

food caused a statistically significant increase of the number of leukocytes and the content of haemoglobin in 5 months old animals.

In the second series of the experiments it was noted but statistically unevidences, increase of the level of albumins, alpha amino nitrogen, kreatynine, cholesterol, activity of transaminases, and statistically significant increase of the level of urea in

plasma of the experimental foxes. Feeding of foxes with preserved food may cause defined gross and microscopic lesions in liver, intestines and kidneys, of a little higher intensity than these in foxes on a standard fodder. A trade value of hides of polecat-ferrets and foxes from the experimental group was almost the same as the control animals.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

STEFAN WIERZBOWSKI, WIESŁAW NOWAKOWSKI*, ELŻBIETA WAYDA, STANISŁAW KUŹNIAK

Relacje między poziomem antybiotyków a zanieczyszczeniami bakteryjnymi mrożonego nasienia buhajów**)

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

* Wojewódzki Zakład Weterynarii, 40-585 Katowice, ul. Brynowska 27

Dodatek antybiotyków do nasienia znalazł zastosowanie w praktyce inseminacyjnej od lat pięćdziesiątych. Przekonanie o celowości dodawania najczęściej penicyliny i streptomycyny, a czasem i sulfonamidów, było oparte na wynikach doświadczeń Salisbury'ego i Knodta (7), Foote i Brattona (4), Almquista (3) i wielu innych. Wszyscy wykazywali istotny wzrost niepowlarzalności rui wzgl. cielności po nasieniu z dodatkiem antybiotyków. Poprawa ta zaznaczała się jednak przede wszystkim w przypadku buhajów o niskiej płodności. Adler i Rasbech (2), a zwłaszcza Willett i Ohms (11) wykazali też wzrost odsetka zacielen po nasieniu pochodzącym od buhajów zakaźnych *C. foetus*, gdy rozcieńczalnik zawierał antybiotyki i sulfonamid. Były też prace stwierdzające, że poprawy nie rejestrowano (1, 5). Nie zostało jednak nigdy wyjaśnione, jaki był mechanizm tego zjawiska, ale spodziewany wzrost zapłodnialności był dostatecznie obiecujący, aby dodatek antybiotyków do nasienia stał się obowiązujący w składzie każdego rozcieńczalnika.

Przejsięcie z konserwacji w stanie płynnym na zamrażanie nasienia nie wpłynęło na praktykę dodawania antybiotyków, która jest nadal stosowana. Obowiązuje obecnie pogląd, że dodatek ten ma na celu hamowanie rozwoju drobnoustrojów zarówno patogennych (*C. foetus*), jak i warunkowo-patogennych, które dostają się do nasienia jeszcze w drogach wyprowadzających, czy też w toku produkcji. Dodatek antybiotyków i ewent. sulfonamidów ma zarówno zabezpieczyć samicę przed infekcją za pośrednictwem zakażonego nasienia, jak też zapobiegać ewent. ujemnym wpływom obecności flory bakteryjnej w nasieniu, na płodność tego nasienia.

Literatura dotycząca bakteriologii nasienia jest już dosyć obszerna (przeglądy podali Jaś-

kowski (6) i Wierzbowski (10)), ale jak do tej pory, ściślejszy związek między obecnością określonych warunkowo-patogennych i wszechobecnych drobnoustrojów a płodnością nasienia nie został wykazany. Tymczasem konserwowane nasienia, mimo dodatku antybiotyków wykazuje różnorodną florę bakteryjną. Liczba stwierdzonych drobnoustrojów w poszczególnych próbkach wykazuje znaczne wahania (8, 9). Obserwacje te skłoniły nas do podjęcia próby określenia, czy te ilościowe wahania pozostają w relacji do faktycznej zawartości penicyliny i streptomycyny w rozcieńczonym nasieniu. Przy przestrzeganiu obowiązującej instrukcji zawartość antybiotyków winna się mieścić w granicach od 428 do 857 j.m. penicyliny oraz 428 do 857 µg streptomycyny w 1 ml rozcieńzonego nasienia, co wynika ze stosunku, w jakim nasienie zostało rozcieńczone, rozcieńczalnikiem zawierającym 100 000 j.m. penicyliny, oraz 0,1 g streptomycyny w 100 ml rozcieńczalnika.

