

1. Bielański A., Tischner M.: Przeszczepianie zarodków u zwierząt gospodarskich. AR, Kraków 1988.
2. Boultant A. M. P., Ruckerbauer G. M., Eaglesome M. D., Samagh B. S., Singh E. L., Hare W. C. D., Randall G. C. B.: Ann. Rech. Vet. 12, 385, 1981.
3. Eaglesome M. D., Mitchell D., Betteridge K. J., Randall G. C. B., Singh E. L., Samagh B. S., Hare W. C. D.: Vet. Rec. 111, 122, 1982.
4. Kaaden O. R.: Rinderproduktion 33, 14, 1987.
5. Lerner S. P.: Anim. Sci. 36, 176, 1986.
6. Marcinkowski K., Kassner J.: Weterynaria, Wrocław 44, 53, 1988.
7. Olson C., Rowe R. F., Kaja R.: Proc. 4th Int. Symposium on Bovine Leukosis Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, Boston, London, 1982, s. 361.
8. Thibier M.: Proc. 13th Conf. OIE Regional Comm. Europe, Madrid, 27-30 September 1988, s. 3.
9. Wierzbowski S., Smorąg Z., Wierchoś E.: Przenoszenie zarodków u bydła. Balice-Przysiek 1985, s. 10.

Adres autora: dr Jacek Króliński, ul. Gwarecka 7/5, 54-143 Wrocław

JÓZEF PILASZEK, MARIAN TRUSZCZYŃSKI

Rola środowiska w szerzeniu się infekcji narządu rodowego u bydła drobnoustrojami *Ureaplasma*

Zakład Mikrobiologii, Instytut Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

The role of environment on the distribution of infections of the reproductive tract caused by *Ureaplasma* microorganisms in cattle

The purpose of the work was to determine the role of contaminated environment by *U. diversum* as a source of infections of the reproductive tract in cattle. It has been found that the period of *Ureaplasma* microorganisms survival outside the animals is relatively short, i.e. within 24 hours limits. However, it is long enough to make possible infection of the preputial mucosa of bulls. In contrast, heifers are rarely infected under those conditions. Carriers of *U. diversum* play an important role in the infection: their faeces sustain a permanent infection of environment. It constitutes a source of infection for animals free from infection. For prophylactic purposes one should take into account the need of carries removal by use of chemotherapeutics. Besides, an important role plays hygiene of cowsheds.

każone przez *U. diversum* środowisko bytowania bydła może być uznane za potencjalne źródło infekcji u tych zwierząt.

Materiał i metody

Szczepu. W badaniach użyto szczepu laboratoryjnego *U. diversum* nr 368K. Był on wyosobniony od krowy z objawami grudkowego zapalenia sromu i pochwy (*vulvovaginitis granularis* — VVG).

Podłoża. Do izolacji i namnażania *U. diversum* użyto płynnego i stałego podłoża TP, opisanego uprzednio (8). Zwierzęta doświadczalne. Do badań użyto 2 buhajów i 2 jałówek w wieku około 18 miesięcy. Celem zlikwidowania ewentualnej wcześniej występującej infekcji wywołanej przez *U. diversum*, zwierzętom doświadczalnym podano domięśniowo Biotyl-200 w ilości 5 ml na 100 kg c.c. przez 6 kolejnych dni. Okres od podania ostatniej dawki preparatu do dnia, w którym przystąpiono do doświadczenia wynosił 14 dni lub więcej.

Materiał do badań laboratoryjnych. Od zwierząt doświadczalnych pobierano wymazy z błony śluzowej worka napletkowego lub pochwy za pomocą wacika. Również wacikiem pobierano materiał z podłogi stanowisk, w których przebywały zwierzęta doświadczalne. Do badań zmierzających do izolacji ureaplazm, użyto również trzech próbek, zawierających kał zmieszany z moczem. Pobrano je w odstępach kilkudniowych ze stanowiska buhaja zakażonego doświadczalnie *U. diversum*. Każdą z pobranych próbek, po dokładnym wymieszaniu, podzielono na trzy części. Jedną część przechowywano w temperaturze pokojowej, drugą w temperaturze lodówki, a trzecią wysuszono. Z dwóch pierwszych próbek materiał do badań pobierano przy pomocy wacików, a z części wysuszonej brano 100 mg materiału. W podobny sposób, lecz bez suszenia, postępowano z trzema próbkami gnojowicy pobranej z kanału ściekowego. Izolację ureaplazm przeprowadzono w dniu pobrania materiału, po 24 i 48 godzinach.

