

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

STEFAN WIERZBOWSKI

Występowanie i znaczenie warunkowo-patogennych i wszechobecnych bakterii w nasieniu buhajów^{*)}

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasienniania Zwierząt Instytutu Zootechniki,
32-083 Balice k. Krakowa

Od lat czterdziestych do sześćdziesiątych, a więc w początkach rozwoju inseminacji zajmowano się bardzo żywo zagadnieniem zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia i ewentualnym wpływem warunkowo-patogennych mikroorganizmów na nasienie i płodność samic. Później zainteresowania te w znacznej mierze zanikły, a że wyniki inseminacji na ogół nie budziły zastrzeżeń, nie było bodźca do prowadzenia badań w tym kierunku. Dopiero rozwijający się w latach siedemdziesiątych międzynarodowy obrót nasieniem mrożonym na nowo ożywił tę kwestię. Może nie tyle ze względu na stwierdzone zagrożenie, ile raczej skutkiem wymagań stawianych przez niektóre kraje importujące. Równocześnie też wyłoniła się kwestia zamrażania wraz z nasieniem drobnoustrojów, które po określonym czasie przechowywania nasienia mogą znaleźć się w środowisku zwierzęcym o zmienionej rezystencji.

Flora bakteryjna worka napletkowego buhaja

Jak wiadomo worek napletkowy jest miejscem, gdzie zawsze bytuje flora bakteryjna. Ilość mikroorganizmów i skład tej flory wydaje się w znacznej mierze zależeć od warunków utrzymania zwierząt, a także jest możliwe, że na przestrzeni roku występują wahania zarówno ilościowe jak i jakościowe. Można też domniemywać, że nieuchronna jest obecność tej samej flory w okolicy ujścia cewki moczowej, gdzie może się dostawać zarówno gdy prącie jest w stanie spoczynku, jak też w czasie wzwodu. W wyższych odcinkach kanału moczowo-płciowego były również stwierdzone te same drobnoustroje, które wyosobniano z nasienia. Do wysokości odcinka miednicowego były stwierdzone przez Bane i wsp. (1), na całym przebiegu dróg wyprowadzających nasienie oraz we wszystkich dodatkowych gruczołach płciowych znajdował je Kazda (18), natomiast w badaniach Nowakowskiego (32) izolowano stosunkowo nieliczną florę tylko w odcinku prąciowym cewki.

Skala jakościowa organizmów występujących w worku napletkowym jest, jak już wspom-

niano, bardzo szeroka. Badania zawartości worka napletkowego przeprowadzone przez Malickiego i wsp. (22) doprowadziły do wyizolowania 83 szczepów, które następnie zakwalifikowano w 6% jako *Streptococcus sp.*, 9,6% — *Micrococcus*, 1,2% — *Sarcina*, 15,6% — mikrokokki nieoznaczone, 10,8% — *Pseudomonas*, 13,2% — *Proteus*, 2,4% — *E. coli*, 28,8% — pałeczki nieoznaczone, 9,6% — *Corynebacterium*, 1,2% — *B. subtilis*. Kazda (17) najczęściej izolował *Ps. aeruginosa* i *Corynebacterium sp.* Z kolei Marinov i wsp. (23) najczęściej izolowali *Proteus vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* i *B. megaterium*. Ci sami autorzy obliczali, że ilość bakterii w worku napletkowym waha się od 1,9 do $69,6 \times 10^6$. Jest oczywiste, że w świeżym nasieniu stwierdza się te same rodzaje drobnoustrojów, co w worku napletkowym, a dochodzą jeszcze takie, które bytują na skórze zwierząt i dostają się do nasienia w czasie pobierania.

W pewnym okresie próbowano florę napletkową usuwać stosując różnego rodzaju płukania (23, 38, 39), ale uzyskany efekt był tylko chwilowy i w ciągu paru tygodni następował ponowny rozwój często jeszcze liczniejszej flory (15).

Flora bakteryjna nasienia świeżego

Jest oczywiste, że wysuwające się prącie zgarnia ujściem cewki moczowej zawartość worka napletkowego, która następnie miesza się z nasieniem w trakcie ejakulacji. Jest to główne źródło flory bakteryjnej spotykanej w nasieniu. Innym może być toczący się proces chorobowy w drogach wyprowadzających nasienie. Taki przypadek opisali Blom i Dam (3), którzy u buhaja z obustronnym *vesiculitis* i *ampulitis* stwierdzili obecność określonego szczepu *E. coli* w worku napletkowym i nasieniu, a po uboju w czystej kulturze również w objętych zapaleniem dodatkowych gruczołach płciowych. Oczywiście flora bakteryjna bytująca na skórze zwierząt dostaje się też do nasienia, a źródłem zakażenia mogą być także przedmioty używane do pobierania i obróbki nasienia oraz ludzie przy tym zatrudnieni (25). We wspomnianych już badaniach Marinov i wsp. (23) podają, że w nasieniu stwierdzano zwykle te same rodzaje drobnoustrojów co w napletku. Z prac Nowakowskiego i Wierzbow-

