

WPLYW ODKAŻANIA JAMY NAPLETKOWEJ
NA ILOŚĆ DROBNOUSTROJÓW
W NASIENIU BUHAJÓW INSEMINACYJNYCH *

Krystyna Hoffmann-Woźniak, Lech Jaśkowski, Halina Rogoziewicz

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Inseminacji
Instytut Weterynarii, Oddział Bydgoszcz

Zagadnienie zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia buhajów jest od wielu lat przedmiotem kontrowersyjnych opinii, które naświetlił szerzej Jaśkowski [9]. Oparta na bardzo dużym materiale praca Hendrikse [8], która wykazała brak zależności między stopniem zanieczyszczenia nasienia drobnoustrojami a wynikami unasienniania sprawiła, że w wielu krajach nie przywiązuje się znaczenia do ilościowego badania bakteriologicznego nasienia. W innych krajach, przeciwnie, istnieją tendencje do ustalenia limitu dopuszczalnych zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia użytkowanego do unasienniania, przy czym niektóre projekty, jak np. projekt przepisów o międzynarodowej wymianie nasienia, ustalają bardzo surowe rygory [12].

Między stopniem zanieczyszczenia bakteryjnego jamy napletkowej a zawartością drobnoustrojów w nasieniu istnieje od dawna znana korelacja dodatnia [5, 7]. Romaniuk [11] wykazał, iż pobierając nasienie w sposób zabezpieczający ejakulatory przed kontaminacją drobnoustrojami z napletka można zmniejszyć wydatnie ich ilość w nasieniu. Cembrowicz i Osborne [3] zastosowali z powodzeniem odkazanie jamy napletkowej zawiesiną streptomycyny dla obniżenia stopnia kontaminacji nasienia.

Jaśkowski i wsp. [10] do tego samego celu zastąpili streptomycynę roztworami Sterinolu Polfa, uzyskując 7- do 15-krotne zmniejszenie ilości drobnoustrojów w nasieniu. Doświadczenia Jaśkowskiego i wsp. przeprowadzone zostały w warunkach niejako klinicznych i wymagały potwierdzenia w praktyce inseminacyjnej. W związku z tym podjęto bada-

* Praca wykonana w ramach tematu R-132 koordynowanego przez Instytut Zootechniki w Krakowie.

nia, które miały dać odpowiedź na następujące pytania: 1) Czy odkażanie jamy napletkowej roztworami Sterinolu prowadzone rutynowo w zakładzie unasienniania spowoduje obniżenie ilości drobnoustrojów w nasieniu, oraz 2) czy zabieg ten odbija się dodatnio na wynikach unasienniania.

MATERIAŁ I METODYKA

Doświadczenie przeprowadzono w dwu etapach: wstępnym oraz właściwym. W okresie wstępnym użyto 7 buhajów inseminacyjnych, we właściwym 11 buhajów. W obu doświadczeniach buhaje podzielone były na dwie grupy, doświadczalną i kontrolną, oraz na przemienne okresy 4-6-tygodniowe, w których następowała zmiana; buhaje stanowiące grupę doświadczalną, przechodziły w następnym okresie do grupy kontrolnej i na odwrót. Takich okresów było w doświadczeniu wstępnym 2, a we właściwym 4. W doświadczeniu właściwym dwa buhaje użyte były do produkcji nasienia mrożonego. W tym przypadku okres 15-tygodniowej obserwacji podzielono na 3 podokresy; dwa doświadczalne przedzielone jednym kontrolnym. W każdym okresie doświadczalnym przeprowadzono po każdym pobraniu nasienia odkażanie jamy napletkowej 0,05-procentowym roztworem Sterinolu Polfa.

Do unasienniania nasieniem płynnym użyto 69 ejakulatów w okresie wstępnym oraz 130 ejakulatów w doświadczeniu właściwym. Ponadto w doświadczeniu właściwym przygotowano 45 ejakulatów do unasienniania nasieniem mrożonym.

Z każdego ejakulatu pobierano 0,1 ml nasienia, rozcieńczano w stosunku 1:9 wyjałowionym fizjologicznym roztworem soli kuchennej i przewożono do laboratorium, gdzie dokonywano posiewów mikrobiologicznych, nie później niż 2 godziny po pobraniu nasienia.

W pracach mikrobiologicznych posłużono się metodami wymienionymi przez Jaśkowskiego i wsp. [10]. W ejakulatach przeznaczonych do mrożenia oznaczano ponadto ilość drobnoustrojów po 24 godz ekwilibracji nasienia w temp. $+4^{\circ}\text{C}$ oraz w nasieniu mrożonym.

