

z perspektywy dwóch lat zwalczania gruźlicy była w powiecie sandomierskim, można powiedzieć, że dezynfekcja zagród gruźliczych jest niesłychanie ważnym ogniwem w zwalczaniu tej zarazy. W okresie tym miałem możność stwierdzenia, że w oborach gruźliczych, gdzie wyzbyto się bydła gruźliczego, a dezynfekcja nie została przeprowadzona, lub przeprowadzona źle, dochodziło w krótkim czasie do zakażeń sztuk uznanych za wolne od gruźlicy. Należy podkreślić, że wywiad epizootologiczny wykluczał zakażenie zwierzęcia z zewnątrz. Rodziny właścicieli zagród posiadały aktualne zaświadczenia z przychodni przeciwgruźliczej stwierdzające brak zmian radiologicznych.

Bardzo ważnym zagadnieniem staje się działalność ekip dezynfekcyjnych. Maksymalna ilość zadań dla ekip dezynfekcyjnych przypada na pierwszy i drugi rok zwalczania gruźlicy. W następnych latach zadania te gwałtownie spadają z uwagi na zmniejszającą się ilość zagród gruźliczych. Wydaje się celowe, aby każdy większy powiat, lub 2 mniejsze powiaty posiadały w swojej dyspozycji ekipę dezynfekcyjną. Tak pomyślane ustawienie ekip może dać gwarancję należytego wykonania w sposób prawidłowy dezynfekcji zagród gruźliczych na terenie powiatu. W okresach po zakończeniu prac przy dezynfekcji zagród gruźliczych, ekipy można wykorzystać do dezynfekcji w gospodarstwach państwowych i spółdzielczych, do dezynfekcji placów sądowych w GS, magazynów różnych instytucji itd. Ekipy dezynfekcyjne mogą dokonywać bielienia obór, stajen i chlewni oraz innych pomieszczeń w majątkach sektora państwowego, spółdzielczego i prywatnego. De-

zynsekcja i deratyzacja winna również być włączona do działalności ekip dezynfekcyjnych. W razie ujawnienia choroby zaraźliwej na terenie powiatu, ekipa dezynfekcyjna może być natychmiast skierowana na oznaczone miejsce i wziąć udział w likwidacji zarazy. Posiadanie w dyspozycji na miejscu ekipy dezynfekcyjnej może znacznie ułatwić koordynację pracy ekipy z powiatowym lekarzem wet. Bezpośredni nadzór powiatowego lekarza wet. nad działalnością ekipy w terenie może mieć zasadniczy wpływ na efektywność pracy ekipy. Pozwoli to na indywidualne zawiadamianie rolników o dniu i godzinie przewidzianej dezynfekcji zagrody gruźliczej, co ułatwi rolnikowi należyte przygotowanie oczyszczenia zagrody. Ekipa dezynfekcyjna może być przydzielona poszczególnym kierownikom PZLZ na czas przeprowadzania dezynfekcji zagród gruźliczych na terenie działalności danego PZLZ. Bezpośredni nadzór pracowników danej lecznicy nad działalnością ekipy, którzy są zainteresowani w należytym i szybkim przeprowadzeniu dezynfekcji, będzie gwarancją wykonania zadania w sposób prawidłowy. Ustawienie ekip dezynfekcyjnych w sposób pozwalający powiatowemu lekarzowi wet. na swobodne dysponowanie ekipą może przyczynić się do podniesienia jakości usług ekipy, oraz sprawi, że kierownictwo nad akcją zwalczania gruźlicy u bydła w powiecie będzie spoczywało w rękach powiatowego lekarza wet. od momentu przygotowania do akcji, aż do jej zakończenia. Artykuł niniejszy uważam za dyskusyjny i spełni on swoje zadanie jeżeli przyczyni się do ułatwienia pracy Kolegom w terenie.

Adres autora: Jan Szpakowski, Sandomierz, ul. Zamiejska 17.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

LECH JAŚKOWSKI

Zanieczyszczenia bakteryjne nasienia buhajów i ich znaczenie dla żywotności i zdolności zapładniającej nasienia buhajów inseminacyjnych

Instytut Weterynarii, Zakład Inseminacji i Zwalczania Bezpłodności

Wykrycie w nasieniu takich zarazków jak *Vibrio foetus*, *Brucella abortus* lub *Trichomonas foetus* na ogół nie budzi u pracowników odpowiedzialnych za inseminację wątpliwości co do roli i znaczenia tych zarazków w nasieniu. Inaczej jest gdy wynik badania brzmi: „stwierdzono liczne paciorkowce hemolityczne, albo pał. ropy błękitnej, maczugowiec ropotwórczy, pałeczkę okrężnicy itp.”. Czy nasienie zawierające wymienione drobnoustroje może spowodować zakażenie dróg rodnych unasienianej krowy? Czy może ulec uszkodzeniu w przebiegu konserwacji przez jady, lub produkty przemiany materii obecnych drobnoustrojów? Czy ich obecność może się odbić ujemnie na zdolności zapładniającej nasienia? Brak w piśmiennictwie polskim syntetycznego opracowania, dotyczącego znaczenia

zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia dla jego zdolności zapładniającej sprawia, że niektórzy skłonni są znaczenie ich przeceniać, inni zaś go nie doceniają. Te względy skłoniły mnie do opracowania niniejszego przeglądu najważniejszych publikacji dotyczących zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia, oraz próby wyciągnięcia wniosków dotyczących rodzaju i interpretacji badań nasienia na zanieczyszczenia bakteryjne.

