

ELŻBIETA WAYDA

Znaczenie dodatku antybiotyków do nasienia buhajów

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Zwierząt Instytutu Zootechniki,
32-063 Balice k. Krakowa

Obecność różnorodnej flory bakteryjnej w nasieniu należy uważać za zjawisko naturalne. Wynika to z faktu, że worek napletkowy jest miejscem vegetacji wielu drobnoustrojów i w czasie wysuwania prącia musi dochodzić do mechanicznego zgarniania pewnej ich ilości. Dostając się w okolice ujścia kanału moczopłciowego, a nawet stale tam vegetując są następnie splukiwane do nasienia w czasie ejakulacji. Najczęściej są to bakterie wszechobecne, ale mogą to być również bakterie warunkowo-chorobotwórcze lub chorobotwórcze.

Bakterie mogą dostawać się do nasienia również w toku produkcji nasienia. Przy czym są to głównie bakterie wszechobecne. W praktyce zakładów unasieniania stosuje się sposoby zapobiegania tym zanieczyszczeniom, które mogą być bardzo skuteczne i mogą pozwalać na uzyskiwanie nasienia o nieznacznym stopniu zanieczyszczenia bakteriami. Wymaga to jednak ścisłego przestrzegania reżimu jałowego postępowania w toku całego procesu od pobrania nasienia aż do wprowadzenia do dróg rodnych samicy.

Dodatek antybiotyków, a czasem również sulfonamidów do nasienia ma zarówno zabezpieczyć samicę przed infekcją za pośrednictwem zakażonego nasienia, jak też zapobiegać ewentualnym ujemnym wpływom flory bakteryjnej w nasieniu na płodność tego nasienia. Najczęściej dodawanymi antybiotykami są penicylina i streptomycyna. Mechanizm działania penicyliny polega na hamowaniu biosyntezy ścian komórek bakteryjnych. Destrukcyjny wpływ penicyliny na usieczowanie liniowych łańcuchów peptydoglikanu ujawnia się brakiem tworzenia się mostków peptydowych w peptydoglikanie, prowadzi do degeneracji ściany komórkowej bakterii i dalej do zahamowania wzrostu i rozwoju komórki. Streptomycyna wywołuje zaburzenia w układach enzymatycznych, niezbędnych do podziału komórek bakteryjnych. Polega to na tym, że w czasie działania antybiotyku wzrost komórki trwa nadal, natomiast nie zachodzą podziały komórek na skutek zaburzeń ostatniego etapu cyklu rybosomowego. Streptomycyna powoduje również upośledzenie cyklu Krebsa.

Prowadzone w Instytucie Zootechniki badania zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia ujawniły, że mimo obowiązującego wg instrukcji rozcieńczania nasienia rozcieńczalnikiem z dodatkiem antybiotyków, stwierdza się w 50% wyprodukowanych ejakulatów zakażenie w różnym stopniu florą bakteryjną (26, 27, 29). Stwierdzone też różnice w stopniu zanieczysz-

czenia ejakulatów, pochodzących z różnych zakładów, oraz zmienność zaznaczająca się w kolejnych latach, zwróciły uwagę na celowość podjęcia prac, które doprowadziłyby do naświetlenia tła obserwowanego zjawiska.

Zwiększający się obrót nasieniem w skali międzynarodowej spowodował zwrócenie szczególnej uwagi na walory higieniczne tego produktu i w rezultacie nasienie będące przedmiotem handlu jest z zasady wolne od zanieczyszczeń bakteryjnych. Sytuacja ta, w zestawieniu ze stwierdzanym znacznym zanieczyszczeniem nasienia produkowanego w Polsce, skłoniła do przeprowadzenia krytycznej analizy praktyki w zakresie dodawania antybiotyków do nasienia, stosowanej czy to w Polsce, czy też w krajach, które ze względu na swoją pozycję w międzynarodowym obrocie nasieniem kładą szczególny nacisk na to zagadnienie.