Material i metody

Oznaczenia zawartości penicyliny przeprowadzono na mrożonym nasieniu, pochodzącym z 326 ejakulatów, otrzymanych z 16 SHiUZ. Przy oznaczaniu ilości penicyliny stosowano zmodyfikowaną met. cylinderkowo-płytkową, zastępując cylinderki wgłębieniami w agarze. W przygotowanych odpowiednio płytkach Petriego (2 warstwy pożywek, z których górna zawierała *inoculum* sporządzone ze szczepu testowego — *Micrococcus luteus* ATCC 9341), wycinano otwory, w które wkraplano na przemian rozcieńczone nasienie, w którym należało oznaczyć ilość penicyliny, albo standardowe rozcieńczenia penicyliny. Następnie porównywano strefy zahamowania wzrostu badanego nasienia ze strefami, które powstały przy użyciu standardowych rozcieńczeń penicyliny. Wynik odczytywano z krzywej standardowej stref zahamowania wzrostu.

Oznaczenia zawartości streptomycyny przeprowadzono na mrożonym nasieniu, pochodzącym z 340 ejakulatów, otrzymanych z 17 SHiUZ tą samą zmodyfikowaną metodą cylinderkowo-płytkową, którą posługiwano się przy oznaczaniu penicyliny, używając szczepu testowego — *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

***) Praca wykonana w ramach podproblemu resort. nr 09.5 koordynowanego przez Instytut Zootechniki.

Tab. 1. Zawartość penicyliny w badanych ejakulatach

Jedn. penicyl. w ml nasienia	0	do 250	do 500	do 750	do 1000	do 1250	od 1250
Liczba badanych ejakulatów	15	93	75	74	19	14	36
% badanych ejakulatów	4,6	28,5	23,0	22,6	5,8	4,3	11,0

Objaśnienie: wg instrukcji w 1 ml nasienia winno być w zależności od stopnia rozcieńczenia 428 do 857 j.m. penicyliny.

Wyniki i omówienie

Zawartość penicyliny w badanych próbkach nasienia wahała się od 0,5 do 3733 jednostek. Nie stwierdzono dodatku penicyliny w 15 ejakulatach, 93 zawierało poniżej 250 j.m., 75 od 250 do 500 j.m., 74 między 500 a 750 j.m. i 19 zawierało 750 do 1000 j.m. Powyżej 1000 j.m. i aż do 3733 j.m. penicyliny stwierdzono jeszcze łącznie w 50 ejakulatach (tab. 1).

Nie stwierdzono istnienia zależności pomiędzy ilością penicyliny w nasieniu a liczbą zanieczyszczeń bakteryjnych. Pod uwagę brano tu zarówno ejakulaty, jak i zakłady unasienniania, w których nasienie zostało wyprodukowane. Można było jedynie stwierdzić, że niezależnie od wielkości dodatku penicyliny, każdy zakład unasienniania wyprodukował pewną ilość nasienia mrożonego, w którym nie było zanieczyszczeń bakteryjnych (tab. 2). Równocześnie można też było stwierdzić, że nasienie produkowane w zakładach oznaczonych numerami 1, 2 i 3 wykazywało stosunkowo niski stopień zanieczyszczenia. Natomiast nasienie pochodzące z zakładów oznaczonych numerami od 13 do 16 wykazywało stopień zanieczyszczenia znacznie przekraczający średnie zanieczyszczeń bakteryjnych w pozostałych zakładach. Nasuwa się domniemanie, że dodatek penicyliny ma tylko ograniczony wpływ na liczbę bakterii zanieczyszczających nasienie, natomiast istotne znaczenie wydaje się mieć właściwy poziom higieny produkcji nasienia.