Zanim przejdę do właściwego tematu, pragnąłbym dla uniknięcia nieporozumień podać kilka definicji.

Przez zanieczyszczenia bakteryjne rozumiemy występowanie w nasieniu drobnoustrojów niepatogennych, lub fakultatywnie patogennych. W niniejszym opracowaniu będziemy używali określenia „zanieczyszczenia, lub drobnoustroje naturalne”, to znaczy te które pochodzą z jamy narządowej, prącia i dróg moczopłciowych buhaja, w odróżnieniu od „zanieczyszczeń lub drobnoustrojów wprowadzonych” dosta-

jących się do nasienia z zewnątrz (z powietrza, niedostatecznie oczyszczonego sprzętu, rozcieńczalników, bądź wprowadzonych sztucznie dla celów doświadczalnych).

Zanieczyszczenia nasienia będziemy odróżniali od „zakażeń nasienia” drobnoustrojami patogennymi (*Vibrio foetus*, *Brucella*, *Trichomonas*), wirusami bądź sprawcami nieswoistych procesów zapalnych w obrębie układu rozrodczego buhajów i krów.

Ponieważ czynnikiem zakaźnym w nieswoistych chorobach krycia bywają drobnoustroje fakultatywnie patogenne, znajduwane również w naturalnych zanieczyszczeniach nasienia, zachodzi potrzeba sprecyzowania, w jakich przypadkach ten sam rodzaj drobnoustrojów będzie zaliczony do zanieczyszczeń, w jakich zaś do zakażeń. Otóż o zakażeniu można mówić tylko wtedy, gdy poza wykryciem w kolejnych ejakulatach jednego tylko rodzaju drobnoustrojów stwierdza się równocześnie kliniczne objawy procesu zapalnego w obrębie układu rozrodczego (obrzęk, lub powiększenie gruczołu krokowego, pęcherzyków nasieniowych, nasieniowodów, jąder, najądrza; obecność leukocytów w nasieniu itp.), lub gdy u szeregu krów unasięnianych nasieniem zawierającym określony rodzaj drobnoustrojów dochodzi po unasięnieniu do procesu zapalnego w pochwie, a w wydzielinie zapalnej stwierdza się ten sam rodzaj drobnoustrojów.

We wszystkich innych przypadkach znalezione drobnoustroje zaliczamy do zanieczyszczeń nasienia.

Drobnoustroje nasienia. W szeregu badań poświęconych florze bakteryjnej nasienia buhaja stwierdzano liczne i różne rodzaje i gatunki. Do najczęściej spotykanych należą: mikrokokki, *Pseudomonas*, dyfteroidy, laseczka sienna, *E. coli*, paciorkowce hemolizacyjne i niehemolizacyjne, gronkowce, *Proteus*, *Corynebact. pyogenes*, *Sarcina*, *Chromobacter ametistum*, *Bact. alcaligenes*. (3, 4, 6, 9, 17, 27, 31). Większość wymienionych drobnoustrojów stanowią naturalne zanieczyszczenia nasienia, z tym że dyfteroidy, laseczka sienna, pał. odmienia i pał. ropy błękitnej, bywają również często wprowadzane z zewnątrz.

Liczba drobnoustrojów w nasieniu. Ilość drobnoustrojów znajdujących w świeżo pobranym nasieniu określamy często mianem stopnia zanieczyszczenia nasienia. Miara stopnia zanieczyszczenia nasienia jest ich ilość w ml nasienia. Z dotychczasowych badań wynika, że stopień zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia jest bardzo różny i waha się od 0—22.10⁶ organizmów/ml. Najczęściej są to zanieczyszczenia mieszane z jednym rodzajem dominującym i 2—3 rodzajami towarzyszącymi. Stopień zanieczyszczenia nasienia zależy od szeregu czynników, wśród których stan higieniczny pomieszczeń dla buhajów oraz samych zwierząt nie odgrywają wcale najważniejszej roli. Stąd stopień zanieczyszczenia nasienia jest różny, zarówno w kolejnych ejakulatach jednego buhaja, jak również w ejakulatach różnych buhajów. Stąd informacje o przeciętnym stopniu zanieczyszczenia nasienia, oparte o badania w różnych zakładach i w różnym okresie czasu, wykazują znaczne rozbieżności. Tak np. *Hendrikse* (17) ocenia średni stopień zanieczyszczenia nasienia u buhajów inseminacyjnych na 460.10³ drobn./ml. *Almouist* i wsp. (2) na 270.10³. *Alford* i wsp. (1) na 170.10³. *Foot* i *Bratton* (10) na 120.10³, u nas *Grabowski* (15) na 635.10³, i *Romaniuk* (29) na 172.10³ drobn./ml nasienia.

Czynniki wpływające na stopień zanieczyszczenia nasienia. Przestrzeganie bezwzględnej higieny pomieszczeń oraz czystości skóry, szczególnie okolicy napletkowej oraz zachowanie zasad aseptyki pobierania i „obróbki” nasienia, umożliwia uzyskiwanie ejakulatów o bardzo małym stopniu zanieczyszczenia. Z czynników zwiększających stopień zanieczyszczenia nasienia należy wymienić:

a) brak higieny pomieszczeń dla buhajów, hali pobrania nasienia oraz higieny „osobistej” buhajów (17).

b) brak higieny pobierania nasienia. Następujące momenty przy pobieraniu nasienia sprzyjają silnemu zanieczyszczeniu nasienia; 1) używanie zbyt długich

sztucznych pochew, lub pionowe ustawienie krótkiej sztucznej pochwy po pobraniu, w celu zebrania ostatnich kropli nasienia spływających z wyściółki sztucznej pochwy. Jak wykazały badania ostatnie krople nasienia, spływające do zbiornika, zawierają wiele razy więcej drobnoustrojów, niż pozostała część nasienia (16, 20, 28).

