

УДК 636.4:612.621.5

Д.М. БОГДАНОВИЧ, А.И. БУДЕВИЧ, О.И. ГЛИВАНСКАЯ

**ВЛИЯНИЕ НОВЫХ СОЧЕТАНИЙ САНИРУЮЩИХ
ПРЕПАРАТОВ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
СПЕРМЫ ХРЯКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

В результате проведения исследований по влиянию антибиотиков на показатели качества спермы хряков-производителей установлена оптимальная доза saniрующих препаратов цефотаксима, цефепима и ампициллина в составе разбавителя спермы хряков, которая способствует получению более высоких результатов по показателям подвижности, морфологической и акросомной целостности половых гамет в сравнении с препаратами аналогичного спектра действия.

Ключевые слова: акросома, антибиотики, морфология, патологические формы, подвижность, санация, сперма, хряки-производители.

D.M. BOGDANOVICH, A.I. BUDEVICH, O.I. GLIVANSKAYA

**EFFECT OF NEW COMBINATIONS OF SANITIZERS ON QUALITY
PARAMETERS OF BOARS' SEMEN**

RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
on Animal Husbandry»

As a result of studies on the effect of antibiotics on quality of producing boars' semen, the perfect dose of sanitizing agents cefotaxime, cefepime and ampicillin was determined as part of semen diluent which contributes to obtaining better results in terms of mobility, morphological and acrosome integrity of genital gametes compared to similar spectrum preparations.

Key words: acrosome, antibiotics, morphology, pathological forms, mobility, sanitation, semen, producing boars.

Введение. Искусственное осеменение в свиноводстве является основным методом воспроизводства животных. Особенно большие достижения отмечены в технологии получения, разбавления и хранения половых гамет производителей. Сперму разбавляют с целью увеличения объёма конечной спермопродукции и осеменения большего поголовья маток, поддержания генетически обусловленного уровня её оплодотворяющей способности на протяжении всего срока хранения [1, 2].

Однако эффективность указанного метода в значительной степени

зависит от санитарного качества спермы производителей, предъявляемого к ней. Одним из факторов, определяющих биологическую ценность половых гамет, является их загрязнённость условно-патогенной и непатогенной микрофлорой, попадающей из мочеполовых путей производителей, или во время взятия, или при исследовании и хранении [3]. Эякулят представляет собой благоприятную среду для роста и размножения микроорганизмов, которые выделяют продукты своей жизнедеятельности и токсины, снижающие выживаемость и оплодотворяющую способность спермиев [4].

У обсеменённых хряков наблюдается уменьшение количества эякулята, снижение подвижности спермиев. Продукты жизнедеятельности микроорганизмов также негативно воздействуют на клетки мембран акросом, что ослабляет их акросомную реакцию. Морфологические изменения спермиев могут продолжаться до 13 недель с момента заражения [4].

Из разбавителей, применяющихся в республике, наиболее широко известным является глюкозо-хелато-цитрато-сульфатная среда (ГХЦС-среда), которая позволяет сохранять разбавленную сперму от трёх до пяти дней. Для санации спермы хряков-производителей до настоящего времени применяли спермосан (пенициллин + стрептомицин + стрептоцид) и полиген (полимиксин + гентамицин), но в связи с вероятной токсичностью для спермиев некоторых серий компонентов этих препаратов их применение стало проблематичным. Кроме того, эффективность санирующих средств снижается в связи с увеличением количества штаммов резистентных микроорганизмов и их адаптации к действию антибиотика. За рубежом из целого ряда антибиотиков нашли применение цефтиофур, апрамицин и др. [5], однако данные по эффективности их воздействия на патогенную микрофлору недостоверны и противоречивы. В условиях нашей страны требуется проведение дополнительных исследований в направлении поиска оптимальных санирующих средств, которые должны не только обладать широким спектром действия, но и не оказывать отрицательного влияния на качество спермы.