Zestawiając z kolei ejakulaty pod względem wielkości dodatku penicyliny okazało się, że w każdej klasie określonego poziomu antybiotyku, poczynając od ejakulatów bez dodatku tego antybiotyku, aż do zawierających powyżej 1500 j.m. w 1 ml, znajduje się pewna liczba ejakulatów, w których nie wykazano obecności zanieczyszczeń bakteryjnych. Stanowiły one najczęściej ok. 50% ogólnej liczby przebadanych ejakulatów. Analizując wyniki badań, można się doszukać pewnej tendencji zmniejszania średniej ilości zanieczyszczeń w miarę jak wzrasta dodatek penicyliny. Tym niemniej w prawie każdej klasie wielkości dodatku antybiotyku były ejakulaty nie wykazujące zanieczyszczeń oraz takie, gdzie liczba tych zanieczyszczeń była zbliżona, lub przekraczała 1 000 000 w 1 ml rozcieńczonego nasienia.

Zawartość streptomycyny w badanych 340 ejakulatach wahała się w granicach od 158 do 1000 µg/1 ml nasienia. Natomiast 32,3% eja-

Tab. 2. Stopień zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia mrożonego w zestawieniu z zawartą w nim penicyliną

Kolejny numer SHiUZ	Liczba badanych ejakulatów	Średnia zawartość penicyl. w 1 ml nasienia (j.m.)	Średni stopień zanieczyszczenia bakt. 1 ml nas.
1	20	1 680	105
2	19	737	392
3	18	445	400
4	20	98	1 495
5	28	778	1 946
6	20	324	2 000
7	18	557	2 261
8	20	645	14 200
9	20	610	14 400
10	20	467	19 500
11	20	497	29 725
12	22	14	62 863
13	21	238	109 415
14	20	345	185 120
15	20	799	186 440
16	20	564	372 191

kulatów było bez dodatku streptomycyny (tab. 3). Próba zestawienia ejakulatów wg zakładów unasienniania, w których zostały wyprodukowane, pod względem zawartości streptomycyny w porównaniu z ilością zanieczyszczeń bakteryjnych, kształtowała się podobnie jak w obserwacjach poczynionych w badaniach nad wpływem penicyliny (tab. 4). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w nasieniu pochodzącym z dwu zakładów unasienniania nie stwierdzono dodatku streptomycyny, jednak podobnie jak w przypadku penicyliny ok. 50% ejakulatów pochodzących z tych zakładów nie wykazywało obecności zanieczyszczeń bakteryjnych. Prawie wszystkie obserwacje poczynione w zakresie badań dot. wpływu streptomycyny w nasieniu na stopień zanieczyszczenia bakteryjnego pokrywają się z podobnymi stwierdzeniami, jakie poczyniono analizując wpływ dodatku penicyliny do nasienia mrożonego.

Przedstawione wyniki badań, dotyczące obecności drobnoustrojów w nasieniu mrożonym mogą wskazywać na brak skutecznego działania antybiotyków (penicyliny i streptomycyny) w likwidowaniu flory bakteryjnej nasienia buhajów. W świetle podanych wyników należałoby się zastanowić, dlaczego mimo dodatku antybiotyków obserwuje się tak duże wahania w ilości zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia mrożonego.

Tab. 3. Zawartość streptomycyny w badanych ejakulatach

µg strept. w ml nasienia	0	do 450	do 900	od 900
Liczba badanych ejakulatów	110	115	113	2
% badanych ejakulatów	32,35	33,82	33,25	0,58

Objaśnienie: wg instrukcji w 1 ml nasienia winno być w zależności od stopnia rozcieńczenia 428 do 857 µg streptomycyny.