2) Złe przygotowanie sztucznej pochwy powodujące konieczność ponawiania prób pobierania nasienia, prób w czasie których następuje wprowadzenie prącia do wlotu sztucznej pochwy, przy braku ejakulacji (12, 33).

3) Pobieranie przy pomocy jednej sztucznej pochwy dwu lub trzech ejakulatów od tego samego buhaja. Badania wykazały, że przy pobieraniu kolejnych ejakulatów przy pomocy odrębnej sztucznej pochwy powodują, że każdy następny ejakulat jest mniej zanieczyszczony, natomiast przy pobieraniu ich przy pomocy tej samej sztucznej pochwy następuje ejakulatory są przeciętnie 2—3 razy więcej zanieczyszczone, niż pierwszy (17, 28). W związku z tym, że głównym źródłem zanieczyszczeń nasienia są drobnoustroje osiedlone w jamie napletkowej. próbowano poprzez „dezynfekcję” jamy napletkowej obniżyć stopień zanieczyszczenia nasienia. *Cembrowicz* i *Osborne* (8) uzyskiwali nasienie wolne lub prawie wolne od drobnoustrojów po wlewach donapletkowych zawiesiny streptomycyny i penicyliny w oleju parafinowym, *Jaśkowski* (22) po 2-krotnym wprowadzeniu 50 ml 5% zawiesiny jodoformu w oleju parafinowym. *Hendrikse* (17) uzyskiwał znaczne zmniejszenie wartości drobnoustrojów w nasieniu, jeżeli bezpośrednio przed pobraniem przepłukiwał jamę napletkową 0.4% roztworem halamidu. Jednak efekt tych zabiegów nie był trwały. Już w kilka dni po „odkazy” jamy napletkowej pojawiały się w nasieniu nowo drobnoustroje, a w około 2 tygodnie stwierdzano te same rodzaje i ten sam stopień zanieczyszczenia, jak przed zabiegami. Częste „przemycania” jamy napletkowej antybiotykami budzą zastrzeżenia ze względu na niebezpieczeństwo pojawiania się szczepów antybiotykoopornych. Częste przemycania chemicznymi środkami dezynfekcyjnymi mogą działać drażniaco i prowadzić do procesów zapalnych jamy napletkowej.

Wpływ drobnoustrojów na żywotność nasienia *in vitro*

Niekorzystny wpływ zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia na jego żywotność *in vitro* był znany od dawna. *Milovanow* już w czasie swych pionierskich badań nad konserwacją nasienia w latach 1932—1934 stwierdzał, że jednym z głównych czynników ograniczających życie plemników, przetrzymywanych w temperaturach powyżej 0°, są drobnoustroje. Ich produkty przemiany materii i prawdopodobnie toksyny. Liczne badania poświęcone temu zagadnieniu dotyczyły bądź dociekań nad skutkami namnożenia naturalnych drobnoustrojów nasienia w przebiegu konserwacji, bądź też nad skutkami wprowadzenia określonej ilości i określonego rodzaju drobnoustrojów do nasienia.

Na podstawie dotychczasowych badań zdaje się wynikać, że liczbą krytyczną dla życia plemników jest zawartość 500.10⁶ drobnoustrojów/ml nasienia. Zarówno badania nad skutkami namnożenia drobnoustrojów naturalnych, lub wprowadzonych (11), jak skutkami wprowadzenia określonych ilości drobnoustrojów (23) wykazały, że z chwilą, gdy stężenie drobnoustrojów w nasieniu osiągało wartość pół miliarda drobnoustrojów na ml, dochodziło szybko do obumarcia plemników.

Znacznie trudniej ustalić najniższe szkodliwe stężenie drobnoustrojów. Na podstawie badań własnych (21) doszliśmy do wniosku, że przy konserwacji nasienia w temp. 4°, obserwuje się niższą ruchliwość i skłonność do aglutynacji plemników w próbach, które zawierają więcej niż milion drobnoustrojów na ml, aniżeli w próbach zawierających mniejsze stężenia

drobnoustrojów. *Gargula* (11) stwierdził, że próby dzielonego ejakulatu, w których końcowe namnożenie drobnoustrojów, w momencie zamarcia ruchu plemników konserwowanych w temp. 4°, wyniosło 10.10⁶ drobn./ml, przeżywały o 72 h dłużej, niż próby, w których namnożenie końcowe wyniosło 40.10⁶ drobn./ml. Przytoczone obserwacje zdają się wskazywać na to, że najniższa szkodliwa zawartość drobnoustrojów w nasieniu mieści się między 1 a 10 milionami drobnoustrojów na ml. Ta ilość może swymi produktami zatruć środowisko na tyle, aby spowodować skrócenie czasu przeżywania plemników.

Daleko mniej pewne są wyniki badań nad szkodliwością poszczególnych rodzajów drobnoustrojów na przeżywanie nasienia *in vitro*. Sprzeczności w wynikach badań poszczególnych autorów są tak duże, że właściwie nie można sobie wyrobić obiektywnego zdania o znaczeniu poszczególnych rodzajów drobnoustrojów dla żywotności nasienia. Ilustruje to najlepiej tabela 1, w której zestawiono wyniki badań różnych autorów o niekorzystnym, obojętnym, lub korzystnym wpływie poszczególnych rodzajów drobnoustrojów na przeżywanie nasienia *in vitro*.