^{*)} Referat przedstawiony na sympozjum FAO pt.: „Międzynarodowy obrót nasieniem i zarodkami”. Rzym, 23.—27.2. 1981.

skiego (30) wynika, że są to drobnoustroje zaliczane najczęściej do *Ps. aeruginosa*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *E. coli*, *Proteus sp.* i *Bacillus sp.* Liczba bakterii w nasieniu wykazuje wyraźne wahania i wydaje się w znacznej mierze zależeć od stopnia dbałości o utrzymanie buhajów oraz od higieny produkcji nasienia.

Liczba drobnoustrojów w nasieniu buhajów była oceniana przez wielu badaczy i najczęściej układała się w granicach od około 150 000 do 650 000/ml. Natomiast Marinov i wsp. (23) obliczali ją na 1,2 do $60,2 \times 10^6$ /ml. Na podstawie badania 565 ejakulatów od 320 buhajów Roslanowski i wsp. (36) określili, że w mililitrze nasienia znajdowało się średnio 684 455 bakterii. Badania własne (30) dotyczące nasienia 54 buhajów jednego zakładu unasiwienia mało dbającego o higienę wykazały, że w 1 ml nasienia znajdowało się średnio 563 799 bakterii. Wahania były w granicach od ejakulatów wolnych od zanieczyszczeń aż do zawierających 3×10^6 drobnoustrojów. Z informacji Voloskova (40) wynika, że w 1 ml nasienia stwierdzano od 10 do 170×10^6 bakterii i wiązano to w głównej mierze z warunkami utrzymania buhajów. Niektórzy autorzy wskazują jednak na znacznie niższy stopień zanieczyszczenia nasienia. Brown i wsp. (5) na podstawie badania ejakulatów od 80 buhajów w Nowej Zelandii podają, że średnia zawartość bakterii wynosiła 23 100 (wahania 20—543 000). Jeszcze mniej, bo tylko 4124/ml stwierdzili Kötsche i Leitz (20) na podstawie badania 2644 ejakulatów. Przy tak znacznych różnicach nasuwa się oczywiście pytanie, czy nie jest to następstwo ewentualnych różnic w stosowanych metodach.

Flora bakteryjna nasienia mrożonego

Jak wiadomo nasienie mrożone jest już rozcieńczone i zawiera dodatek antybiotyków. Aczkolwiek w założeniu idzie o likwidowanie ewentualnej obecności *Campylobacter foetus*, to oczywiście działanie bakteriostatyczne może dotyczyć sporej grupy różnych drobnoustrojów obecnych w nasieniu. Tak więc należy oczekiwać, że nasienie mrożone będzie zawierało mniej drobnoustrojów niż świeże.

Liczba danych dotycząca tego przedmiotu jest już stosunkowo obszerna. Na podstawie badania nasienia mrożonego pochodzącego z 1300 ejakulatów od 419 buhajów stwierdzono, że tylko 29% próbek zawierało mniej niż 10 000 bakterii/ml; 39% zawierało 10 000 do 100 000; 26% — 100 000 do 1 000 000; 6% powyżej jednego miliona (41). Następną informacją jest oparta na badaniu 2856 ejakulatów od 461 buhajów. Stwierdzono średnio 178 842 bakterie w 1 ml nasienia. Blisko 35% ejakulatów zawierało mniej niż 5000 bakterii/ml; 39% — 5000 do 100 000/ml; 15% — 100 000 do 500 000/ml; 11% — powyżej 500 000/ml, a jedynie 4% było

wolnych od zanieczyszczeń bakteryjnych (42). Znaczne różnice występowały pomiędzy zakładami, w których wyprodukowano nasienie. Na 48 zakładów unasiwienia z trzech pochodziło nasienie zawierające mniej niż 5000 bakterii/ml; z 15 — 5000 do 100 000/ml, a z jednego powyżej 500 000/ml. Wyniki badań własnych (31) wskazują na tendencję do obniżania się liczby zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia. Na podstawie badania 3619 próbek obliczono, że w 1 ml nasienia mrożonego znajdowało się średnio 60 000 drobnoustrojów.

Zestawiając wyniki badania bakteriologicznego nasienia pochodzącego z importu od 402 buhajów obliczono, że w 1 ml znajdowało się średnio 10 035 bakterii (47). Biorąc pod uwagę, że nasienie było importowane z 16 krajów, wielkość ta wydaje się być stosunkowo reprezentacyjna. Zwraca uwagę tendencja do zmniejszania się liczby zanieczyszczeń w ciągu ostatnich lat. W początkach lat siedemdziesiątych zanieczyszczenia były znacznie obfitsze i w trzech przypadkach przekraczały 1 mln/ml (1 520 000, 5 000 000 i 5 800 000). Natomiast od 1974 r. stopień zanieczyszczeń znacznie się obniżył. Kötsche i Leitz (20) określili, że nasienie mrożone produkowane w NRD zawiera średnio 398 bakterii/ml (wahania w granicach od 0 do 26 500).

