

Oporność na antybiotyki szczepów bakterii izolowanych z nasienia buhajów

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

Summary

Antibiotic resistance of bacterial strains isolated from bulls semen

From the processed semen of 353 bulls, 137 antibiotic resistant bacterial strains were isolated. 124 strains were penicillin and 89 streptomycin resistant. Bacteria isolated from fresh semen were examined for penicillin, streptomycin and gentamycin resistance, then semen was conserved (penicillin and streptomycin were added) and then the resistance of reisolated bacterial strains to penicillin, streptomycin and gentamycin was evaluated. From the fresh semen 21 penicillin and 9 streptomycin resistant strains were isolated. However, from these same samples of semen after thawing 10 bacterial strains resistant to penicillin and 6 strains resistant to streptomycin were reisolated. All isolated bacterial strains were gentamycin sensitive.

Badania nad przydatnością penicyliny i streptomycyny jako dodatku do rozcieńczalnika nasienia, mającego hamować rozwój bakterii zanieczyszczających nasienie wskazują, że skuteczność tych antybiotyków w znacznym stopniu jest ograniczona (5). Naturalnie dodatek penicyliny i streptomycyny redukuje liczbę bakterii znajdujących się w rozcieńczonym nasieniu, tym niemniej około 80% ejakulatów wykazuje jeszcze obecność bakterii po 4 godzinach od wprowadzenia antybiotyków (5). Na pewno jest wiele przyczyn zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia i wymienić tu można przede wszystkim naturalne niejako źródło, jakim jest flora bytująca w worku napletkowym, a potem niedostateczne przestrzeganie higieny uzyskiwania nasienia.

Zagrożenie, jakie powstaje na skutek tych zanieczyszczeń, zwłaszcza gdy są to bakterie warunkowo-chorobotwórcze, musi być eliminowane w drodze stosowania rozcieńczalnika z dodatkiem antybiotyków. Pogląd taki jest powszechnie przyjęty i stąd wynika również powszechne stosowanie antybiotyków w praktyce uzyskiwania nasienia. Niedokładne odmierzenie antybiotyków dodawanych do rozcieńczalnika przynosi w rezultacie niepełny efekt ich działania. A pod uwagę można też brać ewentualne różnice we wrażliwości na te antybiotyki, cechujące florę bakteryjną buhajów poszczególnych zakładów unasienniania (6).

Przeprowadzone doświadczenia miały na celu ocenę wrażliwości na antybiotyki szczepów bakterii izolowanych z nasienia poddanego konserwacji z antybiotykami, a następnie z nasienia świeżego przed poddaniem go konserwacji i z tego samego nasienia po konserwacji z rozcieńczalnikiem i dodatkiem antybiotyków. W tym drugim przypadku chodziło o określenie, jak kształtuje się procentowy stosunek szczepów opornych na penicylinę i streptomycynę do liczby szczepów wrażliwych na te antybiotyki.

Przeprowadzono również ocenę wrażliwości wyizolowanych szczepów na gentamycynę. Antybiotyk ten wybrano zarówno ze względu na wprowadzenie gentamycyny do zestawu antybiotyków stosowanych obecnie w technologii konserwacji nasienia w USA (1), jak i bio-

racę pod uwagę dostępność tego antybiotyku na rynku krajowym.

Materiał i metody

Dla rozpoznania jaka jest częstość występowania szczepów bakterii opornych na antybiotyki, stosowane w praktyce konserwacji nasienia, izolowano czyste hodowle szczepów bakterii z nasienia mrożonego 353 buhajów. Nasienie to pochodziło z 15 Zakładów Hodowli i Unasienniania Zwierząt i konserwowane było wg obowiązującej instrukcji (7), tzn. rozcieńczane rozcieńczalnikiem cytrynianowo-żółtkowym z dodatkiem penicyliny i streptomycyny, a następnie mrożone.

Dla rozpoznania, jak kształtuje się ilościowy stosunek szczepów bakterii wrażliwych na antybiotyki do szczepów opornych w tym samym nasieniu przed i po konserwacji, przeprowadzono badanie porównawcze. Z nasienia świeżego, pobranego od 73 buhajów z jednego zakładu unasienniania zwierząt, izolowano czyste hodowle szczepów bakterii. Następnie nasienie to poddawano konserwacji z dodatkami antybiotyków i znów izolowano szczepy bakterii.