Wpływ naturalnych było znacznie intensywniejsze od namnożenia drobnoustrojów wprowadzonych. Czas przeżywania nasienia w próbach zakażonych, w porównaniu z kontrolnymi, zależał od stosunku drobnoustrojów wprowadzonych do naturalnych w momencie namnożenia końcowego. Jeżeli drobnoustroje naturalne brały górę nad wprowadzonymi, czas przeżywania w porównywanych próbach był jednakowy. Jeżeli natomiast w momencie zakończenia próby przeżywania przeważały drobnoustroje wprowadzone wówczas stwierdzano różnice w czasie przeżywania między próbami zakażonymi i kontrolnymi. Pozornie najbardziej zaskakującym faktem w tym przypadku było, że te same drobnoustroje wprowadzone do nasienia, w przypadku uzyskania przewagi przy namnożeniu końcowym, raz powodowały skrócenie, drugi raz przedłużenie przeżywania nasienia w porównaniu z kontrolnym.

Te pozorne sprzeczności można wyjaśnić tylko zjawiskiem współzawodnictwa drobnoustrojów zmuszonych do bytowania w tym samym środowisku. W wyniku tego współzawodnictwa, w którym wartością wiadomą są drobnoustroje wprowadzone, wartością

Tab. 1. Wpływ poszczególnych rodzajów drobnoustrojów na przeżywanie nasienia *in vitro* według różnych autorów

Rodzaj drobnoustrojów	Ich wpływ według niżej cytowanych autorów był		
	Korzystny	obojętny	niekorzystny
<i>Escherichia coli</i>	Gunsalus (14) Mathews (25) Scheeser (31)	Buxton (6) Gargula (11) Marinow (26) Scheeser (31)	Grabowski (15)
Mikrokokki	Edmondson (9) Scheeser (31)	Scheeser (31) Grabowski (15)	Grabowski (15)
Paciorkowce niehemolit.	Edmondson (9)		
Paciorkowce hemolityczn.	Buxton (6)	Buxton (6)	Edmondson (9) Gargula (11)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Baier (3) Edmondson (9) Mathews (25)	
Gronkowce	Gargula (11) Scheeser (31)	Buxton (6) Mathews (25) Scheeser (31)	
<i>Bac. subtilis</i>		Buxton (6) Scheeser (31)	Marinow (26)
Dyfteroidy		Mathews (25)	
<i>Corynebact. pyogenes</i>		Kazda (23) Bratke (4)	
<i>Proteus vulgaris</i>	Marinow (26)	Marinow (26)	

Pewne światło na te sprzeczności rzuciły badania przeprowadzone w tut. zakładzie przez *Gargulę* (11). Większość badań poświęconych wpływowi poszczególnych rodzajów drobnoustrojów na przeżywanie nasienia *in vitro*, oparta była na porównaniu przeżywania nasienia „zakażonego”, tj. nasienia, do którego wprowadzono czystą hodowlę badanego rodzaju drobnoustrojów, z przeżywaniami nasienia kontrolnego, tj. porcji tego samego ejakulatu, którego wprowadzono nie „zakażano”, ale który podobnie, jak ejakulat „zakażony”, zawierał pewną ilość drobnoustrojów „naturalnych”. Jak wykazały obserwacje *Garguli*, metoda ta nie daje podstaw do wyciągania wiążących wniosków o wpływie drobnoustrojów wprowadzonych na przeżywanie nasienia. Otóż w jego badaniach, nawet wtedy gdy do nasienia wprowadzał 100.10⁶ drobnoustrojów na ml, skład flory bakteryjnej przy namnożeniu „końcowym” tzn. stwierdzony w chwili obumarcia nasienia) nie odpowiadał stosunkom wyjściowym. W większości przypadków namnożenie drobnoustro-

żących naturalnie drobnoustroje nasienia, dochodzi w pewnych przypadkach do akumulacji szkodliwych substancji dla nasienia, w innych zaś do częściowej neutralizacji substancji szkodliwych.

Z praktycznego punktu widzenia rozstrzygnięcie sprawy, które rodzaje drobnoustrojów zanieczyszczających nasienie są bardziej, a które mniej szkodliwe dla plemników, wydaje się w świetle dotychczasowych badań mało istotne. Istotny natomiast jest fakt, że ich namnożenie w przebiegu konserwacji powyżej pewnego stężenia staje się dla nasienia niekorzystne. Na podstawie rozporządzanych danych, minimalne krytyczne namnożenie zdaje się mieścić w granicach między 1 a 10 milionami drobnoustrojów na ml.

Czy takie namnożenia obserwuje się w praktyce? Przy obecnych metodach konserwacji pod osłoną antybiotyków, nawet przy przetrzymywaniu nasienia w temperaturze pokojowej (metodą IVT) rzadko stwierdza się namnożenia powyżej 100 000 drobnoustro-

jów/ml nasienia (24, 29) w okresie pierwszych 4 dób konserwacji. Jedynie w przypadkach gdy warunki konserwacji były szczególnie złe (po stopieniu lodu w termosach (21), przy przechowywaniu nasienia IVT w temp. powyżej 22° obserwowano namnożenia przekraczające 1 milion drobnoustrojów/ml. Pośrednim dowodem wskazującym na to, że stopień namnożenia drobnoustrojów w nasieniu konserwowanym zależy prawie wyłącznie od warunków konserwacji są wyniki badań *Romaniuka* (29), który stwierdził, że nie ma żadnej współzależności między stopniem wyjściowego zanieczyszczenia nasienia, a stopniem namnożenia w ciągu 4-dniowej konserwacji.