Rozpatrując częstotliwość stwierdzania bakterii warunkowo-patogennych nasuwa się wniosek o utrzymującym się poziomie *Pseudomonas aeruginosa* (tab. 1). Natomiast w nasieniu importowanym *Ps. aeruginosa* stwierdzano w 3,2%; *Staphylococcus sp.* w 3,5%; *Streptococcus sp.* w 4,2% i *Corynebacterium sp.* w 1,5% badanych ejakulatów. Ogółem zanieczyszczenia warunkowo-patogennymi drobnoustrojami stwierdzono w 9,5% ejakulatów pochodzących z importu.

Celowe wydaje się również rozpatrzenie dostępnych informacji i poglądów na rolę warunkowo-patogennych bakterii w nasieniu, i ewentualnego ich wpływu na płodność zwierząt.

Pseudomonas aeruginosa budzi najwięcej zainteresowania. Drobnoustrój ten był stosunkowo często spotykany w worku napletkowym buhajów (23). Malicki i wsp. (22) wyosabniali go u 10,8%, a Parusov (34) nawet u 16,8% badanych buhajów. Informacje o stwierdzeniu *Ps. aeruginosa* w nasieniu są znacznie liczniejsze. Na podstawie badania 400 ejakulatów od buhajów nosicieli *Ps. aeruginosa* Kondrašov (19) ustalił, że w ejakulacie znajdowało się średnio 2500 ± 2100 bakterii tego szczepu. Z naszych badań wynika, że *Ps. aeruginosa* był spotykany w zależności od okresu w 9,4 do 11,7% badanych ejakulatów (tab. 1). W nasieniu 402 buhajów pochodzących z importu *Ps. aeruginosa* został wyodrębniony z 3,2% badanych ejakulatów (46). Zasadnicze różnice obserwowano w nasieniu pochodzącym z różnych

zakładów unasienniania, gdzie odsetek ejakulatów zakażonych *Ps. aeruginosa* wahał się od 3 do 42% (43), co może wskazywać na występowanie lokalnych zakażeń obejmujących całe grupy zwierząt.

Obecność *Ps. aeruginosa* była stwierdzona również w narządach rodnych niezacielających się krów (16). Są też przytaczane wyniki eksperymentów wskazujących na możliwość wywoływania ropnych stanów zapalnych pochwy, szyjki i macicy po inseminacji nasieniem zakażonym *Ps. aeruginosa* (9). O wystąpieniu zaburzeń płodności nawet 30—40% zwierząt inseminowanych nasieniem zawierającym *Ps. aeruginosa* piszą Michajlov i Žudilin (24). Tymczasem Kondrašov (19) uważa, że ryzyko infekcji może wystąpić dopiero wtedy, gdy zawartość *Ps. aeruginosa* w 1 ml nasienia przekroczy 5000 bakterii. Ten sam autor sądzi, że drobnoustrój ten nie stanowi poważniejszego zagrożenia. Na dowód przytacza wyniki 46 148 unasiennień wykonanych nasieniem 35 buhajów nosicieli *Ps. aeruginosa*, gdzie cielność wynosiła 55,4%. Natomiast z 80 360 unasiennień przeprowadzonych nasieniem pochodzącym od 65 buhajów wolnych od tego zarazka uzyskano 53,9% cielności. Dalej Kondrašov (19) przytacza też wyniki eksperymentu, w którym unasienniano po 17 jałówek nasieniem zawierającym 5000 i 5 000 000 bakterii *Ps. aeruginosa*, i gdzie w drugiej grupie było mniej o dwie cielne jałówki.

Równocześnie jednak występuje wyraźny nacisk idący ze strony medycyny ludzkiej w kierunku określenia właściwości patogennych tego zarazka. Wydaje się to wynikać z ustalającego się poglądu na rosnące znaczenie *Ps. aeruginosa* jako czynnika wywołującego zakażenia wewnątrzszpitalne oraz stany zapalne przy objawach immunosupresji. Wzrost roli *Ps. aeruginosa* jako wywoławca tych zapaleń jest tłumaczony postępującą zmianą układu ekologicznego mikroflory ludzi i zwierząt w następstwie stosowania antybiotyków. Wychodząc z tego założenia, Furowicz i wsp. (8) przeprowadzili identyfikację biochemiczną 101 szczepów *Ps. aeruginosa* wyhodowanych z nasienia buhajów. Z tej liczby 36 szczepów produkowało hemolizynę, koagulazę i fibrynolizynę, 96 fibrynolizynę, 94 hemolizynę, 72 lecytynazę i 50 koagulazę. Właściwości te wskazują wyraźnie na patogenne przymioty *Ps. aeruginosa*.

