

JACEK KROLIŃSKI

Wpływ *Pseudomonas aeruginosa* na skuteczność zabiegów unasiwienia krów

Z Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Efektywność zabiegów unasiwienia krów w dużym stopniu uzależniona jest od jakości nasienia buhajów. Na biologiczną wartość nasienia mają wpływ czynniki genetyczne, warunki utrzymania, żywienia i pielęgnacji stadników, a także sposób uzyskiwania ejakulatów i dalszej ich „obróbki”. Wydaje się, że duży wpływ na jakość nasienia wywierają drobnoustroje zanieczyszczające ejakulatory. Bakterie te pochodzą z narządu moczopłciowego samca, bądź też dostają się do ejakulatów z zewnątrz w czasie pobierania, rozcieńczania i dalszej konserwacji uzyskanego nasienia. Większość badaczy twierdzi, że nie tyle jakość, co ilość bakterii decyduje o szkodliwym wpływie na przeżywalność plemników oraz skuteczność zabiegów unasiwienia (5, 7, 12).

Wpływ drobnoustrojów z rodzaju *Vibrio* na czynności płciowe jest ogólnie znany, natomiast nie zostało ostatecznie wyjaśnione oddziaływanie bakterii nieswoistych, do których zaliczyć należy *Pseudomonas aeruginosa*. Problem ten staje się aktualny z uwagi na powstanie wielu szczepów opornych na antybiotyki, szeroko stosowane w lecznictwie i żywieniu zwierząt. Większość szczepów *Ps. aeruginosa* wykazuje oporność nie tylko na antybiotyki i związki nitrofuranowe (1, 8), ale również na wiele chemioterapeutyków i środków odkażających (8). Świadczą o tym opisane przypadki bakteriemii u ludzi, po użyciu igieł i cewników zanieczyszczonych szczepem *Ps. aeruginosa*, przechowywanych w 0.1% roztworze preparatu Zefiran, które jest odpowiednikiem produkowanego w kraju Sterinolu, zawierającego mieszaninę chlorków alkiłodwumetylobenzyloamoniowych (10). Tabak i wsp. stwierdzili w glebach, kompostach, osadach dennych oraz z ropy naftowej wiele szczepów tego zarazka opornych na fenole i związki pochodne (13). Przedstawione fakty częściowo tłumaczą trudności napotymane przy likwidacji zakażeń oddziałów szpitalnych a także pomiesz-

czeń inwentarskich stacji unasiwienia zwierząt. Można sądzić, że dodawanie antybiotyków do nasienia buhajów celem zabezpieczenia go przed namnażaniem mikroflory z rodzaju *Pseudomonas*, jest zabiegiem stosunkowo mało skutecznym. Antybiotyki nie tylko nie likwidują zarazków, które wykazują na nie oporność, ale mogą mieć również ujemny wpływ na przeżywalność plemników w konserwowanym nasieniu (11).

Duże rozprzestrzenienie pałeczek ropy błękitnej w środowisku buhajów a także częste występowanie w nasieniu i w wypluczynach z napletka, było motywem do podjęcia badań nad wpływem zanieczyszczenia nasienia przez *Ps. aeruginosa* na jego zdolność zapładniającą.

Materiał i metody

Do badań użyto 162 ejakulatory, pochodzące od 56 buhajów rasy nob i charolaise, zgrupowanych w jednej ze stacji unasiwienia zwierząt. Nasienie uzyskiwano przy pomocy sztucznej pochwy, według ogólnie przyjętych zasad a następnie rozrzedzano je rozcieńczalnikiem mlekowo-żółtkowym bez dodatku antybiotyków. Do oceny bakteriologicznej używano nasienia świeżego oraz po trzy losowo wybrane próby z każdego nasienia rozrzedzonego. Po 2 godzinach od pobrania wykonywano posiewy materiału na podłoża stałe (agar zwykły oraz wzbogacony dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej), a następnie inkubowano w temperaturze 37° w ciągu 48 godzin. Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* identyfikowano na podstawie wyglądu wyrosniętych kolonii, ich zabarwienia, zdolności do hemolizy, charakterystycznego zapachu oraz badania mikroskopowego preparatów barwionych metodą Grama.

Rozrzedzone nasienie po schłodzeniu wysyłano w próboweczkach jednoporcjowych umieszczonych w termosach z lodem do punktów unasiwienia, odnotowując numer wysłanej porcji, datę i numer buhaja oraz miejscowość, w której znajdował się punkt.