Wpływ zanieczyszczeń nasienia drobnoustrojami naturalnymi na jego zdolność zapładniającą.

Niekorzystny wpływ drobnoustrojów zanieczyszczających nasienie był rozpatrywany pod następującymi aspektami: a) możliwości wywoływania zakażeń dróg rodnych samic unasienianych, b) zmian chemizmu nasienia, odbijających się ujemnie na jego zdolności zapładniającej, c) uszkodzenia plemników przez produkty metabolizmu bakteryjnego, lub przez ich toksyny, d) inne czynniki.

Ad a) Z badań *Cembrowicza* (7) wynika, że istnieje możliwość powodowania ropnych procesów dróg rodnych krów przez unasienienia nasieniem zanieczyszczonym drobnoustrojami. Możliwość taka w normalnych warunkach zdarza się raz na 10 000 unasienień, i wiąże się zawsze z unasieniem krów nie będących w rui. *Cembrowicz* nie wyklucza możliwości zwiększenia częstotliwości zakażeń dróg rodnych samic za pośrednictwem unasieniania, przy zaistnieniu szczególnych okoliczności (bardzo silne zanieczyszczenie nasienia, obniżenie naturalnej odporności samic).

Natomiast, jeżeli chodzi o unasienianie krów będących w rui, panuje powszechne przekonanie, że nawet silne zanieczyszczenie nasienia nie może u nich wywołać procesu zapalnego dróg rodnych. Wskazują na to doświadczenia przeprowadzane nad możliwością wywołania u latujących się jałowic procesu zapalnego dróg rodnych przy pomocy czystych kultur, lub nasienia zakażonego czystymi kulturami drobnoustrojów fakultatywnie patogennych znajdujących w nasieniu. *Hubrigowi* i *Wohance* (19, 20) nie udało się wywołać procesu zapalnego dróg rodnych przy pomocy czystych kultur *C. pyogenes* i paciorkowców. *Rommlowi* (30) przy pomocy *C. pyogenes*. Według *Goertlera* (13) również często znajdowane w nasieniu buhaja drobnoustroje rodzaju *Pseudomonas*, nie wywołują zapalenia dróg rodnych u unasienianych krów.

Ad b). W przebiegu procesów zapalnych przebiegających w obrębie układu rozrodczego dochodzi do zmian w składzie osocza powodujących zmniejszenie żywotności plemników, niepożądaną skłonność do ich aglutynacji itp. Zagadnieniem tym nie będziemy się bliżej zajmowali, ze względu na to, że zmiany jakości nasienia na tle procesów zapalnych zaliczamy do zmian spowodowanych zakażeniem, a nie zanieczyszczeniem nasienia.

Ad c). Większość autorów badających wpływ drobnoustrojów na nasienie stwierdzała, że szczególnie toksyczne dla nasienia okazywały się drobnoustroje prowadzące do silnego zakwaszenia środowiska (21, 23, 26). *Grabowski* (15), który badał działanie endotoksyn bakteryjnych na plemniki, stwierdził, że endotoksyny postaci hemolitycznych różnych gatunków drobnoustrojów skracają przeżywanie plemników *in vitro*. Jednak koncentracja kwasów organicznych, potrzebna do wyraźnego skrócenia przeżywania nasienia, powstaje dopiero przy obecności co najmniej kilku milionów drobnoustrojów na ml nasienia, a do uzyskania dostatecznej ilości endotoksyny, potrzebnej do uszkodzenia plemników, trzeba rozbić kilkadziesiąt miliardów drobnoustrojów. Czy stężenia metabolitów spowodowane tymi ilościami drobnoustrojów, które

się znajduje przeciętnie w nasieniu, mogą wywrzeć jakikolwiek wpływ na żywotność nasienia konserwowanego, nie wiadomo. Dysponujemy natomiast bardzo sprzecznymi informacjami o wpływie stopnia zanieczyszczenia nasienia na jego zdolność zapładniającą. Tak np. *Stutzinger* (32) stwierdza, że najpłodniejsze buhaje mają z reguły dużo drobnoustrojów w nasieniu, natomiast *Romaniuk* i *Marinow* (26) wykazali, że obecność drobnoustrojów w nasieniu wpływa ujemnie na ich zdolności zapładniające. Do podobnych wniosków doszli *Foote* i wsp. (10), *Bush* i wsp. (5), *Herrick* (18) i inni. Istnieje wreszcie grupa badaczy, którzy uważają, że zawartość drobnoustrojów w nasieniu nie ma żadnego wpływu na jego zdolność zapładniającą. Należą do nich *Almquist* i wsp. (2), *Alford* (1), oraz *Hendrikse* (15), który operuje najobszerniejszym materiałem obserwacyjnym, i którego prace cechuje najbardziej wielostronne podejście do zagadnienia. W tym miejscu pragnę zwrócić uwagę na jeden szczegół, mianowicie prace dotyczące ujemnego wpływu zanieczyszczeń bakteryjnych na zdolność zapładniającą nasienia dotyczą wyjściowego zanieczyszczenia nasienia, natomiast prace, wykazujące, że stopień zanieczyszczenia nasienia nie ma wpływu na jego zdolność zapładniającą, dotyczyły nasienia rozcieńczonego i konserwowanego.