Doświadczenia zakażenia zwierząt. Dwa buhaje wolne od infekcji *U. diversum* w worku napletkowym oraz dwie jałowki nie posiadające tych zarodków w pochwie, umieszczono w stanowiskach bezściółkowych na 3 dni przed doświadczeniem. W tym czasie codziennie wykonywano badania w kierunku izolacji ureaplazm z napletka lub pochwy tych zwierząt oraz z podłogi ich stanowisk. Następnie na podłogę każdego z tych stanowisk rozpylono po około 20 ml hodowli szczepu 368K otrzymanej na płynnym podłożu TP. Z hodowli płynnej przeznaczonej do rozpylania wykonano posiewy na płynne i stałe podłoża służące do izolacji ureaplazm w celu sprawdzenia czy użyta do rozpylania hodowla zawierała żywe zarodki. Po 4 tygodniach od rozpylenia hodowli pobrano wymazy z podłogi stanowisk w celu sprawdzenia, czy po rozpyleniu na podłożu znajdują się żywe zarodki. Rozpylenie żywej hodowli tego samego szczepu powtórzono po 3 dniach w przypadku stanowisk jałówek nr 1 i 2, a po następnych 3 dniach w przypadku stanowiska jałowki nr 2. W trakcie trwania doświadczenia, przez 10 dni pobierano wymazy z napletka lub pochwy oraz z podłogi stanowisk do badań w kierunku izolacji drobnoustrojów *Ureaplasma*.

Z wykonanych dotąd badań własnych (10, 11) wynika, że hodowlą szczepów *U. diversum*, wyizolowanych od zwierząt tej samej płci, jak też szczepów wyosobnionych od zwierząt płci odmienniej, udaje się zakażać błonę śluzową napletka lub pochwy u bydła. Infekcję tymi zarazkami można też przenieść ze zwierzęcia zakażonego na zwierzę wolne od tych zakażeń za pomocą śluzu pobranego z zewnętrznych narządów płciowych. Potwierdzono również (9) pogląd innych autorów (1, 3, 6), iż infekcja *U. diversum* przenosi się w czasie aktu krycia z udziałem zwierzęcia zakażonego, a u krów szerzy się drogą inseminacji, jeżeli do tego zabiegu używa się nasienia zawierającego ureaplazmy. Zauważono też (9), że kontakt płciowy lub inseminacja nie są jedynymi sposobami zakażenia układu rozrodczego.

Występowanie *U. diversum* w miedniczkach nerkowych (10, 11), pęcherzu moczowym (2, 10, 11, 13), cewce moczowej (2, 4, 10, 11, 13) i w moczu (7) wskazuje na to, że zarodki te mogą być wydzielane wraz z moczem do środowiska. Przypuszczenia te potwierdzają udane próby izolacji ureaplazm z podłogi stanowiska, gnojowicy i skóry zwierząt zakażonych oraz pojawienie się infekcji narządów rozrodczych u buhajów i jałówek nie zakażonych w żaden przyjęty dotąd sposób (9). Można więc przypuszczać, że zanieczyszczone *U. diversum* środowisko odgrywa również rolę w przenoszeniu infekcji tymi zarazkami. Z tego też względu wykonano dalsze badania, których celem było określenie, czy za-

Następne doświadczenie polegało na tym, że w miejsce buhajów, od których z worka napletkowego i z podłogi ich stanowisk izolowano ureaplazmy, wstawiono jałówki, wolne od tych infekcji. W celu izolacji *U. diversum* od zwierząt doświadczalnych pobierano wymazy z pochwy i podłogi stanowisk również przez 10 dni. Po tym czasie obie jałówki próbowano zakazić dopochwowo wymazami z podłogi stanowisk buhajów zakażonych, pobranymi po 24 godzinach od chwili przeprowadzenia tych buhajów do innych stanowisk. W czasie przebywania buhajów w stanowiskach z ich podłogi izolowano *U. diversum*.