Wrażliwość izolowanych szczepów na penicylinę, streptomycynę i gentamycynę, oceniano stosując krążki antybiotykowe streptomycyny i gentamycyny firmy Biomed-Warszawa oraz penicyliny firmy bio-Merieux (2, 3). Wyniki odczytywano z tabel załączonych przy każdej serii krążków antybiotykowych.

Wyniki i omówienie

Na 137 szczepów bakterii wyizolowanych z nasienia mrożonego, pochodzącego z różnych zakładów unasienniania, 124 szczepy były odporne na penicylinę, a 89 szczepów na streptomycynę. Natomiast wszystkie szczepy okazały się wrażliwe na gentamycynę (tab. 1). Z nasienia świeżego wyizolowano 29 szczepów bakterii, z których 21 było opornych na penicylinę, a 9 na streptomycynę. Wszystkie wyhodowane szczepy bakterii z na-

Tab. 1. Ocena wrażliwości na antybiotyki szczepów bakterii wyizolowanych z mrożonego nasienia buhajów

Liczba szczepów bakterii	Badane antybiotyki					
	penicylina		streptomycyna		gentamycyna	
	+	-	+	-	+	-
137	13	124	48	89	137	0

Tab. 2. Ocena wrażliwości na antybiotyki szczepów bakterii wyizolowanych z tych samych ejakulatów przed i po konserwacji

Liczba szczepów bakterii	Badane antybiotyki					
	penicylina		streptomycyna		gentamycyna	
	+	-	+	-	+	-
Nasienie świeże 29	8	21	20	9	29	0
Nasienie po konserwacji 13	3	10	5	8	13	0

Objaśnienia: + — szczepy wrażliwe, — — szczepy odporne.

sienia świeżego były wrażliwe na gentamycynę. Z tego samego nasienia po konserwacji z dodatkiem penicyliny i streptomycyny wyizolowano 13 szczepów bakterii. Na penicylinę było opornych 10 szczepów, a na streptomycynę 6. Natomiast na gentamycynę wrażliwe były wszystkie wyizolowane szczepy (tab. 2).

Wyniki te potwierdziły przypuszczenie o występowaniu w środowisku zwierzęcym zakładów hodowli i unasienniania zwierząt szczepów bakterii opornych na penicylinę i streptomycynę. Można domniemać, że uodpornienie to jest następstwem wieloletniego stosowania penicyliny i streptomycyny jako dodatku do nasienia buhajów, a także stosowania tych antybiotyków również w terapii. Dotyczy to zarówno bakterii niechorobotwórczych, jak i warunkowo-chorobotwórczych, głównie rozpoznanych w tej pracy szczepów *E. coli* i *Pseudomonas sp.*

Z ejakulatów, które były poddane konserwacji z dodatkiem penicyliny i streptomycyny, wyhodowano blisko 45% tej liczby szczepów, które były wyizolowane z tych samych ejakulatów przed konserwacją. Przedstawione wyniki badań wskazują, że chociaż stosowana obecnie technologia uzyskiwania nasienia stwarza odpowiednie warunki dla przeciwbakteryjnego działania antybiotyków dodawanych wraz z rozcieńczalnikiem do nasienia (5), niemniej występujący stosunkowo znaczny odsetek szczepów opornych na penicylinę i streptomycynę wskazuje na konieczność wprowadzenia nowego antybiotyku, działającego bardziej skutecznie. Wydaje się, że tym antybiotykiem może być gentamycyna, którą wprowadzono już do praktyki produkcji nasienia w USA. W wyniku przedstawionych doświadczeń można stwierdzić, że działanie przeciwbakteryjne gentamycyny było wyraźnie bardziej skuteczne we wszystkich próbach, które zostały przeprowadzone. Należy więc widzieć potrzebę wprowadzenia tego antybiotyku w

miejsce prawdopodobnie streptomycyny, w kombinacji z penicyliną. Wymagać to będzie jeszcze sprawdzenia, czy produkowana w kraju gentamycyna nie działa szkodliwie na plemniki. Uwarunkowanie takie wynika z prac Roslanowskiego (4), które dotyczyły badania przydatności polskiej penicyliny jako dodatku do rozcieńczalnika nasienia.