В связи с этим целью исследований являлось изучение влияния новых санирующих препаратов на показатели качества спермы хряков-производителей.

Материал и методика проведения исследований. Исследования были проведены в 2014-2015 гг. в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области на клинически здоровых хряках-производителях породы йоркшир в возрасте 18-24 мес., в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Бела-

руси по животноводству» и в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Сперму получали мануальным методом при режиме взятия одна садка через 4 дня. Оценка эякулятов по показателям подвижности, выживаемости, концентрации спермиев, числу патологических форм и морфологической целостности проводилась с использованием компьютерного спермоанализатора SPERMVISION (Германия). Разбавление проводили глюкозо-хелато-цитрато-сульфатной средой (ГХЦС-средой) согласно «Инструкции по искусственному осеменению свиней» [6]. Оценка степени повреждения акросом спермиев (по методу Соколовской И.И. (1981) в нашей модификации) осуществлялась при увеличении в 800 раз с использованием микроскопа ZASILACZ-ZH - 100 (Польша), оснащённого темнопольным конденсором [7]. При разбавлении спермы в ГХЦС-среду добавляли следующие антибиотики: ампициллин, цефазолин, цефепим, цефотаксим, лефллокс, фурадонин в дозе 150, 200 и 250 мг на 1 литр разбавителя, гентамицин служил в качестве контроля. В каждой группе находилось по 70 эякулятов.

Для определения эффективности действия вышеперечисленных антибиотиков на микрофлору разбавленной спермы проводили высеv по 0,1 мл каждой пробы спермы на чашку с агаром с добавлением 5 % цельной крови от здоровых телят. После инкубации чашек в термостате при температуре 35-37 °С в течение 18-20 часов подсчитывали количество колониеобразующих единиц (КОЕ) на каждой чашке. Для получения количества колоний в 1,0 мл умножали полученное число на 10. Выделенные культуры идентифицировали при помощи биохимического анализатора Vitek Compact 2.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Результаты проведения исследований по ингибирующим свойствам различных антибиотиков представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние дозы санирующих препаратов на чувствительность микрофлоры разбавленной спермы хряков-производителей

Антибиотики	Микроорганизмы (КОЕ)			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Micrococcus luteus/lytae</i>	<i>Kocuria varians</i>	<i>Streptococcus porcinus</i>
1	2	3	4	5
150 мг на 1 л разбавителя				
ампициллин	80	110	-	-
цефазолин	-	90	130	120
цефепим	-	-	130	-

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
Цефотаксим	-	-	50	-
лефлос	80		130	150
фурадонин	-	100	60	-
гентамицин (контроль)	130		110	140
200 мг на 1 л разбавителя				
ампициллин	-	70	-	-
цефазолин	-	-	70	-
цефепим	-	-	40	-
цефотаксим	-	-	20	-
лефлос	-	-	90	80
фурадонин	-	-	-	-
гентамицин (контроль)	130		110	140
250 мг на 1 л разбавителя				
ампициллин	-	-	-	-
цефазолин	-	-	20	-
цефепим	-	-	-	-
цефотаксим	-	-	-	-
лефлос	-	-	10	20
фурадонин	-	-	-	-
гентамицин (контроль)	130	-	110	140

При анализе полученных данных можно отметить, что введение в состав разбавителя saniрующих препаратов в дозе 150-200 мг на 1 литр не оказало эффективного воздействия на микрофлору. Так, в чашках с *Kocuria varians* наблюдался рост колоний от 20 до 130 единиц, с *Streptococcus porcinus* – от 80 до 150 единиц. При введении 250 мг на 1 л разбавителя практически не наблюдалось микробной контаминации спермы, особенно по сравнению с контролем. Наиболее положительным оказалось применение ампициллина, цефепима, цефотаксима и фурадонина.

Способность спермиев к активному движению является одним из основных показателей качества спермопродукции и эффективности использования производителей. Двигательная активность спермы, разбавленной различными saniрующими препаратами, представлена в таблице 2.