Zdania na temat kontroli wzrostu liczby bakterii w nasieniu są już od dawna podzielone. Bush (7) stwierdził ścisłą zależność między liczbą bakterii znajdujących się w nasieniu rozcieńczonym a jego płodnością. Szczególnie *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas* sp. i *Micrococcus* sp. miały wpływać niekorzystnie na nasienie. Natomiast Hakkesteeft (15) i Prince (22) nie wykazali takiej zależności. Stwierdzali obecność *Ps. aeruginosa* w nasieniu zarówno o wysokiej, jak i niskiej płodności. Uważali, że dodatek antybiotyków ma zabezpieczyć samicę przed możliwością zakażenia bakteriami znajdującymi się w nasieniu.

Badania nad hamującym działaniem penicyliny, streptomycyny i sulfonamidów na wzrost flory bakteryjnej prowadził Alford (5). Stwierdził on, że nawet w obecności czynników bakteriostatycznych liczba bakterii była wysoka, ale nie zmniejszała płodności nasienia. Również wcześniejsze badania Hennauxa, Dimitropoulosa i Cordieza (18) wskazywały, że dodatek antybiotyków, mających działać bakteriostatycznie, też nie osłabiał ruchliwości plemników w nasieniu rozcieńczonym rozcieńczalnikiem cytrynianowo-żółtkowym. Van Dieten (25), Hendrikse i Joling (16) oraz Adamal (1) także prowadzili badania nad wpływem dodatku penicyliny i streptomycyny na płodność nasienia, lecz nie znaleźli takiej zależności.

Oprócz dodatku penicyliny i streptomycyny, próbowano stosować też inne antybiotyki. Albertsen (4) zastosował oksytetracyklinę w dawce 500 µg/ml rozcieńczalnika. Dawka ta była bakteriobójcza w niewiele mniejszym stopniu niż taka sama dawka streptomycyny, lecz dzia-

łała plemnikobójczo. Natomiast mniejsza dawka była mało skuteczna. Innym antybiotykiem wprowadzanym przez Foote'a i Brattona (14) do rozcieńczalnika nasienia była chlorotetracyklina, która jednak w dawce 50 µg/ml działała plemnikobójczo. Albertsen (14) wykazał, że chlorotetracyklina w tej dawce, w obecności żółtka kurzego, ma tylko niewielkie działania bakteriostatyczne lub nawet nie działała w ogóle na *Br. abortus*, *Camp. fetus* i *Coryn. pyogenes*. Wypróbowano również chloromycetynę (12). Badania nad zastosowaniem w rozcieńczalniku polimyksyny B, D i E prowadzili Foote i Bratton (14). Zastosowana w rozcieńczalniku cytrynianowo-żółtkowym dawka 200 µg/ml wykazywała silne działanie bakteriobójcze, równocześnie nie działając toksycznie na plemniki. Polimyksyna B weszła do stałe do zestawu antybiotyków dodawanych do nasienia w USA (8).

W rezultacie tych doświadczeń, najczęściej stosowanymi antybiotykami przy rozcieńczaniu nasienia stała się penicylina i streptomycyna. Foote i Salisbury (13) stwierdzili tylko niewielkie działanie toksyczne penicyliny na plemniki. Prace Myersa i Almquista (21) wykazały, że plemniki tolerują obecność streptomycyny do dawki 1000 µg/ml rozcieńczalnika. Easterbrooks (11, 12), używając tylko 100 µg/ml rozcieńczalnika, uzyskał znaczny wzrost procentu zacięć.

Przez wiele lat niewątpliwe znaczenie ze względu na często występujące zakażenie buhajów *Camp. fetus* miał dodatek antybiotyków, którego celem było zabezpieczenie krów przed ryzykiem zakażenia zarazą metwиковą. Zajmujący się tym zagadnieniem Easterbrooks (11, 12) stwierdził, że użycie dawki 500 µg streptomycyny/ml jest wystarczające do wyeliminowania *C. fetus*. Jednak Elliot (10) stwierdził, że nie zawsze dodatek 500 j.m. penicyliny i 500 µg streptomycyny skutecznie eliminuje *C. fetus*. Adler i Rasbech (2) użyli do badań nasienia buhaja zakażonego *C. fetus* i stwierdzili wyższy procent zacięć przy stosowaniu dawki 5000 µg siarczanu dehydrostreptomycyny na ml niż przy dawce 1000 µg/ml. Jednak w warunkach praktycznych zalecali stosowanie dawki 750 µg na ml rozcieńczalnika jako wystarczającej.