WYNIKI BADAŃ

Podobnie jak w poprzednich badaniach, stwierdzono w nasieniu najczęściej dwa lub trzy rodzaje drobnoustrojów, rzadziej zaś więcej. Drobnoustroje te należały do następujących gatunków (rodzajów): gronkowce, paciorkowce z grupy enterokoków i viridans, mikrokoki, pałeczki okrężnicy, pałeczki odmienia, niezindentyfikowane pałeczki oraz laseczniki zarodnikujące i niezarodnikujące. W doświadczeniu wstępnym ogólna ilość drobnoustrojów w okresie poprzedzającym odkażanie jamy napletkowej

wyniosła $360,2 \cdot 10^3/\text{ml}$ i obniżała się w okresie odkażania do $45,7 \cdot 10^3/\text{ml}$. W doświadczeniu właściwym koncentracja drobnoustrojów w okresach kontrolnych wyniosła średnio $763,7 \cdot 10^3/\text{ml}$ i obniżała się w okresie odkażania do $171,4 \cdot 10^3/\text{ml}$ (tab. 1). Stosunkowo najniższy wpływ na zawartość drobnoustrojów dało odkażanie jamy napletkowej buhajów produkujących nasienie do mrożenia. W odkażaniu rutynowym efekty były krótkotrwałe. Jedynie w ejakulatach pobieranych do 5 dni po odkażaniu stwierdzano ograniczoną płukaniem liczbę drobnoustrojów, ejakulaty pobrane później niż 5 dni po odkażeniu zawierały z reguły ilość drobnoustrojów zbliżoną do wyjściowej lub wyższą. Na uwagę zasługuje fakt, iż w III i IV okresie doświadczenia, zarówno w nasieniu buhajów doświadczalnych jak kontrolnych, było znacznie mniej drobnoustrojów niż w okresie I i II. Dwa pierwsze okresy zbiegły się z pełną stabilizacją buhajów, podczas gdy w okresie III i IV buhaje spędzały dużo czasu na wybiegach. To samo zjawisko daje się zauważyć w nasieniu mrożonym.

Tabela 1

Średnia zawartość drobnoustrojów w 1 ml nasienia ($n \cdot 10^3$) w kolejnych 4 okresach doświadczenia

Grupa	Nazwa buhaja	I Kontrolny	Liczba ejak.	II Odkażanie	Liczba ejak.	III Kontrolny	Liczba ejak.	IV Odkażanie	Liczba ejak.
A	Bart	4,9	2	87,9	6	38,1	3	51,1	5
	Morus	45,8	3	229,1	6	59,7	3	18,4	3
	Grafit	1415,0	3	72,1	3	204,7	2	13,0	3
	Remus	277,0	3	51,1	6	131,9	3	158,6	4
	Junak	3967,0	3	117,4	6	88,3	3	18,7	5
B		odkażenie		kontrolny		odkażenie		kontrolny	
	Polonez	152,1	4	3755,8	2	1528,0	4	345,0	4
	Polot	72,1	4	1205,0	2	69,9	4	299,0	4
	Latarnik	77,4	4	1634,8	2	39,5	4	26,8	3
	Ren	349,8	4	9,8	4	38,3	4	412,5	2
A	Razem	K 1223,0	14	O 115,9	27	K 97,4	14	O 55,4	20
B		O 162,8	16	K 1648,0	10	O 418,9	16	K 306,3	13

Razem 79 ejak. pobranych w okresie odkażania zawierało $763,7 \cdot 10^3/\text{ml}$ drobnoustrojów;

Razem 51 ejak. pobranych w okresie kontrolnym zawierało $171,4 \cdot 10^3/\text{ml}$ drobnoustrojów;

K — okres kontrolny; O — okres odkażania.

Jeżeli chodzi o nasienie mrożone, uderza fakt, iż po mrożeniu i po ekwilibracji zawartość drobnoustrojów w 1 ml była wyższa niż bezpośrednio po pobraniu, mimo że nasienie było rozrzedzone 1-2-krotnie jałowym i zawierającym antybiotyki rozcieńczalnikiem (tab. 2).

Nasieniem uzyskanym w okresie wstępnym dokonano wprawdzie 3709 unasinień, jednakże równoległemu porównaniu można było poddać 1315 unasinień dokonanych 19 ejakulatami, pobranymi w okresie odkażania jamy napletkowej, oraz 1958 unasinień dokonanych nasieniem kontrol-

Tabela 2

Średnia zawartość drobnoustrojów ($n \cdot 10^3/\text{ml}$) w nasieniu świeżym, ekwilibrowanym w 3°C oraz mrożonym w 3 okresach

