

раствора микронизированного дитреомцина вызывают воспаления матки. Эти воспаления развиваются быстрее (через 5 часов), когда дитреомцин вводился в ранней фазе после охоты, несколько же позднее (через 24 часа), когда средство вводилось в фазе развитого желтого тела. В гистологических картинах матки констатировали повреждение покровного эпителия, отек межжелезистой ткани, гиперемии поверхностных слоев слизистой оболочки, инфильтрат нейтрофильных лейкоцитов и крупные количества тучных клеток в субэпителиальном слое, показывающих черты дегрануляции. Гистологические изменения сопровождались ростом кислой и щелочной фосфатаз, а также кислых мукополисахаридов. Наблюдаемые макро- и микроскопические изменения отступали через 5 дней после ввода средства независимо от того, в какой фазе яичникового цикла оно вводилось.

Krzyżanowski J., Rubaj B., Malinowski E., Płotnicki Z., Sławomirski J., Wawron W., Wrona Z. — The

influence of a water solution of detreomycin on histological picture and some histochemical reactions of the wall of uterus in heifers.

The studies performed on 36 heifers revealed that intrauterine infusions of 0.4% water solution of micronized detreomycin caused metritis. The inflammation developed faster (after 5 hr) when detreomycin was infused in an early post-oestrus phase, and later (after 24 hr) when the antibiotic was applied in a phase of the developed yellow body. Histological examinations of the uterus showed destruction of the covering epithelium, oedema of interglandular tissue, hyperemia of superficial layers of mucosa, infiltration of neutrophils and a great number of degranulated mastocytes in subepithelial layer. Along with the above lesions an increase of acid and alkaline phosphatases and acid mucopolysaccharides was noted. The observed macroscopic and microscopic lesions diminished after 5 days after the application of the antibiotic, irrespective of the phase of the ovarian cycle in which detreomycin was infused.

ZDZISŁAW BORYCZKO, JADWIGA OSSOWICKA-STEPIŃSKA,
JAN UDALA, BOGDAN LASOTA

Wpływ penicyliny i streptomycyny na metabolizm i żywotność nasienia buhajów*)

Z Zakładu Rozrodu Zwierząt Instytutu Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej
Wydziału Zootechnicznego AR w Szczecinie

Obowiązujące w praktyce inseminacyjnej przepisy przewidują dodatek antybiotyków do rozrzedzalnika nasienia jako środka bakteriostatycznego i bakteriobójczego. Z punktu widzenia chemicznego antybiotyki należą do różnych grup chemicznych od prostych drobnocząsteczkowych związków do wielkocząsteczkowych. To zróżnicowanie budowy chemicznej powoduje, że antybiotyki wywierają różny efekt biologiczny i nie można stosować uniwersalnego klucza wyjaśniającego ich mechanizm działania, zarówno w stosunku do komórki bakteryjnej jak i komórek ustroju wyższego (3). Należy sądzić, że wiele z ich właściwości oddziaływania na komórkę bakteryjną jest aktualnych również w odniesieniu do takiej komórki, jaką jest plemnik. Według Croftona (2) antybiotyki mogą działać w następujący sposób:

- uszkadzają ściankę komórki zmieniając jej właściwości osmotyczne i powodując absorpcję wody prowadzącą do rozpadu komórki,
- działają na błonę komórkową powodując utratę metabolitów niezbędnych dla życia,
- zaburzają biosyntezę białka.

Wyniki niektórych badań wskazują na możliwość niekorzystnego oddziaływania na nasienie, najczęściej stosowanych antybiotyków, tzn. penicyliny i streptomycyny (7, 8). Znany był również wcześniej fakt sygnalizowania przez Stacje Hodowli i Unasieniania Zwierząt

toksyczności dla nasienia niektórych partii antybiotyków używanych do konserwacji nasienia. Obecnie wszystkie „Stacje Unasieniania” w Polsce zaopatrywane są w penicylinę i streptomycynę testowaną w Centralnej Stacji Hodowli Zwierząt.

Przedstawione zagadnienia dały podstawę do badań, mających na celu określenie wpływu penicyliny i streptomycyny na niektóre właściwości nasienia. W badaniach tych uwzględniono metodykę, która mogła pomóc w wyjaśnieniu niektórych mechanizmów oddziaływania antybiotyku na plemniki.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na nasieniu pobieranym do sztycznej pochwy od czterech buhajów rasy cb w wieku 24 do 36 miesięcy. Antybiotyki otrzymano z Centralnej Stacji Hodowli Zwierząt, po ich przetestowaniu z partii rozsyłanej do SHiUZ. Penicylina była produkcyjna Polfa nr serii 5040180, streptomycyna pochodziła z importu dla Centralnej Stacji Hodowli Zwierząt z przeznaczeniem dla potrzeb inseminacji.