Corynebacterium pyogenes również występuje w jamie worka napletkowego buhajów. Malicki i wsp. (22) stwierdzili obecność tej bakterii u 9,6% badanych buhajów. W nasieniu mrożonym był spotykany znacznie rzadziej, bo tylko w 0,2% do 2,0% badanych ejakulatów wykazano obecność tego zarazka (tab. 1). W nasieniu pochodzącym z importu *C. pyogenes* był stwierdzony w 1,5% ejakulatów (47). Rola tego zarazka w patogenezie stanów chorobowych

narządów płciowych jest niejasna. Co prawda Boryczko i Furowicz (4) wywołali zapalenie jąder i gruczołów pęcherzykowych u buhaja podając miejscowo hodowlę *C. pyogenes*, ale sekcyjnie nie stwierdzono jego obecności w miejscach objętych stanem zapalnym.

Tab. 1. Częstość izolowania z nasienia drobnoustrojów warunkowo-patogennych. Wierzbowski i wsp. Zestawienie wyników prowadzonych w latach 1970—1978

Rok	1970-1973	1974-1975	1976	1977	1978
Liczba badanych ejakulatów	1300	2856	964	1732	1887
<i>Ps. aeruginosa</i>	11,7	9,4	7,3	10,0	11,3
<i>Streptococcus</i> sp.	2,0	1,2	16,3	15,0	10,0
<i>Staphylococcus</i> sp.	1,4	0,6	9,1	3,7	2,8
<i>Corynebacterium</i> sp.	0,3	0,2	0,5	2,0	0,0
<i>E. coli</i>	*)	*)	21,0	20,0	21,4

Objaśnienie: * — nie rejestrowano.

W próbie uchwycenia wpływu *C. pyogenes* na nasienie Kazda (17) stwierdził, że dodatek hodowli tego zarazka obniża ruchliwość nasienia. *C. pyogenes* był też łączony wielokrotnie z zaburzeniami płodności u samic (6, 10, 11, 16), jak też i zdecydowanie odmawiano mu patogennej roli (12). Eksperymentalnie udało się wywołać stany zapalne dróg rodnych jedynie, gdy *C. pyogenes* był wprowadzany w fazie ciała żółtego (35).

Streptococcus species obejmuje bardzo liczną grupę bakterii spotykanych często w zewnętrznych odcinkach narządów płciowych bydła. Z worka napletkowego buhajów był izolowany w 6% badanych zwierząt (22). *Streptococcus β-haemoliticus* był stwierdzony w nasieniu 4,4% buhajów w Danii (2), a w jednym zakładzie unasienniania w Polsce aż 39% badanych ejakulatów wykazywało obecność tego drobnoustroju (31). U buhajów nosicieli nie stwierdzono jednak zmian chorobowych ani też obniżenia płodności. W nasieniu mrożonym był spotykany z różną częstotliwością, wahającą się okresowo od 1,2 do 16,3% (tab. 1). W nasieniu pochodzącym z importu drobnoustroje z rodzaju *Streptococcus* sp. były stwierdzone w 4,2% badanych ejakulatów (47). Streptokoki były również bardzo często izolowane z narządów rozrodczych krów i jałówek, jednak Hubrig i Wohanka (13) nie stwierdzili zależności między ich obecnością a zaburzeniami płodności, a także nie udało się wywołać doświadczalnie infekcji dróg rodnych.

Staphylococcus species jest również często wyosabniany z nasienia buhaja. Z nasienia mrożonego był izolowany w zależności od okresu badań z 0,6 do 9,1% badanych próbek (tab. 1). Z nasienia importowanego wyosobniono *Staphylococcus* z 3,5% ejakulatów (47). Izolowane szczepy były najczęściej zaliczane do *Staphylococcus epidermidis*, a stosunkowo rzadko do *Staphylococcus aureus*. Natomiast *Staphylococcus saprophyticus* uważany za patogeny w ludzkich drogach moczowych został przez Nowakowskiego i wsp. (28) wyosobniony w 1980 r. po raz pierwszy z nasienia buhaja.