Dalsze badania w celu wyeliminowania *C. fetus* prowadzono (10) używając kombinacji różnych antybiotyków. Najlepszą z nich okazało się zestawienie polimyksyny B — 1000 j. m./ml penicyliny — 500 j. m./ml i streptomycyny — 2000 µg/ml. Chociaż efektywność działania polimyksyny B w dużym stopniu jest hamowana w rozcieńczalniku żółtkowym i mlekowym, to w połączeniu z penicyliną i streptomycyną okazała się skuteczna nawet w obecności żółtka. Stosowany w Polsce zestaw, obejmujący penicylinę i streptomycynę, można w tym kontekście uważać za może nie zawsze skuteczne zabezpieczenie w przypadku nasienia zakażonego *C. fetus*. Wskazywać na to mogą znane w kraju przypadki rozniesienia infekcji za pośrednictwem nasienia mrożonego.

Z kolei nasunął się problem nowy, a mianowicie niekorzystny wpływ niektórych składników rozcieńczalnika na aktywność antybiotyków w rozcieńczonym nasieniu. Hamujący wpływ żółtka kurzego w rozcieńczalniku cytrynianowo-żółtkowym na działanie antybiotyków potwierdził Albertsen (3). Również Dunn (cyt. 9) podaje, że dodatek glicerolu może znacznie obniżyć aktywność streptomycyny. Bartlett (6) stwierdza, że udowodniono ujemny wpływ glicerolu na działanie antybiotyków dodawanych do rozcieńczalnika nasienia. Potwierdził to również Sullivan (24). Zagadnienie to nie zostało jednak do końca wyjaśnione.

Ważną innowacją, wynikającą poniekąd z tych rozważań, było dwustopniowe wprowadzanie antybiotyków, tzn. dodawanie bezpośrednio do świeżo pobranego nasienia pierwszej dawki antybiotyków, a drugiej do rozcieńczalnika. Howard (19) przeprowadził doświadczenie na nasieniu zakażonym *C. fetus*, stosując różne rozcieńczalniki i traktując nasienie antybiotykami dwustopniowo, tzn. dodając do nasienia zaraz po pobraniu 2000 µg streptomycyny, 1000 j. m. polimyksyny B/ml oraz do rozcieńczalnika 500 j. m. penicyliny, 500 j. m. polimyksyny B i 1000 µg streptomycyny/ml. Stwierdził, że tylko dwustopniowe dodawanie antybiotyków do nasienia i tylko w przypadku stosowania rozcieńczalnika cytrynianowo-żółtkowego i Tes-Tris-żółtkowego eliminowało *C. fetus*.

Jak wynika z zaleceń Certified Semen Services (8), w USA stosuje się dwustopniowy dodatek antybiotyków w rutynowej produkcji nasienia. Jednak okres przetrzymywania świeżego nasienia z antybiotykami przed rozcieńczeniem nie został, jak się wydaje, jeszcze ujednolicony.

W ostatnich kilku latach zwrócono uwagę na ryzyko infekcji mikoplazmami i ureaplazmami, do jakich dochodzić może za pośrednictwem nasienia. Stwierdzone przypadki tych infekcji u buhajów, a także niebezpieczeństwo przeniesienia schorzenia na krowy, doprowadziło do wprowadzenia antybiotyków o szczególnym działaniu na te drobnoustroje. W Czechosłowacji stosuje się lincospectin, który działa nie tylko na mikoplazmy, ale również wywiera wpływ hamujący na inne drobnoustroje, przy czym warte zaznaczenia jest jego działanie na *Ps. aeruginosa*.

Prowadzone od początku lat 80 prace nad zestawem antybiotyków, który pozwoliłby na pełną kontrolę w kierunku eliminacji ryzyka przeniesienia mikoplazm i ureaplazm uwzględniają posługiwanie się takimi antybiotykami jak: gentamycyna, tylozyna, erytromycyna, linkomycyna i spektinomycyna. Biorąc pod uwagę, że leczenie buhajów zakażonych mikoplazmami i ureaplazmami jest kosztowne, pracochłonne i może dawać uboczne, niepożądane następstwa, dekontaminacja nasienia pozostaje jedyną drogą postępowania. Wymogi stawiane w międzynarodowym obrocie nasieniem spra-

wiają, że dodatek antybiotyków o hamującym działaniu na rozwój miko- i ureaplazm jest wprowadzany do praktyki produkcji nasienia w krajach względnie organizacjach, zajmujących główne pozycje w handlu nasieniem.