Ponieważ w dalszym ciągu z błony śluzowej pochwy jałówek użytych w ostatnich dwóch doświadczeniach nie udało się wyosobnić *U. diversum*, jałówkę nr 1 zakażono hodowlą szczepu 368K, uzyskaną na podłożu płynnym, podając jej do pochwy około 10 ml hodowli. Natomiast jałówkę nr 2, wolną od infekcji ureaplazmami, wstawiono do stanowiska, znajdującego się obok stanowiska jałówki zakażonej. Próby izolacji ureaplazm wykonywano jak w doświadczeniach poprzednich przez 10 dni.

Buhaje i jałówki, które udało się zakazić *U. diversum* w poprzednich doświadczeniach, wykorzystano do dalszych badań. Celem ich było przesłedzenie okresu występowania zarazki w narządach rozrodczych i wydalania go do środowiska. Za początek obserwacji przyjęto dzień, w którym występował on równocześnie w napletku względnie pochwie i na podłodze stanowisk. Wymazy pobierano codziennie od wszystkich zwierząt przez pierwsze 10 dni, a następnie co 2–3 dni do 130 dnia w przypadku buhaja nr 1 i do 30 dnia w przypadku buhaja nr 2. Natomiast od jałówek nr 1 od 10 do 62 dnia obserwacji wymazy z pochwy pobrano losowo 15 razy, a od jałówki nr 2 od 10 do 54 dnia 21 razy.

Izolacja *U. diversum*. Izolację wymienionego drobnoustroju wykonywano jak w pracy poprzedniej (8).

Wyniki i omówienie

Realizując przedstawione we wstępie zamierzenia, zmierzające do wyjaśnienia, czy zakażone przez *U. diversum* środowisko bytowania krów lub buhajów stanowić może źródło ich zakażenia wspomnianym drobnoustrojem, umieszczono w sztucznie zanieczyszczonym ureaplazmami stanowiskach 2 buhaje i 2 jałówki. W tych warunkach już następnego dnia po rozpyleniu żywej hodowli szczepu *U. diversum* w wymazach pobranych z worka napletkowego użytych w doświadczeniu buhajów, a od 3 dnia w wymazach pobranych z podłogi stanowisk stwierdzono ureaplazmy. Uzyskane wyniki potwierdzono w codziennych badaniach przeprowadzanych przez 10 dni.

W tym układzie doświadczenia napotkano na trudności w zakażeniu jałówek. Po 24 godzinach od rozpylenia hodowli ureaplazm nie tylko nie udało się wyizolować ureaplazm z błony śluzowej pochwy tych zwierząt, ale również nie stwierdzono ich obecności w wymazach pobranych z podłogi ich stanowisk. Dlatego też zabieg rozpylania powtórzono. Również i w tym przypadku nie uzyskano zakażenia jałówek. Od żadnej z użytych w doświadczeniu jałówek nie udało się wyosobnić ureaplazm z wymazów pobranych z pochwy i podłogi stanowisk. Negatywne wyniki izolacji uzyskano również po trzecim rozpyleniu hodowli ureaplazm na podłogę stanowiska jałówki nr 2. Należy przy tym zaznaczyć, że zawsze po 4 godzinach od chwili rozpylenia hodowli ureaplazm na stanowiska w wymazach pobranych z ich podłogi stwierdzano od 10^2 do 10^8 CCU tych drobnoustrojów.

Opisane doświadczenie powtórzono w innej wersji. Jałówki, których nie udało się zakazić w poprzednim doświadczeniu wstawiono do stanowisk zanieczyszczonych ureaplazmami w sposób naturalny przez buhaje zakażone. W posiewach wykonanych z wymazów pobranych z podłogi tych stanowisk bezpośrednio przed wstawieniem jałówek stwierdzono ureaplazmy w mianie 10^3 CCU. Podobnie jak poprzednio nie udało się

zakazić jałówek tą drogą. W posiewach wykonanych z wymazów pobranych z błony śluzowej pochwy tych zwierząt i podłogi ich stanowisk nie uzyskano wzrostu ureaplazm. Nie udało się również zakazić użytych w doświadczeniu jałówek wymazami pochodzącymi z podłogi stanowisk buhajów zakażonych, pobranymi po 24 godzinach od chwili przeniesienia zwierząt z tych stanowisk.

