia nierozcieńczonego można uważać za jeden z wykładników higieny związanej z produkcją nasienia w danym zakładzie unasienniania.

2. Wyniki mikrobiologicznych badań ilościowych nasienia buhajów stanowić powinny jeden z istotnych elementów dla prawidłowych działań weterynaryjnych w ramach nadzoru nad zakładami unasienniania.

3. Zagadnienie mikroflory nasienia buhajów od strony ilościowej oraz w odniesieniu do drobnoustrojów potencjalnie patogennych, wymaga dalszych szczegółowych badań dla sprecyzowania potrzeb normatywnych w tym zakresie.

### Piśmiennictwo

- Alford J. A.: J. Dairy Sci. 39, 1097, 1953.
- Almquist J. Ö., Prince P. W., Reid J. J.: J. Dairy Sci. 32, 543, 1949.
- Bratek E.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 65, 247, 1952.
- Cembrowicz H. J.: Proc. Int. Congr. Anim. Reprod. Copenhagen 121, 1951.
- Foote R. H., Bratton R. W.: J. Dairy Sci. 33, 539, 1951.
- Grabowski K.: Weterynaria Wrocław 18 (62), 105, 1965.
- Hendrikse J.: Het bacteriegehalte van het sperma van gesunde stieren. Praca doktorska, Utrecht, 1960.
- Hshimoto K.: Jap. J. Anim. Reprod. 12, 84, 1966.
- Jaśkowski L.: Medycyna Wet. 21, 552, 1965.
- Kozła J.: Vet. Med. Praga, 3, 325, 1965.
- Patyra M., Dąbrowski T., Kucharski B.: Medycyna Wet. 25, 167, 1967.
- Ramisz A., Damm A., Wójcikiewicz S., Stasik A.: Medycyna Wet. 23, 741, 1967.
- Romanuk J.: Medycyna Wet. 21, 424, 1965.
- Scheeser P.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 53, 148, 1951.
- Thieman J.: Untersuchungen über Keimgehalt des Bullensperma. Praca doktorska, Hannover 1955.
- Trueblood M. S.: J. Dairy Sci. 40, 149, 1957.

Adres autora: doc. dr habil. Kazimierz Roslanowski, Osiedle Przyjaźni 13/153, 61-687 Poznań.

Рослановски К., Лосински Т., Михалкевич М. — Микрофлора спермы племенных быков в качестве элемента зооветеринарной оценки условий производства и ухода за стадом.

Провели качественно-количественные бактериологические исследования 565 эякулятов от 320 племенных быков из 6 разных станций искусственного осеменения. Кроме того, на каждой подвергнутой исследованиям станции, провели оценку общего состояния гигиены по разработанной схеме, основанной на системе очков.

Установили, что в 1 мл неразбавленной спермы находилось в среднем 684 445 микробов, а колебания в зависимости от станции составляли 330 559—1 025 000. К наиболее распространённым микробам принадлежали бактерии родов *Bacillus*, *Micrococcus*, *Proteus* и *Pseudomonas*. Станция в которой сперма племенных быков показывала самую низкую степень загрязнённости микробами, обладала одновременно самой высокой оценкой общего состояния гигиены по очкам (по сравнению с другими станциями). Вышеуказанный факт позволяет предполагать, что между общими условиями гигиены на станции осеменения и количеством микроорганизмов в сперме быков существует определённая зависимость.

Roslanowski K., Łosiński T., Michałkiewicz M. — Microflora of bull semen in zooveterinary evaluation of conditions of production and management of the herd.

Bacteriological examinations were carried out on 565 ejaculates collected from 320 bulls in six different Artificial Insemination Stations. Additionally the general state of hygiene of each of the stations was estimated using a specially elaborated scheme based on a score system. In 1 ml of undiluted semen on an average 684 445 microorganisms were found; their number ranged from 330 559 to 1 025 000 in dependence on a station. Bacterial cells usually belonged to *Bacillus*, *Micrococcus*, *Proteus* and *Pseudomonas* genera. The station in which the bull semen showed the lowest bacterial contamination reached also the highest score of general sanitary state compared with other stations. The findings allow to assume that there is a certain correlation between the general sanitary state of A. I. station and the number of microorganisms present in the bull semen.

SMITH W. D., WELLS P. W., BURRELS C., DAWSON A. M. L.: Immunoglobuliny, przeciwciała i inhibitory wirusa parainfluenzy-3 w wydzielinach układu oddechowego owiec. (Immunoglobulins, antibodies and inhibitors of parainfluenza-3 virus in respiratory secretions of sheep). Archives Virology, 49, 329—337, 1975 (4).

Określano specyficzną zdolność zobojętniania i zahamowania hemaglutynacji wirusa parainfluenzy-3 (PI-3) przez surowicę, wydzielinę jamy nosowej, oskrzeli i tchawicy u jagniąt zakażonych doświadczalnie do otworów nosowych 1 ml ( $10^8$  TCID<sub>50</sub>) wirusa parainfluenzy-3. Stężenie immunoglobulin w surowicy określono metodą immunodiffuzji pierścieniowej. Dodatnie wyniki w odczynie zahamowania hemaglutynacji uzyskiwano z wydzielinami z układu oddechowego zarówno jagniąt z grupy zakażonej jak i z grupy kontrolnej. Natomiast przeciwciała zobojętniające wirus występowały jedynie w wydzielinie jamy nosowej zakażonych zwierząt. W badanych wydzielinach występowało wysokocząsteczkowe białko, aktywne w odczynie zahamowania hemaglutynacji z użyciem wirusa PI-3, PI-2, PI-1 oraz wirusem choroby Newcastle. Natomiast przeciwciała zobojętniające wirus były specyficzne i występowały we frakcji IgA białek surowicy.

G.