Niezależnie od tych rozważań, których celem jest naświetlenie sytuacji w zakresie prowadzonych obecnie i dawniej prac, mających na celu eliminację zanieczyszczeń bakteryjnych, a także zakażeń bakteriami chorobotwórczymi czy warunkowo-chorobotwórczymi nasienia, musi się brać pod uwagę obowiązujące obecnie dążenie do produkcji nasienia pochodzącego od zwierząt wolnych od chorób zakaźnych. Produkcja nasienia wolnego od drobnoustrojów wywołujących określone, wiążące się z rozrodem infekcje jest w pełni możliwa i w praktyce realizowana już w wielu krajach. Można przyjąć, że tylko nasienie dające gwarancję wykorzystania go bez ryzyka przeniesienia choroby zakaźnej, znajdzie nabywcę na międzynarodowym rynku materiału genetycznego. Higienę produkcji nasienia można też starać się podnieść na taki poziom, aby dodatek antybiotyków do rozcieńczonego nasienia można było uważać za zbędny. Jako przykład może posłużyć praktyka stosowana w NRD (23), gdzie nie dodaje się antybiotyków do nasienia.

W Polsce stosowanie całego systemu zabezpieczania wychowalni i zakładów unasieniania przed ryzykiem infekcji, a tak samo przez dobór do wychowalni i zakładów unasieniania jedynie zwierząt wolnych od chorób zakaźnych może prowadzić do uzyskania nasienia pozbawionego bakterii chorobotwórczych. Równolegle ma istotne znaczenie również przestrzeganie zasad higieny podczas produkcji nasienia oraz przygotowywanie antybiotyków ściśle wg przepisów podanych w instrukcji prac laboratoryjnych dla SHiUZ.

Występujące stosunkowo często zanieczyszczenia bakteryjne nasienia produkowanego w kraju, o czym była mowa na początku, każe domniemywać, że może to być następstwem kilku nakładających się czynników. Pod uwagę można brać zmieniającą się jakość antybiotyków, błędy popełniane przy dodawaniu ich do nasienia, a także nie można wykluczyć zmian i różnic odporności niektórych szczepów bakteryjnych, występujących w nasieniu na dodawanie antybiotyków. Próby określenia rodzaju i roli stwierdzanych w nasieniu drobnoustrojów zostały przedstawione w artykułach przeglądowych Jaśkowskiego (20) i Wierzbowskiego (28). Oczywiście należy przede wszystkim brać pod uwagę często niedostateczne przestrzeganie zasad higieny produkcji nasienia.

Na podstawie przeprowadzonej analizy nawiązują się również pewne stwierdzenia i wnioski dotyczące zarówno planowych prac badawczych, jak też praktyki produkcji nasienia.

W zakresie dodawania antybiotyków istnieje potrzeba ustalenia warunków najlepszej skuteczności działania ich w kontekście produkcji

nasienia i konserwacji w stanie zamrożonym. Potrzebne jest także rozpatrzenie ewentualnego rozszerzenia spektrum dodawanych antybiotyków ze względu na zabezpieczenie przed przeniesieniem miko- i ureaplazm. Istotne znaczenie ma również podniesienie higieny produkcji nasienia tak, aby uzyskiwany produkt był jak najmniej zanieczyszczony. Natomiast w odniesieniu do zabezpieczenia nasienia przed ryzykiem zakażenia bakteriami chorobotwórczymi wydaje się, że jedynym skutecznym sposobem działania może być wprowadzenie zasady użytkowania jako producentów nasienia buhajów wolnych od chorób zakaźnych.