Escherichia coli jest drobnoustrojem występującym tak powszechnie, że jego obecność w narządach płciowych czy nasieniu buhaja należałoby uważać za zjawisko normalne. Jest oczywiście często spotykany jako składnik flory worka napletkowego (23). Przez Malickiego i wsp. (22) był wyosobniony z napletka u 2,4% badanych buhajów, a Blom i Dam (3) stwierdzili jego obecność w nasieniu 20% buhajów w Danii. W badaniach własnych nasienia mrożonego został stwierdzony średnio w 21% badanych ejakulatów (31). Mimo swej powszechności występowania i opinii nieszkodliwego saprofita wymaga traktowania z pewną rezerwą. Wskazują na to obserwacje Bloma i Dama (3) dotyczące zapalenia dodatkowych gruczołów płciowych u buhaja na tle infekcji *E. coli*, a także spostrzeżenia Thala i Bane (37) dotyczące enzoptycznego wystąpienia zapalenia pochwy u krów, prawdopodobnie na skutek działania toksyn wydzielanych przez *E. coli*, stwierdzone u buhajów używanych do krycia tych zwierząt. Jest znamienne, że prawie 40% szczepów *E. coli* wyosobnionych z nasienia posiadało właściwości hemolityczne, a tym samym kwalifikowało się do grupy szczepów o potencjalnych właściwościach chorobotwórczych (32).

Interpretacja obecności warunkowo-patogennych i wszechobecnych drobnoustrojów w nasieniu

Nie ma do tej pory możliwości dania jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, jakie ma znaczenie obecność w nasieniu drobnoustrojów w postaci zanieczyszczeń czy też szczepów warunkowo patogennych. Jedynie prostym przypadkiem wydaje się być rozpoznanie stanu zapalnego w narządach płciowych, połączone z regularnym i obfitym wydzielaniem warunkowo-patogennych drobnoustrojów w nasieniu. Tymczasem w ogromnej większości przypadków ma miejsce stwierdzenie obecności warunkowo-chorobotwórczych drobnoustrojów w nasieniu przy zachowanej płodności. Oczywiście rozstrzygająca musi być określona płodność takiego nasienia czy buhaja, a tymczasem nieliczne eksperymenty oparte zwykle też na

skromnym liczbowo materialnie nie pozwalają na formowanie opinii, a ponadto brakuje wskazań z szerokiej praktyki inseminacyjnej, które mówiłyby o niższej płodności nasienia zawierającego określone ilości zanieczyszczeń bakteryjnych lub warunkowo-patogennych drobnoustrojów. Wydaje się, że tylko niektóre obserwacje są oparte na liczniejszym materiale. Debruyne (7), porównując wyniki unasinienia przy użyciu nasienia zawierającego po pobraniu średnio 322 750 i 4 826 125 zanieczyszczających bakterii w 1 ml, stwierdził niepowtarzalność w 74,5% po zainseminowaniu $1 \times 23 174$ krów nasieniem o niższej zawartości bakterii, zaś w 73,6% po unasieniu 2199 sztuk nasieniem o wyższej zawartości bakterii. Należy zaznaczyć, że było to nasienie świeże, używane w ciągu 48 godzin.

Podobne obserwacje przeprowadził Króliński (21), który na podstawie 2557 pierwszych unasinień stwierdził tendencję do obniżania się niepowtarzalności w miarę wzrostu liczby bakterii w nasieniu, ale różnice nie były statystycznie istotne. I tak po nasieniu zawierającym do 50 000 bakterii/ml niepowtarzalność wynosiła 72,7%; do 200 000/ml — 76,2%; do 400 000/ml — 72,3%; do 1 mln — 69,6% i powyżej miliona 68,3%. Kondrašov (19), który zajmował się szczególnie *Ps. aeruginosa*, nie znajdował różnic zacielen przy użyciu nasienia zakażonego lub nie tym drobnoustrojem. Jednak Ostaszko (33) podał 500 drobnoustrojów w 1 ml nasienia mrożonego jako granicę, po przekroczeniu której płodność obniża się poniżej 66%. W propozycjach ISO (14) dotyczących wymagań przy międzynarodowym obrocie nasieniem określono 5000/ml jako dopuszczalną wielkość. Stała Komisja Rolna RWPG określiła w 1977 r., że nasienie będące przedmiotem obrotu międzynarodowego nie może zawierać więcej jak 500 bakterii w jednej porcji. Brakuje jednak dotychczas dowodu wskazującego na istnienie zależności między liczbą bakterii zanieczyszczających nasienie i obecnością w nasieniu bakterii określanych jako warunkowo-patogenne a określoną płodnością tego nasienia. Nadal też można stawiać pytanie, czy, i na jakiej drodze drobnoustroje mogą wywierać swój szkodliwy wpływ na nasienie. Stosunkowo proste doświadczenia Kazdy (17) oraz Wierzbowskiego i wsp. (45) nad wpływem dodawanych hodowli czy przesączów bakteryjnych na ruchliwość i przeżywanie nasienia zostały rozszerzone o podobne badania, ale przy użyciu czystych toksyn (26). Jednak wyniki tych badań nie są jednoznaczne i zagadnienie pozostaje nadal otwarte.