Tab. 4. Stopień zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia mrożonego w zestawieniu z zawartą w nim streptomycyną

Numer SHIUZ	Liczba badanych ejakulatów	Srednia zawartość strept. w 1 ml nasienia (µg)	Sredni stopień zanieczyszczenia bakt. 1 ml nas.
2	20	460.8	200
12	20	37.5	200
5	20	536.9	2 480
17	20	42.3	2 700
13	20	0	2 940
4	20	510.8	4 150
3	20	283.8	15 830
7	20	426.2	29 700
9	20	310.7	54 760
15	20	215.2	56 700
1	20	323.2	61 120
10	20	219.1	71 100
14	20	458.9	72 270
11	20	406	146 100
16	20	344.4	153 400
8	20	0	155 530
6	20	216.9	248 330

W konserwacji nasienia zwykle stosuje się penicylinę prokainową o silnym działaniu na drobnoustroje Gram-dodatnie i o stosunkowo małej toksyczności. Mechanizm bakteriobójczego działania penicylin polega na hamowaniu biosyntezy ściany komórkowej bakterii, a w szczególności na upośledzeniu w budowywania kwasu N-acetylmuraminowego do mukopeptydowej ściany komórki bakteryjnej. Działanie to obserwuje się tylko w czasie podziału komórki bakteryjnej, ponieważ wówczas następuje intensywne biosynteza ściany komórkowej. Komórka bakteryjna, której ściana zawiera mniej mukopeptydu, posiada mniejszą wytrzymałość, w wyniku czego ulega rozpuczeniu. Penicyliny najsilniej działają przeciwbakteryjnie w okresie największego rozmnażania się drobnoustroju. Wzmożony wzrost i rozmnażanie bakterii ma miejsce wówczas, kiedy drobnoustrój o określonej zjadliwości znajdzie odpowiednie warunki hodowlane w środowisku, do którego został wprowadzony.

Streptomycyna należy do antybiotyków aminoglikozydowych. Zakres działania jej obejmuje głównie drobnoustroje Gram-ujemne. Mechanizm działania streptomycyny w zasadniczych fragmentach polega na hamowaniu syntezy enzymów, biorących udział w przemianach

kwasów nukleinowych oraz syntezie innych składników cytoplazmy.

Proces tworzenia się populacji bakteryjnej przebiega fazami. Największą ilość podziałów komórek bakteryjnych obserwuje się w fazie intensywnego podziału (tzw. logarytmicznej), która następuje po okresie adaptacji, trwającym przeciętnie ponad godzinę. Szybkość podziałów komórek bakteryjnych zależy od warunków środowiska, a zwłaszcza od temperatury oraz właściwości biologicznych bakterii. Na przykład pałeczki okrężnicy dzielą się co 24 minuty. Przeciętnie przyjmuje się, że komórki bakteryjne dzielą się co 30 do 90 minut.

Zestawiając powyższe informacje z technologią produkcji nasienia mrożonego buhajów można domniemać, że ok. 20-minutowy okres przechowywania nasienia w temperaturze pokojowej tj. od pobrania nasienia do ekwilibracji jest zbyt krótki, aby mogło nastąpić przeciwbakteryjne działanie antybiotyków dodawanych do rozcieńczalników nasienia. Należy wnosić, że z powodu braku optymalnych warunków podziały komórek bakteryjnych są bardzo znacznie zwolnione, albo nawet zahamowane. Wobec powyższego brakuje podstawowego warunku w mechanizmie przeciwbakteryjnego działania antybiotyków.

Na podstawie przedstawionych rozważań wydaje się, że powstaje konieczność przeanalizowania celowości dodawania antybiotyków do nasienia mrożonego buhajów i kontynuowania dalszych badań w tym kierunku.