Nasienie rozrzedzono 2,9% roztworem cytrynianu sodu w pięciu wariantach:

- nasienie bez antybiotyków (kontrola),
- nasienie + 500 j. penicyliny/ml lub 0,5 mg streptomycyny/ml,
- nasienie + 1000 j. penicyliny/ml lub 1,0 mg streptomycyny/ml (wariant stosowany w SHiUZ),
- nasienie + 5000 j. penicyliny/ml lub 5,0 mg streptomycyny/ml,
- nasienie + 10 000 j. penicyliny/ml lub 10,0 mg streptomycyny/ml.

* Praca wykonana w ramach problemu MR.II.10.

W tak przygotowanych próbach nasienia mierzo- no ilość zużytego tlenu w czasie godzinnej inkubacji w temperaturze 37° metodą manometryczną przy pomo- cy aparatu Warburga. Przed i po inkubacji w ka- żdej próbie oznaczono aktywność aminotransferazy asparaginianowej (GOT) według metody Reitmana i Frankela (6), oraz oceniano w preparatach barwio- nych metodą różnicową (barwnik eozynowo-nigrozy- nowy) odsetek plemników żywych i martwych. Przy porównaniu uzyskanych wyników posłużono się me- todami statystycznymi (analiza wariancji oraz test t-Studenta i Duncana).

Wyniki i omówienie

Przy określaniu objętości zużywanego tlenu przez nasienie z penicyliną stwierdzono istot- ne obniżenie zużycia tlenu już w próbce o za- wartości 500 j. w ml po 30 minutach inkubacji (tab. 1). W nasieniu ze streptomycyną obniżenie zużycia tlenu zaznaczyło się przy za- wartości 1,0 mg/ml tego antybiotyku po 45 minutach inkubacji (tab. 2). Po 60 minutach inkubacji różnice między próbą kontrolną a prawie wszystkimi próbkami z zawartością pe-

nicyliny i streptomycyny były statystycznie istotne ($p \leq 0,01$), wyjątek stanowiła próba z zawartością 0,5 mg/ml streptomycyny. Uzyska- ne wyniki wskazują na ujemny wpływ anty- biotyków na procesy metaboliczne nasienia. Wpływ ten przejawiał się obniżeniem zużycia tlenu zaznaczając się przy niższej o połowę zawartości penicyliny niż w zalecanej normie w obowiązującej instrukcji prac laboratoryj- nych w SHiUZ oraz przy zawartości 1,0 mg/ml streptomycyny (ilość, którą dodaje się do na- sienia). Bliższe wyjaśnienie mechanizmu obni- żenia jednego z przejawów metabolizmu na- sienia przez antybiotyki wymaga dalszych ba- dań aktywności enzymów powiązanych bezpo- średnio z przemianami metabolicznymi nasie- nia.

W aktywności aminotransferazy asparagina- nowej różnice między próbą kontrolną nasie- nia a próbkami z wzrastającą ilością antybio- tyków były niewielkie. Ilustracją są wyniki przedstawione w tab. 3 i 4. Jedynie w próbce

Tab. 1. Wpływ penicyliny na zużycie tlenu w nasieniu buhaja (w mikrolitrach na 10⁸ plemników)

Rodzaj próby	Liczba prób	Czas w minutach			
		15	30	45	60
Nasienie bez penicyliny	15	9,32	14,74	20,83	25,17
Nasienie + 500j. Pd/ml penicyliny	15	7,77	12,64	19,15	22,48
Nasienie + 1000j. Pd/ml penicyliny	15	7,72	13,15	17,84	22,18
Nasienie + 5000j. Pd/ml penicyliny	15	7,68	12,91	17,77	22,34
Nasienie + 10000j. Pd/ml penicyliny	15	6,73	11,77	16,29	21,14

Objaśnienia: * — różnica statystycznie istotna ($p=0,05$), ** — różnica statystycznie istotna ($p=0,01$).

Tab. 2. Wpływ streptomycyny na zużycie tlenu w nasieniu buhaja (w mikrolitrach) 10⁸ plemników

Rodzaj próby	Liczba prób	Czas w minutach			
		15	30	45	60
Nasienie bez streptomycyny	15	9,45	16,77	22,77	27,97
Nasienie + 0,5 mg/ml streptomycyny	15	9,25	15,55	21,08	25,99
Nasienie + 1,0 mg/ml streptomycyny	15	8,97	15,46	19,77	25,08
Nasienie + 5,0 mg/ml streptomycyny	15	9,21	14,68	19,31	23,98
Nasienie + 10,0 mg/ml streptomycyny	15	9,89	14,13	19,90	23,92

Objaśnienie: ** — różnica statystycznie istotna ($p=0,01$).