Równocześnie jednak w obrębie wszystkich rodzajów bakterii wyosobnionych z nasienia, a zaliczanych do warunkowo-patogennych, wyizolowano w przeważającej większości szczepy charakteryzujące się wysoką aktywnością biochemiczną i toksyczną, wskazującą na ich po-

tencjalne właściwości chorobotwórcze (27, 28, 29). Wykazano też hamujący wpływ toksyn na rozwój zarodków mysich *in vitro* (45). Podobnie też stwierdzono ponad wszelką wątpliwość stosunkowo wysoką wirulencję szczepów *Ps. aeruginosa* wyosobnionych z nasienia (27, 44). W medycynie ludzkiej pogląd na wielce szkodliwą rolę tej bakterii jako czynnika odpowiedzialnego za wywołanie lokalnych procesów zapalnych w stanach obniżonej odporności można, wydaje się, uważać za ugruntowany.

Tak więc brakuje dostatecznych dowodów wskazujących na zależność pomiędzy obecnością w nasieniu tzw. warunkowo-patogennych lub zanieczyszczających drobnoustrojów a płodnością tego nasienia. Równocześnie jednak została już zgromadzona stosunkowo znaczna liczba obserwacji stanowiących dowód pośredni na istnienie ryzyka związanego z użytkowaniem nasienia zakażonego takimi drobnoustrojami. W rezultacie został przyjęty obowiązujący obecnie w praktyce inseminacyjnej pogląd, aby dążyć do posługiwania się nasieniem zawierającym jak najmniej zanieczyszczeń, albo nawet jałowym. Stopień zanieczyszczenia nasienia jest tu traktowany jako wykładnik poziomu higieny produkcji nasienia w danym zakładzie nasieniania. Wobec obawy przed ryzykiem i przed nieznanym niebezpieczeństwem, jakie może się wiązać z użytkowaniem nasienia zakażonego jest to element nabierający w międzynarodowym obrocie nasieniem szczególnego znaczenia.

Wnioski

1. Warunkowo-patogenne szczepy bakteryjne, występujące w narządach płciowych bydła, mogą być uważane za przyczynę sporadycznie stwierdzanych lokalnych stanów zapalnych.

2. Pomimo doświadczeń wskazujących na niekorzystny wpływ warunkowo-patogennych bakterii na niektóre właściwości nasienia brak jest dostatecznych dowodów wskazujących na obniżenie płodności takiego nasienia.

3. Brakuje dowodów na określenie związku pomiędzy liczbą bakterii w nasieniu a płodnością tego nasienia.

4. Stopień zanieczyszczenia nasienia jest jednak wykładnikiem higieny produkcji nasienia, stąd też musi być brany pod uwagę jako wskaźnik dbałości o warunki sanitarne zakładu, w którym nasienie zostało wyprodukowane.

5. Właściwości patogenne przeważającej większości izolowanych z nasienia szczepów bakteryjnych uważanych za warunkowo-chorobotwórcze zostały dowiedzione ponad wszelką wątpliwość. Tym samym szczepom bakteryjnym przypisuje się obecnie w medycynie ludzkiej rosnące znaczenie w patogenezie coraz większej liczby schorzeń. Wskazuje to na konieczność kontynuowania prac mających na celu określenie roli tych drobnoustrojów w

rozrodzie zwierząt. Ejakulatory wskazujące obecność w czystej kulturze przy średnim i silnym wzroście *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *epidermidis* i *saprophyticus*, *Corynebacterium pyogens*, *Escherichia coli hemolitica* oraz *Streptococcus haemoliticus* nie powinny być dopuszczone do międzynarodowego obrotu.

6. W obrocie międzynarodowym nasieniem mrożonym nie można wprowadzać jako powszechnie obowiązujących standardów dotyczących liczby zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia, gdyż nie ma dostatecznych dowodów wskazujących na związek tych zanieczyszczeń z jakością nasienia i płodnością. W dobrze pojętym interesie producenta nasienia leży dbałość o jak najniższy stopień zanieczyszczeń, gdyż stanowi to wykładnik poziomu higieny produkcji nasienia.

7. Rygorystyczne wymagania należy pozostawić zainteresowanym stronom do bezpośrednich ustaleń.

* — Autor składa podziękowania dr W. Nowakowskiemu z ZHW Katowice za pomoc przy opracowaniu tego artykułu.