Jak wynika z załączonej tabeli, unasiwiono 3361 krów grupy kontrolnej i 3138 krów grupy doświadczalnej, w której użyto nasienia zanieczyszczonego *Ps. aeruginosa*. Skuteczność unasiwienia stwierdzono po 60 dniach od zabiegu. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem t-Studenta.

Tab. 1. Wpływ *Ps. aeruginosa* na skuteczność zabiegów unasiwienia krów

Ejakulatory	Ilość ejakulatów badanych	Wyniki zabiegów unasiwienia			
		unasiwiono krów po raz pierwszy	krowy nie powtarzające do 60 dni		
			liczba	%	odchylenie standardowe
A - kontrolne	84	3361	2381	69,5	± 10,6
B - zanieczyszczone	78	3138	2053	66,0	± 13,0
		Różnica		3,5	

Wyniki i omówienie

Wyniki doświadczeń przedstawione zostały w załączonej tabeli. Obliczenia statystyczne wykazały, że odchylenia standardowe dla grupy kontrolnej i doświadczalnej wynosiły kolejno 10,572 i 13,045 przy przedziale ufności 2,328 i 2,964. Współczynnik zmienności dla grupy kontrolnej odpowiadał wartości — 0,1530 natomiast dla grupy doświadczalnej — 0,1989. Z obliczeń tych wynika, że różnica statystycznie istotna występowała tylko przy $\alpha=0,1$. Jakkolwiek odsetek zacielenych krów był wyższy o 3,5 na korzyść samic unasienianych nasieniem nie zanieczyszczonym przez mikroflorę z rodzaju *Pseudomonas*, to z analizy statystycznej wynika, że różnica pomiędzy obu grupami nie była znamienne statystycznie istotna. Przedstawione doświadczenia nie potwierdziły w pełni wcześniejszych obserwacji Gamcika (4), który wykazał wyraźny spadek skuteczności unasieniania krów inseminowanych nasieniem zanieczyszczonym przez *Ps. aeruginosa*. Wydaje się, że nieco mniejsza skuteczność zabiegów unasieniania krów grupy doświadczalnej wynika najprawdopodobniej ze szkodliwego wpływu *Ps. aeruginosa* na plemniki, wykazanego we wcześniejszych obserwacjach (5, 9). Niekorzystne oddziaływanie na nasienie mogły wywierać zarówno żywe komórki bakteryjne, jak również produkty ich rozpadu (5). Nie wydaje się prawdopodobne, aby niższy odsetek zacielen krów był związany z zakażeniem błony śluzowej poszczególnych odcinków układu rodowego przez drobnoustroje z rodzaju *Pseudomonas*, znajdujące się w depo-

nowanym nasieniu. Jak wynika z doniesień autorów, obecność w nasieniu drobnoustrojów niespecyficycznych i warunkowo chorobotwórczych, nie stanowi potencjalnej możliwości zakażenia układu rozrodczego samic, ponieważ błona śluzowa macicy wykazuje w okresie rui szczególną odporność na infekcję (3, 6). Obserwowane po unasienianiu sporadyczne przypadki infekcji narządu rodowego u krów były najprawdopodobniej wynikiem zakażenia w fazie porużowej, a więc w okresie tworzenia się ciałka żółtego (2).

Mając na uwadze uzyskane wyniki doświadczeń, należy zwrócić szczególną uwagę na higienę pobierania nasienia, co w dużym stopniu zabezpieczy ejakulaty przed zanieczyszczeniem a tym samym podniesie ich wartość użytkową.