Tab. 3. Zmiany w aktywności aminotransferazy aspa- raginianowej (GOT) w osoczu nasienia w czasie go- dzinnej inkubacji w temperaturze 37°C

Rodzaj próby	Liczba prób	Aktywność w mu/ml		Różnica
		przed inkubacją	po inkubacji	
Nasienie bez penicyliny	15	242,9	268,0	25,3
Nasienie + 500j. Pd/ml penicyliny	15	240,0	266,0	26,0
Nasienie + 1000j. Pd/ml penicyliny	15	239,3	268,2	28,9
Nasienie + 5000j. Pd/ml penicyliny	15	237,3	271,1	33,8
Nasienie + 10000j. Pd/ml penicyliny	15	226,1	305,9	79,8

Tab. 5. Żywotność plemników w czasie 60 minutowej inkubacji w temperaturze 37°C

Rodzaj próby	Liczba prób	% plemników żywych		Różnica
		przed inkubacją	po inkubacji	
Nasienie bez penicyliny	15	70,5	65,0	4,5
Nasienie + 500j. Pd/ml penicyliny	15	70,2	65,5	4,7
Nasienie + 1000j. Pd/ml penicyliny	15	69,7	65,6	4,1
Nasienie + 5000j. Pd/ml penicyliny	15	69,1	62,9	6,2
Nasienie + 10000j. Pd/ml penicyliny	15	67,4	60,4	7,0

Objaśnienia: * — różnica statystycznie istotna ($p=0,05$), ** — różnica statystycznie istotna ($p=0,01$).

Tab. 4. Zmiany w aktywności aminotransferazy aspa- raginianowej (GOT) w osoczu nasienia w czasie go- dzinnej inkubacji w temperaturze 37°C

Rodzaj próby	Liczba prób	Aktywność w mu/ml		Różnica
		przed inkubacją	po inkubacji	
Nasienie bez streptomycyny	15	234,52	283,92	49,40
Nasienie + 0,5 mg/ml streptomycyny	15	240,44	263,90	23,45
Nasienie + 1,0 mg/ml streptomycyny	15	233,17	270,58	37,41
Nasienie + 5,0 mg/ml streptomycyny	15	233,72	288,98	55,26
Nasienie + 10,0 mg/ml streptomycyny	15	212,60	295,40	62,80

Tab. 6. Żywotność plemników w czasie 60 minutowej inkubacji w temperaturze 37°C

Rodzaj próby	Liczba prób	% plemników żywych		Różnica
		przed inkubacją	po inkubacji	
Nasienie bez streptomycyny	15	66,9	63,6	3,3
Nasienie + 0,5 mg/ml streptomycyny	15	66,9	63,7	3,2
Nasienie + 1,0 mg/ml streptomycyny	15	65,4	63,1	3,3
Nasienie + 5,0 mg/ml streptomycyny	15	65,8	63,7	3,1
Nasienie + 10,0 mg/ml streptomycyny	15	65,6	59,9	4,7

nasienia z najwyższym dodatkiem penicyliny (10.000 j./ml), różnica w aktywności GOT przed i po inkubacji była wysoka i wyniosła 79,8 mu/ml w porównaniu z próbą kontrolną, gdzie różnica ta wynosiła 25,3 mu/ml. Nie stwierdzono jednak między próbkami statystycznie istotnych zależności. Biorąc pod uwagę wyniki badań Pace i Grahama (5) oraz Browna i wsp. (1), według których aktywność GOT w osoczu nasienia można uważać za wskaźnik uszkodzeń plemnika, należy sądzić, że antybiotyki w nieznacznym stopniu uszkadzają strukturę błon komórkowych plemnika.

W odsetku plemników żywych nie stwierdzono obniżenia w porównaniu z kontrolą w próbach o zawartości 500 i 1000 j. penicyliny/ml. We wszystkich pozostałych próbach obserwowano wyraźne zwiększenie odsetka plemników martwych. Różnice te były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$), (tab. 5). Wyniki tych badań korespondują z wynikami podanymi przez Roslanowskiego (7). Nie stwierdzono natomiast różnic w odsetku plemników żywych w próbach ze streptomycyną (tab. 6).

W przeprowadzonych badaniach uzyskano więc potwierdzenie znanych faktów różnego nasilenia toksycznego oddziaływania antybiotyków na żywotność nasienia (4).

Wnioski

1. Penicylina i streptomycyna obniżają metabolizm nasienia, co przejawia się zmniejszonym zużyciem tlenu. Wpływ ten zaznacza się w sposób znamieny w próbach o zawartości 500 j./ml penicyliny i 1,0 mg/ml streptomycyny.

2. Wpływ penicyliny i streptomycyny na uwalnianie aminotransferazy asparaginianowej (GOT) nie jest wyraźnie zaznaczony.

3. Badana próba penicyliny wykazała toksyczne właściwości przejawiające się obniżeniem odsetka plemników żywych w czasie godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C w stężeniu powyżej 1000 j./ml.

