

WSTĘPNE BADANIA NAD WPŁYWEM NIEKTÓRYCH ANTYBIOTYKÓW PRODUKCJI POLSKIEJ NA DROBNOUSTROJE WYIZOLOWANE Z NASIENIA BUHAJÓW

Leokadia Kozłowska, Krystyna Hoffmann-Woźniak

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Inseminacji
Instytut Weterynarii, Oddział Bydgoszcz

Badania nad wpływem antybiotyków produkcji krajowej dodanych do nasienia na przeżywanie plemników *in vitro* [2] wykazały, iż najkorzystniej oddziałują na żywotność nasienia dwa z badanych preparatów, mianowicie: polbicylina i viomycyna. Było interesujące sprawdzić ich działanie bakteriobójcze i bakteriostatyczne w stosunku do drobnoustrojów niechorobotwórczych najczęściej występujących w nasieniu oraz w stosunku do mętwika płodowego.

MATERIAŁ I METODY

Do prób wybrano następujące drobnoustroje wyosobnione z nasienia: gronkowiec złocisty katalazo +, pałeczka okrężnicy oraz pałeczka ropy błękitnej. Ponadto użyto laboratoryjnego szczepu *Vibrio fetus*.

Wymienione drobnoustroje namnażano przez 18 godz w hodowli bulionowej lub pożywce Bartłetta, określano ilość bakterii metodą Breeda i następnie (z wyjątkiem *Vibrio*) dodawano do rozcieńczalników nasienia w takiej ilości, aby na 1 ml rozcieńczalnika wypadło około 50 000 drobnoustrojów. Drobnoustroje dodawano do następujących rozcieńczalników: mleczno-żółtkowy (MŻ), mleczno-żółtkowo-glicerynowy (MŻG), cytrynianowo-żółtkowy (CŻ), cytrynianowo-żółtkowo-glicerynowy (CŻG). Do poszczególnych rozrzedzalników dodawano ponadto badane antybiotyki w ilościach: viomycyna 0,5 mg/ml, polbicylina 2 mg/ml, streptomycyna 1,0 mg/ml oraz polbicylina 1,0 mg/ml + viomycyna 0,5 mg/ml, pozostawiając jedną próbę bez antybiotyków jako kontrolę.

W ten sposób przygotowane próby wstawiano na 4 godz do chłodziar-

ki (+4°C), a następnie pobierano po 0,1 ml do posiewu, pozostałe części zamrażano. Po 24 godz nasienie rozmrażano i ponownie sporządzano posiewy dla określenia ilości drobnoustrojów w próbach mrożonych. W przypadku *Vibrio* ograniczono się do posiewu z próbek zamrożonych. Posiewy na płytki agaru z krwią przeprowadzano po uprzednim rozcieńczeniu pobranych prób w sposób opisany uprzednio [1]. Wzrost drobnoustrojów kontrolowano w 24 lub 48 godz po inkubacji w 37°C (w zależności od rodzaju badanych drobnoustrojów), oglądając podłoża pod lupą stereoskopową.

Wszystkie badania przeprowadzono w 3 niezależnych powtórzeniach.

WYNIKI BADAŃ

Jak należało oczekiwać, badane antybiotyki wykazywały niejednakowe działanie bakteriostatyczne lub bakteriobójcze w stosunku do badanych drobnoustrojów.

Z tabeli 1 i 2 wynika, że najbardziej wszechstronne działanie wykazała streptomycyna powodując w badanych próbach wielokrotne zmniejszenie drobnoustrojów, w wielu przypadkach zupełne wyjałowienie prób. Na uwagę zasługuje jej silne działanie bakteriobójcze dla mętwnika, którego w próbach kontrolnych znaleziono 2,5-5,0 milionów w 1 ml, w próbach ze streptomycyną znacznie poniżej 1,0 tysiąca.