Piśmiennictwo

1. Anusz Z.: Medycyna Wet. 19, 514, 1963.
2. Cembrowicz H. J.: II Congr. Physiol. Pathol. Anim. Reprod. Copenhagen 1952.
3. Florent A., V Congr. Int. Reprod. anim. Fec. artif. Trento V, 7, 1964.
4. Gamcik P.: Veterinarství 6, 211, 1959.
5. Grabowski K.: Badania nad wpływem flory bakteryjnej nasienia na przeżywalność plemników w rozcieńczonym nasieniu zdrowych buhajów. Praca doktorska. WSR Wrocław 1965.
6. Jaśkowski L.: Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln. 39, 54, 1963.
7. Kazda J.: Vet. Med. 5, 325, 1963.
8. Króliński J.: Medycyna Wet. 31, 82, 1975.
9. Króliński J.: Wpływ *Ps. aeruginosa* na przeżywalność plemników w nasieniu buhajów. Medycyna Wet. (w druku).
10. Plotkin A. S., Austrian R.: Amer. J. Med. Sci. 235, 621, 1958.
11. Rostanowski K.: Medycyna Wet. 14, 421, 1958.
12. Schwerdtner H.: Zuchthyg. 5, 329, 1961.
13. Tabak H. H., Chambers C. W., Kabler P. W.: Bacteriol. 87, 910, 1964.

Adres autora: lek. wet. Jacek Króliński, ul. Komuny Paryskiej 63a/6, 50-452 Wrocław.

HABRDA J., MALIKOVA M.: Trwałość pozostałości streptomycyny w tkankach cieląt po pozajelitowym, leczniczym podaniu. (Pretrvavani rezidui streptomycinu v organizmu telat po jeho parenteralni lecebne aplikaci). Vet. Med. (Praga) 21, 167—174, 1976 (3).

Dyfuzyjną metodą wg Gartsidea określano stężenie streptomycyny w tkankach 12 szt. cieląt (po dwa w każdej grupie) po domięśniowym podaniu Streptomycyny-sulfate produkcji rumuńskiej w jednorazowej dawce 1 g na 1 sztukę. Jako drobnoustrojów testowych użyto zarodnikową hodowlę szczepów *Bac. subtilis* (ATCC 6633) i *Bac. cereus* var. *mycoides* (ATCC 11778), z tym że *Bac. subtilis* był bardziej czuły w oznaczeniach.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że po 2, 3, 5 i 10 dniach od podania antybiotyku u wszystkich poddanych ubojowi cieląt wyniki były dodatnie, po 15 dniach wynik dodatni był tylko u jednego z badanych cieląt a po 20 dniach u obu cieląt wynik był ujemny. W poszczególnych próbkach dodatnie wyniki najczęściej stwierdzano w nerkach i w miejscach iniekcji, rzadziej natomiast w innych tkankach (żółć, mięsień przepony). W mięśniach szkieletowych w żadnym przypadku antybiotyku nie stwierdzono. Próbkę mięśni pochodzące z okolic miejsc iniekcji po podaniu ich mrożeniu (temp. —15 do —20°C przez 1 miesiąc) wykazywały śladowe ilości antybiotyku. Autorzy polecają dla badanego preparatu 20 dniowy okres karencji między ostatnim podaniem antybiotyku a ubojem zwierząt.

d. i.

MALIKOVA M., HABRDA J.: Pozostałości chloramfenikolu w tkankach cieląt po pozajelitowym podaniu preparatu Chronicin inj. (Rezidua chloramfenikolu v organizmu telat po parenteralni aplikaci Cs. pripravku Chronicin inj.) Vet. Med. (Praga) 21, 175—185, 1976 (3).

Dwoma dyfuzyjnymi metodami określono stężenie chloramfenikolu w tkankach 11 szt. cieląt (w wieku 3—10 dni) po jednorazowym leczniczym podaniu preparatu Chronicin inj. w dawce 12 mg/kg wagi ciała. Z czterech muzealnych szczepów użytych do badań, najczulszy był *Micrococcus flavus* (ATCC 10240). Stężenie antybiotyku odczytywano z krzywej standardowej. Z przeprowadzonych badań wynika, że po 3 dniach od podania u wszystkich cieląt wynik był dodatni, po 5 i 10 dniach wynik ujemny stwierdzono u jednego cielęcia z trzech badanych, natomiast po 15 dniach u obu badanych cieląt wynik był ujemny. Obecność chloramfenikolu najczęściej stwierdzano w wątrobie i miejscu iniekcji, a maksymalne stężenie w wątrobie.

Obróbka kulinarna i technologiczna dodatnich próbek mięśni i wątroby wykazała, że gotowanie (przez 15 min.) i pieczenie (przez 30 min.) inaktywowało antybiotyk, natomiast mrożenie i solenie okazało się niedostateczne — stwierdzono obniżenie się ilości antybiotyku o 20—30%. Dla badanego preparatu autorzy polecają 15 dniowy okres karencji.

d. i.