

JACEK KRÓLIŃSKI

Próby leczenia buhajów zakażonych przez *Pseudomonas aeruginosa*

Z Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Ostatnie publikacje na temat zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia i wypłuczyn z napletka buhajów wskazują na wzrost liczby zakażeń układu płciowego przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas* (5, 8, 10, 13). Drobnoustroje te, zaliczane do grupy warunkowo patogennych, izolowane są z wypłuczyn jak również nasienia świeżego i mrożonego (5, 8, 13). Temperatura ciekłego azotu -196°C , w jakiej konserwowane jest nasienie mrożone, nie chroni go przed infekcją (9). Zaobserwowano, że *Ps. aeruginosa* częściej występuje w materiale pochodzącym od buhajów z Zakładów Unasieniania, aniżeli w próbach pobranych od buhajów aukcyjnych lub przebywających w punktach populacyjnych (8).

Obecność *Ps. aeruginosa* w wypłuczynach nasuwa duże trudności przy wykrywaniu mętlika płodowego (*Vibrio foetus*) z powodu przerastania podłoża namnażającego (5). Wpływ *Ps. aeruginosa* na żywotność plemników w nasieniu, skuteczność zabiegów unasieniania oraz na narząd płciowy krów nie jest dokładnie poznany, a poglądy badaczy na to zagadnienie różnią się znacznie między sobą (2, 3, 4, 6, 10, 11, 12).

Jak wynika z piśmiennictwa, głównym siedliskiem bakterii zanieczyszczających nasienie jest worek napletkowy, z którego mikroflora rodzaju *Pseudomonas* może przedostawać się do cewki moczowej i głębszych odcinków układu płciowego buhaja (4, 8, 10). Potwierdzeniem tego jest fakt częstszego występowania bakterii z rodzaju *Pseudomonas* w wypłuczynach, aniżeli w nasieniu buhajów (8). Uzasadnia on okresowo wykonywane zabiegi odkażania worka napletkowego, zmierzające do obniżenia stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego ejakulatów.

Celem niniejszej pracy było ustalenie wpływu odkażania napletka na częstość izolacji *Ps. aeruginosa* z wypłuczyn pochodzących z worka napletkowego oraz po jakim czasie występuje nawrót infekcji stadników.

Materiał i metody

Zabiegowi odkażania napletka poddano 87 buhajów rasy ncb, nczb i charolaise w różnym wieku, stacjonujących w dwóch Zakładach Unasieniania (A i B). Przed zabiegiem pobierano wypłuczyny z worka napletkowego przy pomocy metalowych kateterów zakończonych gumową gruszką. Do wypłuczyn używano płynu diagnostycznego o następującym składzie: bulion mięsny, pepton, NaCl i NaOH. Płyn ten w ilości 20 ml wprowadzano do napletka i po dokładnym rozmasowaniu zasysano kateterem do gruszki, a następnie zlewano do wyjałowionych probówek. Posiewy materiału

na agar zwykły i z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej robiono po upływie około 3 godzin od pobrania. Po inkubacji w temperaturze 37°C w ciągu 24–48 godzin *Ps. aeruginosa* identyfikowano na podstawie wyglądu kolonii, ich zabarwienia, hemolizy, charakterystycznego zapachu oraz badania mikroskopowego preparatu barwionego metodą Grama.

Zabieg odkażania polegał na wprowadzeniu w okolicę sklepienia napletka 100 ml odpowiedniego środka i rozmasowaniu zewnętrznych ścian worka napletkowego w ciągu około 2 minut. Ujście napletka podwiązano na około 15 minut, po czym przewiązki zdejmowano i nadmiar płynu wypływał na zewnątrz. Do odkażania użyto 3% roztworu Vagothylu i preparatu Biolugol w rozcieńczeniu 1:250.

Określano wrażliwość niektórych wyizolowanych szczepów, namnażając je na bulionie zwykłym w ciągu 24 godzin w temp. 37°C . Po namnożeniu pobierano z probówki 0,1 ml zawiesiny bakteryjnej i dodawano 0,9 ml użytego w doświadczeniu środka odkażającego. Po 5 i 10 minutach ekspozycji przenoszono zawiesinę do probówki z bulionem i powtórnie poddano 24 godz. namnażaniu. W przypadku zmętnienia płynnego podłoża (wzrost *Ps. aeruginosa*) wykonywano posiew na agar zwykły z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej. W okresie przeprowadzania zabiegów i badań kontrolnych, stanowiska buhajów były dokładnie oczyszczone i odkażane przy pomocy preparatu Polena — Jod.