Piśmiennictwo

1. Aamdal J.: Norsk Landbr. 21, 306, 1955.
2. Adler H. C., Rasbech M. O.: Nord. Vet. Med. 6, 135, 1954.
3. Almqvist J. O.: J. Dairy Sci. 34, 819, 1951.
4. Foote R. H., Bratton R. W.: J. Dairy Sci. 33, 544, 1950.
5. Hendrikse J., Joling K. F.: Proc. 2nd Int. Congr. Anim. Reprod. A. I. 3, 117, 1952.
6. Jaśkowski L.: Medycyna Wet. 31, 552, 1965.
7. Salisbury G. W., Knodt C. B.: J. Dairy Sci. 30, 361, 1947.
8. Wierzbowski S., Kruczek G., Gątkiewicz A., Wierzbowski E.: Proc. Danish-Polish Conf. Actual Biological and Hygienic Problems of A. I. in Cattle. Pawłowice, June 4-6, 60, 1973.
9. Wierzbowski S., Szmyd D.: Medycyna Wet. 32, 339, 1976.
10. Wierzbowski S.: Medycyna Wet. 33, 66, 1982.
11. Willett E. L., Ohms J. I.: J. Dairy Sci. 38, 1360, 1955.

Adres autora: prof. dr hab. Stefan Wierzbowski, Instytut Zootechniki, 32-083 Balice k. Krakowa.

Бажовский С., Новаковский В., Вайда Э., Кузнец С. — Соотношение между уровнем антибиотиков и бактериальными загрязнениями замороженной спермы быков

Прибавка антибиотиков к сперме применяется в ее продукции рутинно. Но иногда отмечается значительная степень бактериальных загрязнений подогретой таким образом спермы. Проведенные исследования стремились к сбору диагнозов относительно спермы, замороженной в шариках. Прибавка пенициллина и исследованных 326 эякулятах, происходящих с 16 станций искусственного осеменения, располагалась в пределах 0,5—3733 м.е., а прибавка стрептомицина в 340 эякулятах с 17 станций искусственного осеменения равнялась 158—1000 мг/мг спермы. Независимо от величины прибавки антибиотиков ок. 50% выработанной спермы было свободно от бактериальных загрязнений. Однако не отмечалась зависимость между величиной прибавки антибиотиков и количеством бактерий, загрязняющих сперму.

Wierzbowski S., Nowakowski W., Wayda E., Kuźniak S. — Relation antibiotic content and bacterial contamination of a bull frozen semen

Addition of antibiotics to semen has become the routine in semen production. However, the semen prepared in such a way sometimes shows a high degree of bacteria. Examinations concerned semen frozen in pellets. Penicillin added to 326 actually ex-

amined ejaculates from 16 Artificial Insemination Centres was within 0.5—3733 iu/ml, while streptomycin was 158—1000/ml of semen in 340 ejaculates from 17 Artificial Insemination Centres. Irrespectively of the content of the antibiotic added, about 50% of produced semen was free from bacteria. No relation between the amount of the antibiotics added and number of bacteria contaminating semen was found.

WALTER BUSCH, WILFRIED HARTWIG

Kontrola okresu poporodowego u bydła w NRD. I. Fizjologiczny przebieg okresu poporodowego*)

Klinika Położnictwa i Zaburzeń Rozrodu Zwierząt Wydziału Produkcji Zwierzęcej
i Weterynarii Uniwersytetu Humboldta, Reinhardtstrasse 4, 1040 Berlin

Efektywność produkcji zwierzęcej w stadzie podlega w znacznym stopniu wpływowi warunków zoohigienicznych. Jest ona gwarantowana tylko wtedy, kiedy otrzymujemy od jednej krowy przynajmniej jedno cielę w roku. Jeżeli zostanie przekroczony ekonomicznie optymalny okres międzywycieleniowy 360 dni, należy się wtedy liczyć ze stratami mleka w wysokości 4,6—9,4%. Do strat mleka dochodzi również wtedy, gdy rytm wycieleniowy odbywa się w odstępach 310 dni. Jeżeli wyjdziemy z założenia, że przeciętna długość ciąży u bydła wynosi 282 dni, to do zakończenia jednego roku pozostają 83 dni i w tym okresie powinno się osiągnąć ponowne zacielenie. Dlatego należy postępować tak, aby zwierzęta bardzo szybko po porodzie znowu były gotowe do zapłodnienia.