Ponieważ ureaplazmy poza organizmem zwierzęcia nie przeżywały 24 godzin należy sądzić, iż przeszkodą w zakażeniu pochwy jałówek był krótki okres działania czynnika infekcyjnego. Aby ten okres przedłużyć wykonano następne doświadczenie. Jałówkę nr 1 zakażono hodowlą szczepu laboratoryjnego, otrzymaną na pożywce płynnej, a jałówkę nr 2 — wolną od tych zarazków — wstawiono do stanowiska obok stanowiska jałówki nr 1. Okazało się, że z błony śluzowej pochwy jałówki nr 1, ureaplazmy izolowano od następnego dnia po zakażeniu do 10 dnia trwania doświadczenia. Zarazki te udało się też wyosobnić w 1, 4, 7, 8, 9 i 10 dniu z podłogi stanowiska. Natomiast w przypadku jałówki nr 2 przez pierwszych 7 dni nie wyosobniono ureaplazm z pochwy, a przez 8 dni z podłogi. Począwszy od 8 dnia występowały one w pochwie, a od 9 dnia w wymazach pobranych z podłogi. Wykazano więc możliwość zakażenia jałówki przez kontakt z jałówką zakażoną. Jednak trudno jest z całą pewnością stwierdzić, iż nastąpiło to poprzez ciągle zakażoną podłogę, ponieważ zarazki te pojawiły się później na podłodze niż pochwie zwierzęcia. Do zakażenia mogło też dojść drogą pośrednią, przy współudziale obsługujących zwierzęta, przeprowadzających doświadczenie lub w nieznanym innym sposób. Rae (12) wymienia możliwość przeniesienia infekcji u krów przez muchy, czego nie można wykluczyć w tym przypadku. Nie wydaje się możliwe, aby do zakażenia pochwy doszło drogą zstępującą z dalszych odcinków układu moczowego lub rozrodczego, bowiem przed przystąpieniem do doświadczenia wszystkim zwierzętom, w tym również jałóvkom, podano Biotyl, który — jak wykazano uprzednio (11) — skutecznie likwidował infekcje *U. diversum* w narządach tych układów.

Ponieważ występowanie *U. diversum*, a szczególnie jego zdolność utrzymywania się przy życiu poza organizmem zwierzęcia nie było dotąd przedmiotem publikacji innych autorów, a jest to istotne w procesie szerzenia się infekcji narządów rozrodczych u bydła, postanowiono bliżej zająć się tym zagadnieniem.

W tym celu wykonano próby izolacji *U. diversum* z gnojowicy pobranej z podłogi stanowiska buhaja zakażonego oraz z kanału ściekowego. Z badań tych wynika, że tylko w jednym przypadku stwierdzono żywe zarazki w materiale pochodzącym ze stanowiska i przechowywanym przez 24 godz. w temperaturze pokojowej i w lodówce. W pozostałych badaniach — dwóch pobranych w ten sam sposób prób oraz we wszystkich badaniach gnojowicy, pochodzącej z kanału ściekowego, uzyskano wynik negatywny. Świadczy to, że podobnie jak to miało miejsce w warunkach naturalnych, również w warunkach laboratoryjnych zarazek ten był bardzo wrażliwy na czynniki zewnętrzne. Należy więc sądzić, że w procesie szerzenia się infekcji środowisko odgrywa pewną rolę, ale musi być ciągle zanieczyszczane zarazkami wydalnymi z moczem zwierząt zakażonych. Dlatego zwierzęta zakażone, ciągle zakażające środowisko, stanowią istotne zagrożenie dla innych zwierząt obok stojących — nie zaś samo środowisko, w którym *U. diversum* szybko ginie.