Piśmiennictwo

1. Aadland J.: Norsk Landbr. 21, 306, 1955.
2. Adler H. C., Rasbech N. O.: Nord. Vet. Med. 5, 211, 1953.
3. Albertsen B. E.: Rep. 2nd Int. Congr. Physiol. Path. Anim. Reprod. Artif. Insem. (Cpn) 1952, s. 130.
4. Albertsen B. E.: Bacteriological effect of antibiotics in semen diluent on pathogenic bacteria in bull semen. Praca dokt. Copenhagen, 1957.
5. Alford J. A.: J. Dairy Sci. 36, 1097, 1953.
6. Bartlett D. E.: FAO Anim. Prod. Health Paper, Rome 1981, s. 29.
7. Bush L. J., Ludwick T. M., Ferguson L. C., Ely F.: J. Dairy Sci. 33, 633, 1950.
8. Certified Semen Services CSS, Columbia, MO, 1950.
9. Dunn H. O.: Proc. 8th Ann. Conv. Natl Ass Artif. Breed., 1953, s. 196.
10. Elliot F. J., Murphy D. M., Bartlett D. E.: IV Int. Congr. AI, Hague 1961, s. 539.
11. Easterbrooks H. L., Heller P., Plastryge W. N., Elliot F. J.: J. Dairy Sci. 33, 737, 1950.
12. Easterbrooks H. L.: Fert. Steril. 2, 430, 1951.
13. Foote R. H., Salisbury G. W.: J. Dairy Sci. 31, 769, 1948.
14. Foote R. H., Bratton R. W.: J. Dairy Sci. 33, 539, 1950.
15. Hakkesteeft E.: Tijdschr. Diergeneesk. 74, 287, 1949.
16. Hendrikse J., Jolling K. F.: Rep. 2nd Int. Congr. Physiol. Path. Anim. Reprod. Artif. Insem. (Cph) 3, 117, 1952.
17. Foote R. H., Salisbury G. W.: J. Dairy Sci. 31, 763, 1948.
18. Hennauc L., Dimirapoulos E., Cordiez E.: Compt. rend. Soc. Biol. 141, 1272, 1947.
19. Howard T. H., Vasquez L. A., Amann R. P.: J. Dairy Sci. 63, 1596, 1982.
20. Jaśkowski L.: Medycyna Wet. 21, 552, 1965.
21. Myers R. M., Almquist J. O.: J. Dairy Sci. 10, 333, 1951.
22. Prince P. W., Reid J. J.: J. Dairy Sci. 32, 849, 1949.
23. Peter W., Pilz J., Jenicken W., Dezhelmer J.: Rinderbesamung. VVB Tierzucht Parezt. Berlin 1982.
24. Sullivan J. J., Elliot F. J., Bartlett D. E., Murphy D. M., Kuzdas C. D.: J. Dairy Sci. 49, 1509, 1966.
25. Van Dielen S. W. J.: Tijdschr. Diergeneesk. 78, 419, 1953.
26. Wierzbowski S., Kruczek G., Gądkiewicz A., Wierzbowski E.: Proc. Danish-Polish Conf. „Actual Biological and Hygienic Problems of Artif. Insem. in Cattle”, Pawlówice, 1975.
27. Wierzbowski S.: FAO Anim. Prod. Health Paper, Rome 1981, s. 21.
28. Wierzbowski S.: Medycyna Wet. 39, 66, 1982.
29. Wierzbowski S., Nowakowski W., Wayda E., Kuźniak S.: Medycyna Wet. 40, 234, 1984.

Adres autora: mgr inż. Elżbieta Wayda, ul. Włóczęków 11A/8, 30-103 Kraków

DASH K. M. — Oporność na kilka leków przeciwpasożytniczych *Trichostrongylus colubriformis*. (Multiple anthelmintic resistance in *Trichostrongylus colubriformis*). Aust. vet. J. 63, 45—47, 1986 (2)

Wyniki terenowe braku efektywności Levamisole i Oxfendazole w leczeniu trichostrongylozy u owiec przyczyniły się do podjęcia badań nad opornością *Trichostrongylus colubriformis* i nad występowaniem oporności tego pasożyta na kilka leków. Badania przeprowadzone na sztucznie zarażonych jagniętach, u których stosowano Levamisole lub Oxfendazole, względnie obydwa leki łącznie wykazały, że 32% *T. colubriformis* jest oporna na Levamisole, 19% na Oxfendazole i 12% na obydwa preparaty. Jednoczesne stosowanie Levamisole i Oxfendazole dawało efekt addycyjny. Naphthalophos w dawce 36,6 mg/kg wykazywał 93% efektywności w stosunku do szczepów *T. colubriformis* opornych na Levamisole i Oxfendazole.

G.