Nazwa buhaja	Okres odkażania (luty)			Okres kontrolny (marzec)			Okres odkażania (kwiecień, maj)					
	liczba ejak.	ekwi- świeże libro- wane	mro- żone	liczba ejak.	ekwi- świeże libro- wane	mro- żone	liczba ejak.	ekwi- świeże libro- wane	mro- żone			
Łobuz	8	22,7	113,9	108,8	10	189,2	663,7	628,7	4	252,3	47,4	52,8
Desant	9	1978,1	2513,5	1225,1	10	1059,7	1809,5	867,3	4	19,2	61,8	28,3

Średnio w 25 ejakulatach pobranych w okresie odkażania stwierdzono $762,8 \cdot 10^3/\text{ml}$ drobnoustrojów;

Średnio w 20 ejakulatach pobranych w okresie kontrolnym stwierdzono $619,4 \cdot 10^3/\text{ml}$ drobnoustrojów.

nym. Pierwszym uzyskano 68,0% braku powtórnych zrywań w ciągu 30-60 dni po inseminacji, drugim 65,8%.

W okresie właściwym dokonano ogółem 5216 unasienień, z tego 3029 nasieniem doświadczalnym i 2187 nasieniem kontrolnym. Jak wynika z tabeli 3, różnice w wynikach unasieniania były minimalne i podobnie jak w doświadczeniu wstępnym statystycznie nieistotne. Nasieniem mro-

Tabela 3

Wyniki unasienień nasieniem płynnym (odsetek krów niepowtarzających w ciągu 30—60 dni w kolejnych okresach doświadczenia)

Grupa buhajów	Liczba	I			II			III			IV						
		a	b	c	a	b	c	a	b	c	a	b	c				
A	5	K	14	597	69,7	D	27	1078	67,4	K	14	603	69,8	D	16	670	72,6
B	4	D	15	599	67,8	K	10	373	67,1	D	16	682	69,1	K	13	614	67,5

Ogółem na 3029 unasienień przeprowadzonych nasieniem pobieranym w okresach odkażania jamy napletkowej uzyskano 68,9% braku powtórek.

Na 2187 unasienień kontrolnych nie zrywało powtórnie 68,6% krów.

a — liczba ejakulatów,

b — liczba unasienionych krów,

c — odsetek krów niepowtarzających w ciągu 30-60 dni po unasienieniu.

K — okres kontrolny;

D — okres odkażania jamy napletkowej.

żonym dokonano tylko 574 zabiegów. W tym 279 nasieniem uzyskanym w czasie odkażania jamy napletkowej. Uzyskano nim 70,0% braku powtórnych zrywań w porównaniu z 63,8%, które dało nasienie kontrolne; również i tu różnica była statystycznie nieistotna ($P < 0,13$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z badań wynika, że rutynowe odkażanie jamy napletkowej 0,05-procentowym roztworem Sterinolu daje przemijające zmniejszenie niepatogenicznej flory bakteryjnej, która w 5-8 dni po zabiegu odkażającym rege-

neruje do ilości wyjściowych lub wyższych. Spostrzeżenie to nie pokrywa się z wynikami badań Jaśkowskiego i wsp. [10], a także Cembrowicza i Osborne'a [3], według których jednorazowe odkażanie dawało się odczuć do 20 dni po zabiegu. Jakkolwiek nie można wykluczyć, że w warunkach rutynowych zabieg wykonywany był mniej dokładnie niż w klinicznych, a tym samym mógł być mniej skuteczny, wydaje się, że istotną przyczyną była pora roku, w której przeprowadzono doświadczenie. Doświadczenie wstępne i pierwszą część doświadczenia właściwego przeprowadzono w okresie stabulacji buhajów, drugą część doświadczenia właściwego i wspomniane już doświadczenie Jaśkowskiego i wsp., w okresie gdy buhaje korzystały z wybiegów, a więc przebywały w daleko bardziej higienicznych warunkach. W warunkach stabulacji, rekontaminacja jamy napletkowej drobnoustrojami przebywającymi w wilgotnej ściółce postępuje szybko, stąd krótkotrwałe efekty odkażania. Nie jest również wykluczone, że roztwory Sterinolu, wywołując lekkie podrażnienie śluzówki napletka, ułatwiają drobnoustrojom namnażanie się w jamie napletkowej. Być może, że zastosowanie innych środków dałoby lepsze i bardziej trwałe efekty; będzie to przedmiotem dalszych badań.

Ani doświadczenie wstępne ani właściwe nie wskazuje, aby stopień zanieczyszczenia nasienia wpływał na wyniki unasienniania nasieniem płynnym. Pod tym względem niniejsze spostrzeżenia pokrywają się z obserwacjami takich badaczy jak Hendrikse [8], Almquist i wsp. [2], Alford [1], Stutzinger [12]. Natomiast nasienie mrożone uzyskane w okresie odkażania jamy napletkowej wykazało o 6⁰/o wyższą zdolność zapładniającą, niż nasienie tych samych buhajów uzyskane w okresie kontrolnym. Jakkolwiek różnica ta nie była statystycznie istotna, wydaje się zbieżna z wynikami badań Corriasa i Pautasso [4], oraz Gamčika [6].