Wnioski

1. Zarówno penicylina, jak i streptomycyna wykazują podobne ograniczone działanie przeciwbakteryjne w stosunku do szczepów bakterii występujących w nasieniu mrożonym buhajów poddanych konserwacji z penicyliną i streptomycyną.

2. Z wyizolowanych szczepów bakterii z nasienia świeżego, 72% szczepów było opornych na penicylinę, a 33% na streptomycynę.

3. Około 45% szczepów bakterii występujących w świeżym nasieniu buhajów, przeżyło konserwację mimo stosowania rozcieńczalnika nasienia z dodatkiem penicyliny i streptomycyny.

4. Wszystkie szczepy bakterii, wyizolowane zarówno z nasienia mrożonego, jak i świeżego, były podatne na działanie gentamycyny.

Piśmiennictwo

1. Certified Semen Services NAAB (CSS), Columbia, 1986.
2. Ericsson H. M., Sherris J. C.: Acta path. microbiol. scand., Sec. B, suppl. 217, 1971.
3. Katużewski S., Jagielski M.: Med. dośw. 22, 1970.
4. Roslanowski K.: Medycyna wet. 14, 421, 1958.
5. Wayda E.: Medycyna wet. 42, 95, 1986.
6. Wierzbowski S., Nowakowski W., Wayda E., Kuźniak S.: Medycyna wet. 40, 284, 1984.
7. Wierzbowski S., Piłch J., Nowakowski W.: Instrukcja prac laboratoryjnych dla stacji unasienniania bydła. Wyd. własne IZ, Kraków, 1982.

Adres autora; dr inż. Elżbieta Maria Wayda, ul. Włoczków 11 A/8, 30-103 Kraków

BRONISŁAW CZERWONKA

Michałów k. Pińczowa

Terenowe badania ginekologiczne klaczy czystej krwi arabskiej przy pomocy ultrasonografu

Summary

Field gynecologic examinations of arabian mares by the use of ultrasonograph

There were examined 132 arabian mares for 3 years: 1987, 1988 and 1989. The activity of ovaries and the developmental phases of the Graaf's vesicle were examined in the preparturient period. Between 13 and 30 days since ovulation 320 measures of the embryonic vesicle were performed. A mean diameter of the vesicle in individual days is visualized in Table 1. In the corpus of the uterus embryo was localized in 6 cases, in the left horn of the uterus in 138 (45.69%) and in the right horn in 134 cases (44.37%). The shape of the embryonic vesicle was spherical up to the day 16 after ovulation and at the day 18 it lost its spherical form. After 23 days since ovulation the embryo was located in the middle part of the vesicle. At the day 50 it was localized at a lower edge of the vesicle and a spontaneous movement was recorded. Heart pulsation was noted between 23 and 30 day. In the breeding season 1989 a bigeminal pregnancy was diagnosed in 3 mares, 2 embryonic vesicles were situated in separated horns and one in one horn. In two mares two bigeminal fetuses have been resorbed completely up to day 30 after ovulation and in one mare the embryo persisted at the left horn and the foetus in the right horn was absorbed between 25 and 30 day.

W ostatnim dwudziestolecu spośród licznych osiągnięć światowej diagnostyki weterynaryjnej, metody wizualizacji ultradźwiękowej należą do najważniejszych. Ultrasonografy, które zrobiły tak gwałtowną karierę w środowisku medycyny ludzkiej, zostały wykorzystane również na szeroką skalę w diagnostyce weterynaryjnej, głównie w rozpoznawaniu ciąży. Stosowane obecnie ultrasonografy różnią się przede wszystkim budową głowicy, która spełnia funkcję nadawczo-odbiorczą. W głowicy następuje wytwarzanie i odbiór seryjnych fal ultradźwiękowych wytwarzanych i odbieranych za pomocą przetworników piezoelektrycznych. Ta specyficzna budowa głowicy pozwala na dokładną ocenę stanu jajników, ich zmian czynnościowych i chorobowych, ocenę fazy cyklu rujowego, wczesnego wykrywania ciąży (w tym ciąży bliźniaczej), ocenę rozwoju ciąży, określenie wczesnego zamierania i resorpcji płodu oraz wykrywanie zmian chorobowych macicy (1, 2, 4, 6, 7). Ultrasonografy stały się pomocne w programach przeszczepiania zarodków (2).

W badaniach układu rozrodczego koni i krów najczęściej stosowany jest typ głowicy o częstotliwości fal