Zakład A. Wstępne badanie bakteriologiczne wypłuczyn pobranych od 40 buhajów stacjonujących w Zakładzie wykazało obecność *Ps. aeruginosa* w 14 próbach (35,0%). Wszystkie buhaje poddano zabiegowi odkażania napletka. Jako środka terapeutycznego użyto 3% roztworu Vagothylu. Badanie kontrolne przeprowadzone w piątym dniu po zabiegu ujawniło obecność drobnoustrojów z rodzaju *Pseudomonas* w 13 próbach (32,5%). Pośród 14 buhajów zakażonym pałeczkami ropy błękitnej przed leczeniem, w 9 przypadkach wyosobniono te drobnoustroje z napletka po zabiegu. Dodatnie wyniki pozostałych 4 prób dotyczyły buhajów prawdopodobnie świeżo zakażonych.

Znikomy efekt leczenia postanowiono wyjaśnić, przeprowadzając próbę wrażliwości *in vitro* 10 wyizolowanych szczepów na 3% roztwór Vagothylu oraz na preparat Biolugol rozcieńczony w stosunku 1:250. Okazało się, że 6 pośród 10 szczepów poddanych w ciągu 5 minut działaniu 3% roztworem Vagothylu wykazywało wzrost na podłożu namnażającym, co świadczy o braku wrażliwości na zastosowany lek w określonym stężeniu. Ponieważ wyizolowane szczepy były wrażliwe na roztwór Biolugolu, zakażone buhaje poddano zabiegowi przy użyciu tego preparatu. Z ogólnej liczby 13 zakażonych i poddanych leczeniu buhajów, obec-

ność zarazka w 5 dniu po jednorazowym zabiegu obserwowano w 3 przypadkach (23,0%). W drugim badaniu kontrolnym wszystkich 40 buhajów po upływie 19 dni od wstępnego zabiegu, stwierdzono obecność pałeczki ropy błękitnej w 18 próbach (45,0%). Po 34 dniach zakażonych buhajów było 17, co stanowi 42,5%.

Zakład B. Wstępnym badaniem bakteriologicznym wypłuczyn było objętych 47 buhajów, przy czym u 21 sztuk (44,6%) rozpoznano zakażenie przez *Ps. aeruginosa*. Zabieg odkażania napletka wszystkich buhajów wykonano przy użyciu 3% roztworu Vagothylu. Pierwsze badanie kontrolne po 3 dniach od zabiegu wykazało obecność zarazka w wypłuczynach od 4 sztuk (9,1%), drugie po dwóch miesiącach, zakażenie układu płciowego 5 buhajów (10,6%). W ostatnim badaniu kontrolnym po upływie 3 miesięcy od zabiegu obecność *Ps. aeruginosa* stwierdzono w wypłuczynach pobranych od 20 stadników (42,8%).

Omówienie wyników

Na podstawie uzyskanych wyników leczenia należy sądzić, że jednorazowy zabieg płukania napletka nie doprowadza do trwałego wyleczenia wszystkich buhajów. Efektywność leczenia uzależniona jest od wrażliwości szczepów na zastosowane środki lecznicze, nasilenia zakażenia oraz od warunków zoohigienicznych w pomieszczeniach inwentarskich. Dobór odpowiednich środków leczniczych celem likwidacji zakażenia napletka pałeczkami ropy błękitnej winien być oparty na wynikach badania wrażliwości *in vitro* wyizolowanych szczepów. Użycie antybiotyków w likwidacji tej przypadłości nie rokuje pozytywnych efektów terapii, ponieważ jak podają autorzy, *Ps. aeruginosa* jest odporny na większość antybiotyków stosowanych szeroko w terapii zakażenia układu płciowego buhajów (1, 7). Drobnoustroj ten wykazuje wrażliwość na streptomycynę oraz sulfonamidy (7). Dlatego też można przyjąć, że użycie chemioterapeutyków w lecznictwie powinno dać lepsze efekty choćby z uwagi na większą częstotliwość pojawiania się szczepów opornych na antybiotyki, aniżeli na chemioterapeutyki.