Piśmiennictwo

1. Bane A., Thal E., Bakos K.: VIII Nord. Veterinarmötet D, rap. 23, 1953.
2. Blom E., Römer O.: Proc. 4th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 516, 1961.
3. Blom E., Dam A.: Proc. 5th Int. Congress Anim. Reprod. 5, 253, 1964.
4. Boryczko Z., Furowicz A.: Medycyna Wet. 27, 423, 1971.
5. Brown V. G., Schollum L. M., Jarvis B. D. W.: N. agric. Rev. 17, 431, 1974.
6. Cembrowicz H. J.: Proc. 2nd. Int. Congress Physiol. Pathol. Anim. Reprod. 2, 121, 1952.
7. Debruyne R.: Vlaams diergeneesk. Tijdschr. 30, 221, 1961.
8. Furowicz A., Nowakowski W., Wierzbowski S.: Proc. 3rd Int. Symp. Pseudomonas species, Poznań 1977, s. 43.
9. Getty S. M., Ellis D. J.: J. Am. vet. med. Ass. 151, 1683, 1967.
10. Griffin J. F. T., Hartigan P. J., Nunn W. R.: Theriogenol. 1, 91, 1971.
11. Griffin J. F. T., Hartigan P. J., Nunn W. R.: Theriogenol. 1, 107, 1971.
12. Hubrig Th., Wohanka K.: Proc. 4th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 492, 1961.
13. Hubrig Th., Wohanka K.: Proc. 4th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 521, 1961.
14. Int. Organization for Standardization (ISO). Frozen semen of breeding bulls. The fifth draft — ISO proposal, 1976.
15. Jaśkowski L.: Medycyna Wet. 21, 552, 1965.
16. Kampelmacher E. H.: Proc. 2nd Int. Congress Physiol. Pathol. Anim. Reprod. 2, 188, 1952.
17. Kazda J.: Vet. Med. Praga 8, 325, 1963.
18. Kazda J.: Vet. Med. Praga 8, 317, 1963.
19. Kondrašov B.: Moloč. mías. skotovod. 11, 32, 1975.
20. Krátsche W., Leitz W.: Mh. Vet.-Med. 35, 417, 1980.
21. Krátsche J.: Medycyna Wet. 34, 47, 1978.
22. Malicki K., Markowski A., Happe R.: Roczn. Nauk roln. 70-F-1-4, 353, 1960.
23. Marinov P., Balchov M., Zagorski D.: Vet. Sci. Sofia 3, 177, 1968.
24. Michailov N. N., Zudin V. A.: Veterinarija, Moskwa 6, 88, 1975.
25. Nowakowski W., Wierzbowski S.: Medycyna Wet. 34, 488, 1978.
26. Nowakowski W., Bulanda M., Möllby R., Hryniewicz W., Heczko P., Jellaszewicz J. (ed): Staphylococci and Staphylococcal Infection. Zbl. Bakt. Suppl. 10, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart—New York, 1981.
27. Nowakowski W., Wierzbowski S., Bulanda M., Heczko P., Furowicz A.: Medycyna Wet. 36, 228, 1980.
28. Nowakowski W., Wierzbowski S., Heczko P., Bulanda M., Furowicz A.: Medycyna Wet. 36, 362, 1980.
29. Nowakowski W., Wierzbowski S., Furowicz A., Heczko P.: Medycyna Wet. 36, 117, 1980.
30. Nowakowski W., Wierzbowski S.: Medycyna Wet. (w druku).
31. Nowakowski W., Wierzbowski S.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. (w druku).
32. Nowakowski W.: dane nie publikowane.
33. Ostaszko F. J.: Proc. 8th Int. Congress Anim. Reprod. 5, 1235, 1976.

34. Parusov W. P.: Veterinarija, Moskwa 11, 77, 1973.
 35. Romel W.: Proc. 4th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 503, 1961.
 36. Roslanowski K., Łosiński K., Michałkiewicz M.: Medycyna Wet. 33, 33, 1977.
 37. Thal E., Bane A.: 16th Int. Vet. Congress, Madrid, May 21, 1959.
 38. Vernavski A. N.: Životnovodstvo 10, 66, 1963.
 39. Vernavski A. N.: Proc. 5th Int. Congress Anim. Reprod. 6, 187, 1964.
 40. Voloskov P. A.: Veterinarija, Moskwa 11, 38, 1953.
 41. Wierzbowski S., Kruczek G., Gądkiewicz A., Wierżchoś E.: Proc. Danish — Polish Conf. Actual Biol. Hyg. Problems of A.I. in Cattle. Pawłowice 1973, s. 60.
 42. Wierzbowski S., Szmyd D.: Medycyna Wet. 32, 339, 1976.
 43. Wierzbowski S., Nowakowski W., Furowicz A.: Proc. 3rd Int. Symp. Pseudomonas species. Poznań 1977, s. 214.
 44. Wierzbowski S., Nowakowski W., Furowicz A., Heczko P.: Proc. 9th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 221, 1980.
 45. Wierzbowski S., Nowakowski W., Furowicz A., Heczko P.: Proc. 9th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 322, 1980.
 46. Wierzbowski S., Nowakowski W., Smorąg Z., Katska L.: Proc. 9th Int. Congress Anim. Reprod. 3, 443, 1980.
 47. Wierzbowski S.: dane nie publikowane.

Adres autora: prof. dr Stefan Wierzbowski, 32-083 Ballice k/Krakowa 1/5.