Kolejnym zagadnieniem w procesie szerzenia się infekcji jest zdolność organizmu zakażonego do wydalenia zarazka do środowiska. Do prześledzenia tego procesu wykorzystano buhaje i jałówki zakażone w przeprowadzonych poprzednio doświadczeniach. Okazało się, że z podłogi stanowisk buhajów nr 1 i 2 odpowiednio do 130 i 30 dnia trwania doświadczenia zawsze udało się izolować *U. diversum*. Zarazki te nie zawsze występowały na podłodze stanowisk, w których przebywały jałówki. W badaniu próbek materiału, pobranego ze stanowiska jałówki nr 1 w pierwszych 10 dniach, nie udało się wyisolować tych zarazków w 2, 4 i 5 dniu, a w badaniach od 10 do 62 dnia doświadczenia na 15 losowo pobranych wymazów, wynik negatywny uzyskano w 7 przypadkach. Podobne rezultaty uzyskano badając materiał pobrany ze stanowiska jałówki nr 2. Na 10 prób potranych w odstępach jednodniowych w 3 wymazach nie stwierdzono obecności ureaplazm, a od 10 do 29 dnia na 11 przeprowadzonych badań, wynik negatywny otrzymano w 5 z nich. Natomiast od 29 do 54 dnia doświadczenia z 10 pobranych w tym czasie wymazów, nie udało się w żadnym z nich stwierdzić *U. diversum*. Wykazano więc, że siewstwo tych drobnoustrojów do środowiska przez zwierzęta zakażone występuje przez długi okres czasu. U buhajów wydalenie zarazka odbywało się regularnie, natomiast u jałówek regularności tej nie stwierdzono. Również długo utrzymywała się infekcja *U. diversum* w napletku buhajów i pochwie jałówek. Uzyskane wyniki w zasadzie są zgodne z wynikami Millera i wsp. (7), którzy z błony śluzowej pochwy eksperymentalnie zakażonych krów izolowali ureaplazmy do 60 dnia, a z moczu tych zwierząt do 17 dnia trwania doświadczenia. Znane są też przypadki (5, 14), że u ludzi przebywających w odosobnieniu, zakażenie *U. urealiticum* narządu rozrodczego utrzymywało się przez 1 rok.

W przeprowadzonych doświadczeniach wykazano, że ureaplazmy mogą występować poza organizmem zwierzęcia, lecz ich okres przeżywalności w środowisku zewnętrznym jest stosunkowo krótki, ale wystarczający do zakażenia narządów rozrodczych u buhajów. Natomiast

trudniej, w takich warunkach, zakażają się jałówki. Wydaje się, iż wynika to z różnicy w budowie anatomicznej, a szczególnie topografii zewnętrznych narządów płciowych. U buhajów w czasie pozycji leżącej, może dojść do bezpośredniego kontaktu napletka z zanieczyszczoną ureaplazmami podłogą, natomiast u jałówek lub krów kontakt ten jest trudniejszy i w tym przypadku środowisko zewnętrzne nie odgrywa takiej roli w procesie szerzenia się infekcji, jak to ma miejsce u buhajów. Jednak bliskie sąsiedztwo zwierzęcia zakażonego stwarza możliwości przeniesienia infekcji na zwierzę wolne od zakażeń. Wykazana obecność zarazka w środowisku zewnętrznym i krótki okres jego przeżywalności wskazuje, iż w profilaktyce schorzeń narządu rozrodczego u bydła wywołanych przez *U. diversum*, podstawowe znaczenie ma higiena pomieszczeń dla zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Arthur G. H., Noakes D. E., Pearson M.: Infectious Forms of Infertility in Cattle, w: Veterinary Reproduction Obstetrics, red. G. H. Arthur, Bailliere Tindall, London, 1989, s. 411.
2. Ball H. J., Logan E. F., Orr W.: Vet. Rec., 121, 322, 1987.
3. Fare W. C. D.: Diseases Transmissible by Semen and Embryo Transfer Techniques 53 General Session, OIE, Paris, 1985.
4. Harms E.: Studies on the occurrence of Mycoplasma, Ureaplasma and Acholeplasma in the genital organs of slaughtered cows. Thesis Tierärztliche Hochschule, Hannover, 1987, s. 85.
5. Holmes M. J., Furr P. M.: J. Hyg., 72, 355, 1974.
6. Little T. W.: Other Infections Agents, w Fertility and Infertility in Veterinary Practice, red. J. A. Laing, W. J. Brinley Morgan, W. C. Wagner, Bailliere Tindall, London 1988, s. 246.
7. Miller R. B., Ruhnke H. L., Doig P. A., Pitras B. J., Palmer N. C.: Theriogenology 20, 367, 1983.
8. Pilaszek J.: Grudkowe zapalenie błony śluzowej sromu i pochwy u krów oraz napletka i prącia u buhajów — rozpoznawanie, leczenie i profilaktyka. Biul. inf. Inst. Wet. Puławy, 1991, s. 1—21.
9. Pilaszek J.: Bull. vet. Inst. Puławy — w druku.
10. Pilaszek J., Truszczyński M.: Medycyna Wet. — w druku.
11. Pilaszek J., Truszczyński M.: Medycyna Wet. — w druku.
12. Rae A. G.: Vet. Rec., 111, 19, 462, 1982.
13. Stehlein O. H. V., Proctor S. J.: Infect. Immun., 13, 915, 1976.
14. Taylor-Robinson D., McCormack W. M.: N. Engl. J. Med., 302, 1063, 1980.