Wydaje się, że pewne wyjaśnienie rozbieżnych opinii różnych autorów na wpływ stopnia zanieczyszczenia nasienia na jego zdolność zapładniającą rzuciły ostatnie obserwacje *Romaniuka* (29). Badał on wpływ zanieczyszczenia wyjściowego, oraz stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego w 4 dni konserwacji (zanieczyszczenie końcowe) na zdolność zapładniającą nasienia (153 ejakulatory) buhajów inseminacyjnych. Nasienie było konserwowane metodą IVT w temp. pokojowej pod osłoną antybiotyków. Między stopniem zanieczyszczenia wyjściowego (w nasieniu nierozrzedzonym) a stopniem zanieczyszczenia końcowego nie stwierdził on żadnej współzależności. Nie stwierdził też zależności między zawartością drobnoustrojów w nasieniu konserwowanym a jego zdolnością zapładniającą. Natomiast między wyjściowym stopniem zanieczyszczenia nasienia a jego zdolnością zapładniającą stwierdził, wprawdzie niską ($r = -0.202$), ale statystycznie wysoce znamiennej, korelację ujemną; ejakulatory zawierające mniej niż 300.000 drobn/ml wykazywały przeciętnie zdolność zapładniającą o 3% wyższą, niż ejakulatory zawierające 300—500.000 drobn/ml i o 8% wyższą, niż ejakulatory zawierające ponad 500.000 drobn/ml.

Najistotniejsza jednak obserwacja *Romaniuka* polegała na tym, że zauważył on, że wśród 21 buhajów pod obserwacją, te które oddawały nasienie łatwo, wykazywały z reguły ejakulatory bardzo słabo zanieczyszczone, te zaś, które oddawały nasienie dopiero po kilku bezowocnych próbach, dawały ejakulatory silnie zanieczyszczone. Z tego spostrzeżenia wypływają dalsze wnioski, a mianowicie: że stopień zanieczyszczenia nasienia jest wprawdzie dowodem pewnych przekroczeń zasad higieny pobierania nasienia, ale równocześnie odzwierciedleniem zakłóceń mechanizmu ejakulacji. Zakłócenia mechanizmu ejakulacji mogą prowadzić do zmian chemizmu nasienia, zmian odbijających się ujemnie na jego zdolności zapładniającej. Czyli, że stopień zanieczyszczenia wyjściowego nasienia nie jest przyczyną bezpośrednią obniżenia zdolności zapładniającej, lecz objawem zmian w składzie nasienia pod wpływem zaburzeń mechanizmu ejakulacji, będących bezpośrednią przyczyną obniżenia zdolności zapładniającej nasienia. W tym ujęciu zrozumiała jest zarówno wyraźna korelacja między stopniem zanieczyszczenia wyjściowego nasienia a jego zdolnością zapładniającą, jak również jej brak między stopniem namnożenia drobnoustrojów w przebiegu konserwacji nasienia a jego zdolnością zapładniającą.

Wnioski praktyczne dotyczące znaczenia zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia.

Fakty dotychczas przedstawione wskazują na to, że zanieczyszczenia bakteryjne, znajduwane w nasieniu buhajów inseminacyjnych, mogą oddziaływać ujemnie na zdolność zapładniającą nasienia. Oddziaływanie to nie jest bezpośrednio; należy je uważać raczej za objaw, ściślej zaś mówiąc, za świadka pewnych zakłóceń w mechanizmie ejakulacji, odbijających się ujemnie na zdolności zapładniającej nasienia. Nie stwierdzono dotychczas wyraźnych różnic między poszczególnymi rodzajami drobnoustrojów w niekorzystnym oddziaływaniu na zdolność zapładniającą nasienia, natomiast stwierdzono, że między ilością wyjściową drobnoustrojów a zdolnością zapładniającą nasienia, istnieje wyraźna korelacja. Stąd wypływa wniosek praktyczny, że przy badaniach mikrobiologicznych w celu ustalenia zanieczyszczeń bakteryjnych bardziej istotne jest określenie ilości drobnoustrojów w nasieniu, niż ich różnicowanie rodzajowe lub gatunkowe.

Z kolei należy się zastanowić nad potrzebą i możliwościami praktycznego zastosowania mikrobiologicznych badań nasienia, jako jednego z elementów selekcji ejakulatów do unasienienia i elementu oceny ogólnych warunków higienicznych w zakładzie unasieniania. Jak wynika z badań *Romaniuka*, który uzyskał dobre wyniki unasieniania, ponad 10% ejakulatów, uznanych na podstawie badania obowiązującego za przydatne do unasieniania, wykazało zawartość ponad 500.000 drobnoustrojów na ml, a użyte do unasieniania, u ponad 14% krów unasienianych, dało o 8% gorsze wyniki unasieniania, aniżeli pozostałe ejakulatory. Należy przeto sądzić, że odrzucanie ejakulatów silnie zanieczyszczonych drobnoustrojami spowodowałoby podniesienie ogólnego odsetka zacieleń o 1--2%. W zakładach, w których stopień zanieczyszczenia nasienia ejakulatów jest wyższy, niż w zakładzie badanym przez *Romaniuka*, zwiększenie skuteczności unasieniania mogłoby być nawet większe. Biorąc jednak pod uwagę, że przy średnim zanieczyszczeniu nasienia buhajów stacyjnych, przekraczającym 500.000 drobnoustrojów/ml, około 40% ejakulatów wykazuje silne zanieczyszczenie nasienia, należy mieć zastrzeżenia, czy zakład może odrzucić wszystkie znacznie zanieczyszczone ejakulatory. Sparaliżowałoby to zupełnie działalność zakładu. W tym przypadku potrzebna jest nie selekcja, lecz generalna poprawa warunków pielęgnacji i eksploatacji buhajów, a o potrzebie takiej poprawy winny sygnalizować wyniki ogólnej kontroli higienicznej nasienia.