Piśmiennictwo

1. Brown K. J., Crabo B. G., Graham E. F., Pace M. M.: *Cryobiol.* 8, 220, 1971.
2. Crofton J.: *Brit. Med. J.* 25, 137, 1969.
3. Danysz A., Jeljaszewicz J.: *Podstawy antybiotykoterapii*. WKC, Warszawa, 1976.
4. Kozłowska L.: *Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln.* 197, 111, 1977.
5. Pace M. M., Graham E. F.: *Biol. Repr.* 3, 140, 1970.
6. Reitman S., Frankel S.: *Amer. J. clin. Path.* 28, 56, 1957.
7. Rostanowski K.: *Medycyna Wet.* 14, 421, 1958.
8. Zaugg N. L., Almquist J. O.: *J. Dairy Sci.* 56, 202, 1973.

Adres autora: doc. dr habil. Zdzisław Boryczko, ul. Dr Judyń 6, 71-460 Szczecin.

Борычко З., Оссовицкая-Стемпиньская Я., Удаля Я., Лясота Б. — Влияние пенициллина и стрептомицина на метаболизм и жизнеспособность семени быков.

Цель исследований состояла в определении влияния пенициллина и стрептомицина на дыхательный процесс живчиков, активность глутаматаспартат-

трансаминазы, освобождаемой в плазму семени, и на процент живых и мертвых живчиков. Исследуя пробы семени с различным содержанием антибиотиков, обнаружили существенное понижение расходования кислорода живчиками в пробах, содержащих 500 е. пенициллина в 1 мл после 30 минут инкубации в темп. 37°C. Для стрептомицина такая зависимость отмечилась при содержании 1,0 мг/мл после 45 минут инкубации. В принятых условиях опыта (60 минут инкубации в темп. 37°C) не уловили существенного влияния антибиотиков на активность освобождаемой в плазму семени глутаматаспартаттрансаминазы. В проценте живых живчиков не обнаружили заметного понижения в пробах с содержанием 500 и 1000 е. пенициллина (вариант, применяемый в инсеминационной практике). В пробах с vyšшими содержанием пенициллина наблюдалось отчетливое увеличение процента мертвых живчиков. Эти различия были статистически существенными. Стрептомицин зато не оказывал влияния на увеличение процента мертвых живчиков.

Boryczko Z., Ossowicka-Stępińska J., Udała J., Lāsota B. — **The influence of penicillin on metabolism and survival of bulls semen.**

The purpose of the studies was to establish the influence of penicillin and streptomycin of respiration of spermatozoons, activity of GOT released to the semen plasma and percentage of live and dead spermatozoons. Studies performed with the samples of semen containing various content of antibiotics revealed a significant decrease of oxygen consumption after 30 min of incubation at 37°C by spermatozoons in samples containing 500 iu of penicillin per ml of semen. For streptomycin the same interdependence was noted at a concentration of 1.0 of the antibiotic per one ml of semen after 45 min of incubation. There was not observed a significant influence of the antibiotics on the activity of GOT released to semen plasma at the conditions of the experiment (time of incubation — 60 min., temperature of incubation — 37°C). The percentage of live spermatozoons did not diminish significantly at samples of semen containing 500 and 1000 iu of penicillin per one ml (a variant applied in the insemination practice). In the samples containing higher content of penicillin a percentage of dead spermatozoons significantly increased. Streptomycin did not influence the increase of a percentage of dead spermatozoons.

CHANDRA P., CHANANA A. D., JOEL D. D.: **Rozmieszczenie limfocytów T i B we krwi i tkankach limfatycznych płodów i dorosłych owiec. (Distribution of T and B lymphocytes in blood and lymphoid tissues of fetal and adult sheep).** *Am. J. vet. Res.* 41, 2092—2094, 1980 (12).

Określono rozmieszczenie limfocytów T i B we krwi, grasicy i obwodowych narządach limfatycznych płodów i dorosłych owiec. Limfocyty T identyfikowano w odczynie immunofluorescencji pośredniej z użyciem surowic odpornościowych króliczych dla komórek grasicy owiec; zaś limfocyty B w odczynie immunofluorescencji pośredniej z użyciem surowic odpornościowych króliczych dla immunoglobulin owiec. U dorosłych owiec rozmieszczenie limfocytów T i B kształtowało się w sposób następujący: krew — 75,5% 16,68%, grasica 96,38%; 1,33%; śledziona 75,13%; 10,69% obwodowe węzły chłonne 77,87%; 23,17%, krezkowe węzły chłonne 76,24%; 18,41%. U płodów natomiast limfocyty T i B stanowiły w wątrobie 82,05%; 8,05%, w grasicy 97,76%; 0,24%, w śledzionie 65,53% w 4,93%, w obwodowych węzłach chłonnych 80,19%; 9,15%.

G.