Tabela 1

Średnie ilości ($n \cdot 10^3$) drobnoustrojów niepatogennych w 1 ml badanych rozcieńczalników, przy dodaniu około 50 000 drobnoustrojów na 1 ml rozcieńczalnika (średnie z 12 oznaczeń)

Rodzaj drobnoustrojów	Kontrola		Viomycyna		Viomycyna + Polbicylina		Polbicylina		Streptomycyna	
	a ^x	b ^{xx}	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70,7	48,9	29,0	21,7	25,4	22,7	42,0	46,2	4,7	3,2
<i>Escherichia coli</i>	33,9	26,2	29,4	17,9	34,0	21,2	29,1	32,5	0,09	0,12
<i>Staphylococcus katalaza</i> +	68,8	73,3	44,6	48,9	0	0	0	0	0,05	0,03

a^x — posiew po 4-godzinnym trzymaniu prób w temp. +4°C.

b^{xx} — posiew po 24-godzinnym zamrożeniu.

Tabela 2

Wpływ badanych antybiotyków na ilość *Vibrio foetus* ($n \cdot 10^3$) w nasieniu mrożonym w zależności od zastosowanego rozcieńczalnika

Rodzaj rozcieńczalnika	Kontrola	Viomycyna	Viomycyna + Polbicylina	Polbicylina	Streptomycyna
MŻ	3200	36	39	0,86	0,05
MŻG	4000	300	15	1,26	0,0
CŻ	2300	400	47,6	0,45	0,13
CŻG	3000	300	37,3	1,85	2,50

Polbicylina wykazała silne działanie bakteriobójcze na gronkowce i dość silne w stosunku do *Vibrio*. Liczba kolonii mętwilka wyrosłych z 1 ml rozcieńczalnika z polbicyliną była ponad 1000 razy niższa niż w rozcieńczalniku bez antybiotyków. W stosunku do pałeczki okrężnicy polbicylina okazała się nieskuteczna, w stosunku do *Pseudomonas* wykazała słabe własności bakteriostatyczne. Viomycyna wykazała najslabsze własności bakteriostatyczne z porównywanych antybiotyków. Powodowała kilkakrotne zmniejszenie ilości mętwilka w próbach oraz nieznaczne pozostałych drobnoustrojów.

W tabeli 3 porównano ilość drobnoustrojów (po ekwilibracji) w próbach kontrolnych (bez antybiotyków) oraz z dodatkiem antybiotyków, przyjmując ilość drobnoustrojów w próbach kontrolnych za 100.

Tabela 3

Porównanie ilości względnej drobnoustrojów w poszczególnych rodzajach rozcieńczalników po poddaniu ich działaniu antybiotyków (po ekwilibracji)

Rodzaj rozcieńczalnika	Viomycyna				Polbicylina				Streptomycyna			
	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Vibrio foetus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Vibrio foetus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Vibrio foetus</i>
MŻ	35,2	106,5	65,3	11,2	74,4	94,0	0	0,003	1,75	0,89	0	0,001
MŻG	19,0	75,5	55,7	7,5	50,0	83,0	0	0,004	4,00	0,19	0	0
CŻ	63,5	72,7	75,4	5,7	39,4	76,1	0	0,002	12,50	0	0	0,005
CŻG	70,2	96,1	62,6	10,0	74,5	89,0	0	0,006	15,35	0	0	0,083

Ilość drobnoustrojów w próbkach kontrolnych przyjęto za 100.

Z tabeli 3 wynika, że nie wystąpiły istotne różnice pomiędzy stopniem namnażania się drobnoustrojów w rozrzedzalniku mleczno-żółtkowym i cytrynianowo-żółtkowym. Jednakże w rozrzedzalniku mleczno-żółtkowym z glicerolem namnażanie drobnoustrojów było na ogół słabsze niż w tym samym rozrzedzalniku bez glicerolu. Natomiast dodatek glicerolu do rozrzedzalnika cytrynianowo-żółtkowego zdawał się hamować bakteriostatyczne działanie większości antybiotyków.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z porównywanych antybiotyków najszersze spektrum w stosunku do badanych rodzajów drobnoustrojów wykazywała streptomycyna, która działała bakteriobójczo na wszystkie drobnoustroje testowane, nawet na bardzo oporną na działanie innych antybiotyków i środków dezynfekcyjnych pałeczkę ropy błękitnej. Najmniej skuteczna okazała się viomycyna, obniżająca nieznacznie liczbę drobnoustrojów, jedynie w stosunku do