Zakładając więc, że potrzeba badań mikrobiologicznych nasienia w celu określenia stopnia zanieczyszczenia jest uzasadniona, na-

leży rozpatrzyć, jakie badania i metody należałoby wprowadzić, ażeby zwiększyć ogólną skuteczność unasieniania. W rachubę wchodzi dwa rodzaje badań: a) bieżąca kontrola ejakulatów, w celu odrzucenia ejakulatów silnie zanieczyszczonych i b) okresowa ogólna ocena higieniczna nasienia, produkowanego przez zakład unasieniania.

a) Czy istnieje możliwość, biorąc pod uwagę aktualny tryb i organizację pracy w zakładach, bieżącej mikrobiologicznej kontroli ejakulatów? Prace związane z pobraniem, oceną i przygotowaniem nasienia do wysyłki powinny być wykonane szybko, nie może być więc przestojów. Z tej przyczyny, z reguły rezygnuje się z bardziej precyzyjnych, ale czasochłonnych metod na korzyść metod mniej dokładnych, ale szybkich. Nawet najbardziej szacunkowe i proste metody bakteriologiczne są czasochłonne, w porównaniu z metodami stosowanymi na co dzień w inseminacji, stąd wprowadzenie obowiązku bieżącej kontroli bakteriologicznej wszystkich ejakulatów trzeba uważać za nierealne. Wydaje się jednak, że całkowite odrzucenie tej pomocniczej metody selekcji ejakulatów, tylko dlatego, że jest czasochłonna, byłoby nieuzasadnione. W następujących przypadkach badanie takie należy uznać za celowe i pożyteczne: przy ocenie tzw. ejakulatów „wymuszonych”, tzn. oddanych po kilku bezowocnych próbach, i przy ocenie ejakulatów od buhajów dających nasienie bez zarzutu, lecz wykazujące obniżoną zdolność zapładniającą.

Istnieją co najmniej 3 metody szybkiej mikrobiologicznej oceny nasienia, pozwalające wykryć ejakulatory silnie zanieczyszczone, a mianowicie: próba katalazowa, zmodyfikowana przez Kazde, metoda Breeda oraz zwykłe morfologiczne badanie nasienia. Należałoby doświadczalnie sprawdzić, która z tych metod byłaby najbardziej przydatna dla zakładów unasieniania.

Jeżeli chodzi o okresową ogólną ocenę higieniczną nasienia, nic nie stoi na przeszkodzie w stosowaniu metod bardziej dokładnych, jak np. metoda liczenia kolonii bakteryjnych wyrosłych na płytce z pożywką stałą, przy czym proponuję następujące oceny ogólnych warunków higienicznych w zakładzie, na podstawie średniej ilości drobnoustrojów, w pierwszych ejakulatach wszystkich buhajów zakładu:

Poniżej 50.000 drobnoustrojów na ml bardzo dobre,

50—100.000 drobnoustrojów na ml dobre,

100—200.000 drobnoustrojów na ml zadowalające,

200—400.000 drobnoustrojów na ml dostateczne,

powyżej 400.000 drobnoustrojów na ml niedostateczne.

Ocena ta przeprowadzana standaryzowaną metodą przez wszystkie WZHW dawałaby możliwość porównywania ogólnych warunków higienicznych w poszczególnych zakładach unasieniania, a analiza przyczyn silnego zanieczyszczenia nasienia mogłaby w znacznym stopniu przyczynić się do poprawy ogólnych wyników unasieniania.

Uwagi końcowe. Przedstawione w niniejszym referacie fakty dotyczące znaczenia zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia posłużyły do wysunięcia pewnych propozycji dotyczących zastosowania bieżących i okresowych mikrobiologicznych badań nasienia w celu poprawienia metody oceny nasienia. Propozycji tych nie uważam za wiążące, należy je raczej traktować jako materiał wyjściowy do dyskusji nad potrzebą i metodami kontroli bakteriologicznej nasienia dla ustalania stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego i usprawnienia metod oceny przydatności nasienia.

Piśmiennictwo

1. Alford J. A.: (1953). The occurrence of bacteria resistant to penicillin, streptomycin and sulfanilamide in diluted bull semen. *J. Dairy Sci.*, 36, 1697.
2. Almqvist J. O., Prince P. W., Reid J. J.: (1949). Bacteriological studies of bovine semen. *J. Dairy Sci.*, 32, 543.
3. Baier W., Leidl W., Mahrta A., Schröl M.: (1955). Über das Pyocyaneum Problem in der künstlichen Besamung. *B. M. Tierärztl. Wschr.* 63, 157.
4. Bratke E.: (1952). Vorkommen und Bedeutung von *Corynebacterium renale* und *pyogenes* bei der künstlichen Besamung des Rindes. *B. M. Tierärztl. Wschr.* 65, 247.
5. Bush L. J., Ludwick T. M., Ferguson L. C., Ely F.: (1950). The effect of bacteria on the fertility of bovine semen. *J. Dairy Sci.*, 33, 633.
6. Buxton C. L., Matthews C.: (1950). Spermicidal bacteria. *JAVMA.* 67, 390.
7. Cembrowicz H. J.: (1952). Sporadic and specific infections in artificial insemination practice. *Congr. Phys. Path. Reprod. Copenhagen*, 121.
8. Cembrowicz H. J., Osborne A. D.: (1961) The effect of preputial cavity treatment on the number and types of bacteria in semen samples and sheath washings. *Pap. IV Congr. Anim. Reprod.* III, 468.
9. Edmondson J. E., Tallman K. L., Herman H. A.: (1943). A study of the types of bacteria in bovine semen and their effect upon motility. *Univ. of Missouri.*
10. Foote R. H., Bratton R. W.: (1951). Motility of spermatozoa and control of bacteria in bovine semen exten-