Adres autora: doc. dr hab. Józef Pilaszek, ul. Cichockiego 5/15, 24-100 Puławy

VERTEGEN J., FARGETTON X., ZANKER S., DONNAY J., ETORS F.: Antagonistyczne działanie atipamezolu, 4-amidopirydyny i johimbiny na narkozę wywołaną u kotów przez kombinację medetomidyna-ketamina. (Antagonistic activities of atipamezole, 4-amidopyridine and yohimbine against medetomidine/ketamine induced anaesthesia in cats). Vet. Rec. 128, 57—60, 1991 (3)

Celem badań było określenie czy atipamezol, 4-aminopirydyna i johimbina znoszą działanie kombinacji medetomidyna-ketamina. U 40 kotów wywołano narkozę podając 80 µg medetomidyny (kg masy ciała) łącznie z ketaminą (5 mg/kg). Po 30 minutach podano w iniekcji domięśniowej atipamezol (200 lub 500 µg/kg), 4-aminopirydynę (500 lub 1000 µg/kg) względnie johimbinę (250 lub 500 µg/kg). Każdą z dawek podano 5 losowo wybranym kotom, kontrolę stanowiło 10 kotów które otrzymały iniekcję płynu fizjologicznego. Atipamezol silnie znosił narkozę i bradykardię będącą następstwem podania medetomidyny-ketaminy. Po dawce atipamezolu wynoszącej 200 µg/kg tętno szybko wracało do wartości wyjściowej zaś po dawce 500 µg/kg po 15 minutach występowała silna tachykardia. U większości zwierząt w okresie wybudzania występowały objawy ataksji. Johimbina w dawce 500 µg/kg znosiła narkozę zaś 4-aminopirydyna w zastosowanych dawkach nie była efektywna a także nie wpływała na szybkość tętna i oddechów.

VERTEGEN J., FARGETTON X., DONNAY J., ETORS F.: Ocena kombinacji medetomidyna/ketamina oraz innych kombinacji leków stosowanych do narkozy kotów. (An evaluation of medetomidine/ketamine and other drug combinations for anaesthesia in cats). Vet. Rec. 128, 32—35, 1991 (2)

Narkoza indukowana u kotów przez pochodne cykloheksylaminy została porównana z efektami uzyskanymi po zastosowaniu następujących kombinacji: acepromazyna (1 mg/kg)-ketamina (10 mg/kg), ksylazyna (1 mg/kg)-ketamina (10 mg/kg), rolazepam (7,5 mg/kg)-siletamina (7,5 mg/kg), medetomidyna (80 µg/kg) ketamina (2,5; 5,0; 7,5 i 10 mg/kg). Preparaty podawano domięśniowo kotom w wieku od 6 mies. do 5 lat. Kombinacja acepromazyna-ketamina nie dawała żadnych efektów ubocznych ale nie zapewniała dostatecznej narkozy. Pozostałe badane kombinacje różniły się nasileniem narkozy oraz zakresem działania ubocznego. Najlepsze efekty notowano stosując medetomidynę z ketaminą w małych dawkach. Taka kombinacja nie dawała też efektów ubocznych. Medetomidyna już w dawce 80 µg/kg w połączeniu z ketaminą w dawce 2,5 mg/kg daje narkozę utrzymującą się przez 36 minut, zaś przy dawce ketaminy wynoszącej 5,0 mg/kg narkoza utrzymuje się przez 59 minut. Ketamina w dawce 10 mg/kg z acepromazyną (1 mg/kg) daje narkozę trwającą 20 minut a z ksylazyną w dawce 1 mg/kg 46 minut.