mętвика wykazała ona nieco większą agresywność. Polbicylina nie wykazała wprawdzie tak dużej dzielności bakteriobójczej jak streptomycyna, jednakże duże nadzieje praktyczne budzi fakt, iż wykazała ona bakteriobójczą aktywność dla mętвика płodowego. Pozwoli to zastąpić streptomycynę; wiele serii wypuszczonej na rynek przez zakłady POLFA streptomycyny uszkadza plemniki — co czyni ją nieprzydatną do konserwacji nasienia.

Badania nie wykazały wyraźnego wpływu dodatku glicerolu do rozcieńczalników na własności bakteriobójcze antybiotyków. Przy odrębnym rozpatrywaniu rozcieńczalnika mlecznego i cytrynianowo-żółtkowego można zauważyć, iż w rozcieńczalniku mlecznym z dodatkiem glicerolu następowała po dodaniu antybiotyków silniejsza redukcja drobnoustrojów niż w rozcieńczalniku bez glicerolu. Potwierdzałoby to spostrzeżenie Rosłanowskiego [3], który zauważył to zjawisko przy badaniach nad wartością rozcieńczalnika mlecznego z dodatkiem glicerolu.

W rozcieńczalniku cytrynianowo-żółtkowym obserwowano odwrotne zjawisko. Redukcja drobnoustrojów była silniejsza w rozcieńczalniku bez glicerolu. Podobne spostrzeżenia dokonali Sullivan i wsp. [4], którzy przypadkowo użyli rozcieńczalnik cytrynianowo-żółtkowy.

Dalsze badania poświęcone będą zbadaniu wpływu wymienionych antybiotyków na naturalną florę bakteryjną w nasieniu.

PISMIENICTWO

1. Jaśkowski L., Różankiewicz E., Różankiewicz I., Szulc L., Kozłowska L.: Now. wet. 2, 107, 1972.
2. Kozłowska L.: (w druku).
3. Rosłanowski K., Wiatroszak L.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 31, 149, 1961.
4. Sullivan J. J., Elliot F. I., Bartlett D. E.: J. Dairy Sci. 49, 12, 1569, 1966.

Л. Козловска, К. Гоффманн-Возняк

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВЛИЯНИЮ НЕКОТОРЫХ АНТИБИОТИКОВ ПОЛЬСКОГО ПРОИЗВОДСТВА НА МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗОЛИРОВАННЫЕ ИЗ СЕМЕНИ БЫКОВ

Резюме

Исследовали бактериостатические и бактерицидные свойства польбициллина, виомицина и стрептомицина на следующие, изолированные из семени быков микроорганизмы: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Vibrio fetus*. Наивысшей потенцией и более широким спектром дей-

ствия характеризовался стрептомицин, который при добавке к разбавителю семени зараженного известным количеством микроорганизмов (50 или $5000 \cdot 10^3$ на мл) способствовал 10-100 000-кратному сокращению их количества. Менее активным оказался виомицин, неэффективный по отношению ко всем микроорганизмам, за исключением *Vibrio*. Польбициллин обнаружил бактерицидные свойства по отношению к *Vibrio* и стафилококкам.

L. Kozłowska, K. Hoffmann-Woźniak

INVESTIGATIONS ON INFLUENCE OF SOME ANTIBIOTICS
OF POLISH ORIGIN ON BACTERIA ISOLATED FROM BULL SEMEN

Summary

The bacteriostatic or bactericidal activity of polbicillin (penicillin cryst. + penicillin procain.), viomycin and streptomycin was investigated in relation to the following microorganisms isolated from bull semen: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* and *Vibrio fetus*. The highest potency and the widest spectre showed streptomycin, which added to semen contaminated with known number of bacteria (50 or $5000 \cdot 10^3$ per ml) caused 10-100,000 fold decrease of their number. Least active was viomycin, which has been found bacteriostatic in relation to *Vibrio* only. Polbicillin was bactericidal in relation to *Vibrio* and staphylococci.