- ders containing sulfanilamide, polymyxin and aureomycine. *J. Dairy Sci.*, 33, 539.
11. Gargula H.: (1965). Badania nad wpływem niektórych drobnoustrojów mleka na żywotność nasienia buhaja in vitro. *Inst. Wet.*
 12. Goetze: (1950). Paarungs und Besamungsinfektionen beim Rind. *DTW.* 57, 377.
 13. Goertler V.: (1954). Die Bedeutung der Feststellung von *Bacterium pyocyaneum* im Praeputium und Sperma bei Besamungsbullen. *Monh. Vet. Med.*, 9:1.
 14. Gunsalus I. C., Salisbury G. W., Willet E. L.: (1941). The bacteriology of bull semen. *J. Dairy Sci.* 24, 911.
 15. Grabowski K.: (1965). Informacja osobista.
 16. Hancock J. L., Kelly W. R.: (1948). *Corynebacterium pyogenes* in bull semen. *Vet. Rec.* 60, 669.
 17. Hendrikse J.: (1960). Het bacteriegehalte van het sperma van gezonde stieren. *Dyss. Utrecht.*
 18. Herrick J. B.: (1952). Examination of a bull. *Am. Vet.* 33, 620.
 19. Hubrig Th., Wohanka K.: (1961). Untersuchungen über die Rolle von *C. pyogenes* bei Fruchtbarkeitsstörungen des Rindes. *Pap. IV. Congr. Anim. Reprod. Hague.* III, 488.
 20. Hubrig Th., Wohanka K.: (1961). Untersuchungen über die Bedeutung der Streptokokken als Erreger von Paarungs und Besamungsinfektionen des Rindes, IV. *Int. Congr. Anim. Reprod.* III, 521.
 21. Jaśkowski L., Romaniuk J.: (1957). Badania nad konserwacją nasienia buhaja. I. Warunki konserwacji nasienia w termosach z lodem. *R.N.R.* 68-E-2, 173.
 22. Jaśkowski L.: (1954). Badania nad zarazą rzesistkową. I. Występowanie enzootii w Polsce. *R.N.R.-E-66-2.* 153.
 23. Kazda J.: (1961). Die Häufigkeit des Auftretens von Mikroorganismen in der Samenflüssigkeit und den Geschlechtsorganen von Bullen und der Einfluss der am öftesten auftretenden Bakterien auf die Samenfadens. *Konfer. RWPG. Karlove Vary.*
 24. Latała J., Kozłowski M.: (1963). Flora bakteryjna konserwowanego nasienia buhaja. *Med. Wet.* 19, 644.
 25. Matthews C. E., Buxton C. L.: (1951). Bacteriology of the cervix in cases of infertility. *Fert. Steril.* 2, 45.
 26. Marinov P.: (1961). The effects of certain microorganisms on the viability of spermatozoa. *IV. Int. Congr. Anim. Reprod.* III, 484.
 27. Ognianov A.: (Cyt. wg Hendrikse, 1960).
 28. Romaniuk J.: (1959). Badania nad wpływem techniki pobierania nasienia na występowanie rzesistków w ejakulatach buhajów zakazonych. *Roczn. Nauk Roln., sekcja E.-69-2.* 287.
 29. Romaniuk J.: (1965). Badania nad wpływem niektórych drobnoustrojów występujących w nasieniu na jego zdolność zapładniającą. *Inst. Wet.*
 30. Rommel W.: (1961). Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Pathogenität von *C. Pyogenes* im Genitale des Rindes während des Brunstzyklus. *IV. Int. Congr. Anim. Reprod.* III, 503.
 31. Scheeser P.: (1951). *Ref. w B. M. Tierärztl. Wschr.* 58, 148.
 32. Stützing E.: (1953). Untersuchungen über die Begleitflora des Bullenspermas auf einer niederrheinischen Besamungsstation. *Diss. München.*
 33. Weisz K., Raith H.: (1953). Vergleichende Untersuchungen über den Keimgehalt der Spermaproben von Stieren nach Zusätzen bakteriostatischer Substanzen. *W. Tierärztl. Mschr.* 40, 6.

Adres autora: prof. dr Lech Jaśkowski, Bydgoszcz, ul. Świerczewskiego 35.

STEFAN JACZEWSKI

Współzależność między wartością oporu elektrycznego nasienia buhajów a procentem zapłodnień krów unasienionych tym nasieniem

Z Katedry Ogólnej Hodowli Zwierząt WSR we Wrocławiu
Kierownik: doc. dr BOLESŁAW NOWICKI

W poszukiwaniu metod oceny jakości nasienia sięgnięto do aparatury elektrycznej. Rothschild (3) stwierdził, że nasienie buhaja i tryka wykazuje różny opór elektryczny, i że zależy on od aktywności plemników. Bishop i wsp. (1) wykazali, że istnieje wyraźna współzależność między rzeczywistą płodnością buhaja, a częstotliwością zmian oporu elektrycznego nasienia.

Cummings (2) porównywał wyniki oporu

elektrycznego nasienia buhajów, z wynikami unasieniania ponad 35000 krów. Aczkolwiek nie obliczył on współczynnika korelacji między tymi cechami, to jednak dochodzi do wniosku, że ocena nasienia na podstawie jego oporu elektrycznego jest najlepsza.

Celem niniejszych badań było obliczenie współczynnika korelacji między wartością oporu elektrycznego nasienia buhajów, a uzyskanym procentem zapłodnień krów, po jedno-