Przeprowadzone przez nas badania skłaniają do wyciągnięcia jednego, ale wydaje się istotnego wniosku praktycznego:

Odkazanie jamy napletkowej roztworami Sterinolu oraz prawdopodobnie innymi środkami bakteriobójczymi pozwala obniżyć liczebność flory bakteryjnej w nasieniu, nie można nim jednak zastąpić przestrzegania zasad higieny, szczególnie higieny pomieszczeń dla buhajów.

PIŚMIENNICTWO

1. Alford J. A.: *J. Dairy Sci.*, 36, 1097, 1953.
2. Almquist J. O., Prince P. W., Reid J. J.: *J. Dairy Sci.* 32, 543, 1949.
3. Cembrowicz H. J., Osborne A. D.: *Proc. IV. intern. Congr. Anim. Reprod.* Haque, 468, 1961.
4. Corrias J., Pautasso N.: *Zootec. Vet.* 14, 279, 1959.
5. Dieter R.: *Fortpfl. Zuchthyg. Haustbes.* 6, 119, 1956.

6. Gamčik P.: Veterinarstvi 9, 211, 1959.
7. Heinicke W., Ostertag W.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 67, 345, 1954.
8. Hendrikse J.: Het bacteriegehalte van het sperma van gezonde stieren. Dyss. Utrecht, 1960.
9. Jaśkowski L.: Med. wet. 21, 552, 1965.
10. Jaśkowski L., Różankiewicz E., Różankiewicz I., Szulc L., Kozłowska L.: Now. wet. 2, 107, 1972.
11. Romaniuk J.: Roczn. Nauk rol. 69-E-2, 287, 1959.
12. Stutzinger E.: Untersuchungen über die Begleitflora des Bullenspermas auf einer niederrheinischen Besamungsstation. Diss. München, 1953.
13. Organization Internationale de Normalisation. Sous — Comité. 1. Moyens de reproduction. Semences congelées de taureaux reproducteurs. (TC 34/GT 5-1) Mai 1974.

К. Гоффманн-Возняк, Л. Яськовски, Г. Рогозевич

ВЛИЯНИЕ ДЕЗИНФЕКЦИИ ПОЛОСТИ ПРЕПУЦИЯ У ИНСЕМИНАЦИОННЫХ БЫКОВ НА КОЛИЧЕСТВО МИКРООРГАНИЗМОВ В СЕМЕНИ

Резюме

Для сокращения количества микроорганизмов в семени инсеминационных быков применяли полоскание полости препуция 0,05-ным раствором Стериноля* после каждого отбора семени. Опыты проводились на II быках разделенных на две группы, так что каждая группа была попеременно контрольной и опытной. Каждый опытный период (дезинфекция — контроль, контроль — дезинфекция) продолжался один месяц. Дезинфекция привела к неповторимому сокращению количества микроорганизмов с $763,10^3$ на мл устанавливаемых в контрольные периоды на $171,10^3$ на мл во время дезинфекции. Снижение количества микроорганизмов в семени инсеминационных быков не оказывало более существенного влияния на результаты осеменения. Неповторимость в течение 30-60 дней у 3029 коров осемененных семенем быков отобранным в период дезинфекции составляла 68,9% в сравнении с 68,6% у 2187 коров осемененных контрольным семенем.

Следует предполагать, что содержание быков в соответственных санитарных условиях даст лучше результаты, чем дезинфекция полости препуция.

K. Hoffmann-Woźniak, L. Jaśkowski, H. Rogoziewicz

INFLUENCE OF DISINFECTION OF PREPUTIAL CAVITY IN A. I. BULLS ON THE BACTERIAL COUNT OF THEIR SEMEN

Summary

Following each semen collection preputial sheath irrigations with a 0.05% Sterinol* solution were carried out routinely to decrease the number of bacteria in

* Стерионоль — диметило-лаурило-амонийный бромид.

* Sterinol — dimetyl-lauryl-benzyl ammonium bromide.

the semen of A. I. bulls divided into two groups alternately treated as experimental and control animals. Each of experimental periods (disinfection — control, control — disinfection) lasted one month. The treatment caused a transitory decrease of bacterial count in semen from $763 \cdot 10^3/\text{ml}$ in control periods, to $171 \cdot 10^3/\text{ml}$ in disinfection periods. The reduction of bacterial contamination did not influence the results of inseminations. The 30-60 days NR rate of 3029 inseminations with the semen collected during the treatment periods was 68.9%, as compared with 68.6% of 2187 control inseminations. Keeping bulls in hygienic conditions seems to be much more effective than disinfectant irrigations of preputial cavity.