ADAM ZIĘCIK

Rola macicy i zarodka w kontroli funkcji lutealnej jajnika

Instytut Fizjologii i Biochemii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR-T, 10-718 Olsztyn-Kortowo

Utrzymywanie ciąży u ssaków jest warunkowane przedłużeniem funkcjonowania aktywnego ciała żółtego. Wydzielany przez ciało żółte progesteron jest bowiem niezbędny do podtrzymania receptywności *endometrium* i ograniczenia skurczów *miometrium*. Rozwój i podtrzymanie funkcji ciała żółtego odbywa się pod wpływem hormonów luteotropowych, u większości gatunków — LH.

U zwierząt domowych ciało żółte ulega regresji w końcu 16—21-dniowego cyklu płciowego w efekcie działania luteolizyny, wytwarzanej przez macicę, którą u owcy najprawdopodobniej jest prostaglandyna $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$), wytwarzana w macicy i transportowana do jajnika na zasadzie krążenia przeciwprądowego. Do tej pory nie ustalono, czy ten sam związek jest naturalną luteolizyną u krowy i świni. Obecność żywego zarodka u owcy, krowy oraz przynajmniej 4 zarodków u świni (41) zapobiega cyklicznej regresji ciała żółtego i jest to zasadniczy warunek stabilizujący ciążę u tych gatunków. W 1969 r. Roger Short nazwał to zjawisko „matczym rozpoznaniem ciąży” (49) ang. — the maternal recognition of pregnancy (tab. 1). Z przedstawionej tabeli wynika, że już przed implantacją blastocysta wytwarza jakiś czynnik (względnie czynniki), który działa bezpośrednio lub pośrednio na jajnik, podtrzymując funkcję ciała żółtego.

U naczelnych takim czynnikiem luteotropowym pochodzenia zarodkowego, odpowiedzialnym za przedłużenie funkcji lutealnej, jest gonadotropina kosmówkowa (CG) — hormon podobny w strukturze i działaniu do LH. Ludzki płód produkuje CG w tym samym czasie, kiedy rozpoczyna się implantacja tzn. w 6 dni po owulacji. U kobiet można wykryć CG we krwi obwodowej już pomiędzy 6—12 dniem po owulacji (5, 44, 47) przy użyciu specyficznej metody radioimmunologicznej. Aktywna lub pasywna immunizacja przeciwko CG powoduje poronienie u szeregu naczelnych (20, 36). Gonadotropina kosmówkowa, u ssaków naczel-

nych, może więc być uważana za główny czynnik o działaniu luteotropowym pochodzenia embrionalnego. Znacznie mniej wiemy natomiast o czynnikach kontrolujących cykliczność zmian zachodzących w jajnikach podczas cyklu menstruacyjnego u tych zwierząt. Ponieważ histerektomia nie przerywa cyklicznych, fizjologicznych procesów zachodzących w jajnikach, można przypuszczać, że miejscem wytwarzania $PGF_2\alpha$ u naczelnych są jajniki (25).

Ze względu na różnorodność mechanizmów przeciwstawiających się regresji ciała żółtego w okresie wczesnej ciąży u zwierząt gospodarskich, mechanizmy te zostaną omówione dla każdego gatunku oddzielnie.

Owca. Moor i Rowson (34) wykazali, że obecność zarodka w macicy owiec w 13 dniu *post coitum*, czyli w 4—5 dni przed rozpoczęciem zagnieżdżenia zapobiega luteolizie. Homogenaty sporządzone z 14—15 dniowych zarodków, po podaniu ich do światła macicy, były zdolne do przedłużenia funkcji lutealnej. W homogenatach tych, przy użyciu metod radioimmunologicznych i radioreceptorowych, nie stwierdzono jednak czynników luteotropowych, podobnych do LH czy prolaktyny (12), co nie potwierdziło wcześniejszych sugestii o istnieniu takich substancji. Na podstawie pierwszych prac Thorbourna i wsp. (54) oraz Barcikowskiego i wsp. (2) sądzono, że zarodek redukuje syntezę względnie sekrecję $PGF_2\alpha$ przez oddziaływanie na *endometrium* macicy. Jednakże szereg autorów (7, 27, 37, 40) nie stwierdziło różnic w zawartości $PGF_2\alpha$ w żyłce i tętnicy jajnikowej u „cyklicznych” i ciężarnych owiec w 13—17 dniu *po rui*, a Wilson i wsp. (53) oznaczyli wręcz wyższą koncentrację $PGF_2\alpha$ w tym okresie u owiec ciężarnych. Na skutek tych sprzecznych rezultatów Nett i wsp. (37) sugerowali, że nie tyle średnia zawartość $PGF_2\alpha$ w krążeniu maciczno-jajnikowym, co częstotliwość pojawiających się wysokich stężeń tej prostaglandyny może być istotna w procesie luteolizy ciała żółtego.

W obszernej pracy Ellinwood i wsp. (13) wykazali, że obecność zarodka u owcy pobudza en-