Populacja bydła w NRD obejmowała w roku 1980 5 722 500 zwierząt, w tym 2 137 900 krów. Około 14% wszystkich krów przebywa w fermach przemysłowych, 60% zwierząt stoi w oborach z więcej jak 200 stanowiskami, a pozostałe 26% w zakładach o mniejszej niż 200 liczbie stanowisk.

Wskaźnik zapłodnialności po pierwszym unasięniowaniu wynosił w roku 1980 53,3% (wielkość docelowa do roku 1985 — 55%), okres przestoju 61 dni (wielkość docelowa do 1985 — 50—60 dni), a okres międzyciążowy dochodził do 91 dni. Osiągnięcie tak wysokich parametrów docelowych zakłada wysoki poziom kontroli zoohigienicznej przeciwdziałającej zakłóceniom reprodukcji, które również w NRD są częstymi przyczynami czasowych ograniczeń w użytkowaniu bydła. Podczas gdy zaburzenia płodności u młodego bydła występowały w roku 1980 ze stosunkowo małą częstotliwością (6,8%) i były w cieniu chorób infekcyjnych i inwazyjnych (zapalenia płuc 17,3%, pasożyty 9,9%) oraz zaburzeń żywieniowych i metabolicznych (7,7%), to u krów stały na czele statystyki za-

chorowań. Zaburzenia płodności stanowiły 37,5%, mastitis 37%, schorzenia rąbic 10%, zaburzenia żywieniowe i metaboliczne 7,1% wszystkich przypadków zachorowań krów mlecznych.

Z przeglądu międzynarodowego piśmiennictwa wynika, że liczne badania dotyczą znaczenia okresu poporodowego dla reprodukcji pogłowia bydła. Pokazują one, że ciąża, poród i rozpoczynająca się laktacja wymagają — między innymi również w zależności od wysokości laktacji — określonych warunków chowu, żywienia i kontroli, jeśli ponowna ciąża ma nastąpić wkrótce po poprzedniej. Zdolności adaptacyjne i poziom odporności organizmu zwierzęcego mogą zostać obniżone w wyniku wielostronnych obciążeń. Także różne komplikacje poporodowe i zachorowania, szczególnie zaburzenia metaboliczne i schorzenia macicy, mogą powstawać łatwiej niż w okresie późniejszym fazy reprodukcyjnej. Te komplikacje poporodowe prowadzą w końcu również do upośledzenia kondycji reprodukcyjnej. Systematyczne badania przeprowadzone przede wszystkim przez Scholz i wsp. (5), Barth (2), Bach (1) w wielkich stadach NRD i przez — przykładowo — Teschner (6) i Hüttel (4) na małych stadach wykazały, że 20—30% krów w stadach z przeciętną płodnością, a w stadach problematycznych do 50% zwierząt wykazywało zakłócenia okresu poporodowego, które się wprawdzie klinicznie nie manifestowały, ale oddziaływały na późniejszą zdolność do zapłodnienia.

Tym samym należy traktować choroby okresu poporodowego jako ekonomicznie znaczące czynniki zakłócające reprodukcję bydła. Z powyższego wynikają następujące pytania:

1. Co rozumiemy pod pojęciem normalnego przebiegu okresu poporodowego i jak go diagnozować?
2. Jakie stany, względnie jakie kliniczne objawy należy uważać za nienormalne?
3. Jakie skutki ma zakłócony okres poporodowy na dalszą płodność?

*) Część I referatu ogłoszonego na 21 Sesji Naukowej Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasięniowania PTNW, Szczecin 22—23.IX.1982 r.