Metoda jednorazowego płukania napletka środkami odkażającymi nie jest wystarczająca do wyeliminowania drobnoustrojów z końcowego odcinka przewodu moczopłciowego. Drobnoustroje znajdujące się w tym odcinku narządu płciowego buhaja mogą na drodze mechanicznej przedostawać się do napletka razem z moczem lub nasieniem. Temu też między innymi należy przypisać możliwość powtórnego namnażania się drobnoustrojów do ilości zbliżonej do stanu wyjściowego. Aby tego uniknąć, celowe jest powtórzenie płukania napletka po dwóch, a w razie konieczności po czterech dniach od pierwszego zabiegu. Zwraca uwagę sposób przenoszenia się zarazka z jednego zwie-

rzęcia na drugie. Częstsze występowanie zakażonych prób pochodzących od buhajów przebywających w jednej części obory wydaje się przemawiać za nieświadomym przenoszeniem zarazków przez personel obsługi za pośrednictwem sprzętu służącego do pielęgnacji. Na szybkość namnażania się flory bakteryjnej w napletku buhaja rzutuje również sposób przygotowania zestawu inseminacyjnego, a także sama technika pobierania nasienia. Zaobserwowano bowiem, że w Zakładzie A, w którym warunki zoohigieniczne budziły zastrzeżenia, szybciej dochodziło do reinfekcji buhajów niż w Zakładzie B, w którym wymogi te były spełnione.

Wnioski

1. Jednorazowe płukanie napletka przy użyciu 3% roztworu Vagothylu oraz preparatu Biogulog w rozcieńczeniu 1:250, zmniejsza częstotliwość występowania drobnoustrojów z rodzaju *Pseudomonas* w wypłuczynach.

2. Szybkość ponownego namnażania się flory bakteryjnej w napletku po leczeniu uzależniona jest w dużej mierze od warunków zoohigienicznych, panujących w Zakładzie.

3. Przed przystąpieniem do likwidacji zakażenia worka napletkowego buhaja przez *Ps. aeruginosa*, należy określić wrażliwość wyobnionych szczepów na chemioterapeutyki, które mają być użyte do tego zabiegu.

Piśmiennictwo

1. Anusz Z.: *Medycyna Wet.* 19, 514, 1963.
2. Gamčík P.: *Veterinarství* 9, 211, 1959.
3. Grabowski K.: Badania nad wpływem flory bakteryjnej nasienia na przeżywalność plemników w rozcieńczonym nasieniu zdrowych buhajów. Praca doktorska WSR Wrocław 1966.
4. Jaśkowski L.: *Medycyna Wet.* 21, 552, 1965.
5. Korpolińska M.: *Medycyna Wet.* 29, 475, 1973.
6. Kozłowski S.: *Medycyna Wet.* 25, 26, 1969.
7. Króliński J.: *Medycyna Wet.* 31, 82, 1975.
8. Króliński J., Obuchowska-Duś B.: *Medycyna Wet.* 31, 169, 1975.
9. Piasecka-Serafin M., Branny J., Wierzbowski S.: *Medycyna Wet.* 25, 497, 1969.
10. Ramisz A., Damm A., Wójcikiewicz S., Stasiak A.: *Medycyna Wet.* 23, 741, 1967.
11. Trueblood M. S.: *J. Dairy Sci.* 40, 149, 1957.
12. Vlček Z.: *Vet. Med. Praga* 7, 11, 1966.
13. Wierzbowski S., Schmyd D.: *Medycyna Wet.* 32, 339, 1976.

Adres autora: lek. wet. Jacek Króliński, ul. Komuny Paryskiej 63a/6, 50-452 Wrocław.

Substancje obce dodawane do żywności. (Lebensmittelzusatzstoffe). *Alimenta* 15, 1976, nr 4.

Numer czwarty szwajcarskiego czasopisma „Alimenta” zawiera m. in. trzy artykuły poświęcone wybranym zagadnieniom związanym z dodawaniem substancji obcych do żywności. Prezentowane prace dotyczą historycznego rozwoju wym. substancji od czasów najdawniejszych po dzień dzisiejszy, ich oceny biologicznej oraz oceny z punktu widzenia nowego prawa żywnościowego, stanowiąc źródło interesujących i nowych wiadomości.

a. a.