Подвижность свежеполученной разбавленной спермы во всех группах находилась на уровне 8 баллов. При исследовании спермы по-

сле ее хранения в течение 24-72 часов наблюдалась тенденция повышения активности половых клеток с введением 250 мг санирующих препаратов на 1 л разбавителя.

Таблица 2 – Показатели подвижности спермы при введении различных доз санирующих препаратов

Антибиотики	Выживаемость спермы, балл/час			
	0 час	24 час	48 час	72 час
150 мг на 1 л разбавителя				
гентамицин (контроль)	8,3±0,06	6,9±0,05	6,4±0,04	6,1±0,03
ампициллин	8,3±0,06	6,8±0,01	6,4±0,03	6,1±0,02
цефазолин	8,3±0,06	6,7±0,06	6,5±0,05	6,1±0,01
цефепим	8,3±0,06	7,1±0,02	6,6±0,04	6,2±0,04
цефотаксим	8,3±0,06	7,1±0,04	6,6±0,07	6,3±0,06
лефлоскс	8,3±0,06	6,5±0,01	6,2±0,02	5,7±0,04
фурадонин	8,3±0,06	6,6±0,05	6,2±0,03	5,9±0,02
200 мг на 1 л разбавителя				
гентамицин (контроль)	8,3±0,06	7,4±0,01	6,7±0,02	6,3±0,05
ампициллин	8,3±0,06	7,4±0,04	6,8±0,01	6,3±0,03
цефазолин	8,3±0,06	7,5±0,03	6,7±0,07	6,3±0,02
цефепим	8,3±0,06	7,6±0,01	6,9±0,02	6,4±0,01
цефотаксим	8,3±0,06	7,6±0,02	7,0±0,03	6,4±0,01
лефлоскс	8,3±0,06	7,4±0,04	6,5±0,02	6,1±0,04
фурадонин	8,3±0,06	7,5±0,02	6,8±0,05	6,3±0,07
250 мг на 1 л разбавителя				
гентамицин (контроль)	8,3±0,06	8,0±0,05	7,3±0,02	7,0±0,03
ампициллин	8,3±0,06	8,0±0,03	7,4±0,01	7,3±0,03
цефазолин	8,3±0,06	8,0±0,05	7,2±0,02	7,0±0,02
цефепим	8,3±0,06	8,2±0,06	7,7±0,02	7,4±0,01
цефотаксим	8,3±0,06	8,2±0,02	7,7±0,03	7,3±0,01
лефлоскс	8,3±0,06	7,9±0,04	7,0±0,02	6,8±0,02
фурадонин	8,3±0,06	8,1±0,05	7,6±0,02	7,2±0,01

Лучшие показатели были при применении цефепима, цефотаксима, ампициллина и фурадонина, что и обусловило их дальнейшее использование в экспериментах.

При изучении морфологии патологий половых гамет с использованием различных санирующих препаратов в среде для разбавления были получены следующие результаты (таблица 3).

Таблица 3 – Морфологическая целостность спермиев в зависимости от используемых антибиотиков

Группы	Количество эякулятов	Проксимальные капли, %	Дистальные капли, %	Аномалия хвостика, %
гентамицин (контроль)	70	99,60±0,09	93,90±0,48	94,30±0,28
цефазолин	70	99,64±0,07	93,80±0,32	94,90±0,41
цефотаксим	70	99,58±0,07	93,65±0,32	94,34±0,44
цефепим	70	99,67±0,06	94,53±0,34	95,02±0,47
ампициллин	65	99,62±0,08	95,17±0,29	95,33±0,49

Отмечено проявление всех форм морфологических изменений спермиев при введении в разбавитель различных saniрующих препаратов (таблица 3). Проксимальные цитоплазматические капли представляют собой односторонние гладкие выпуклости на шейке спермия, такие половые клетки не обладают немедленной способностью к оплодотворению яйцеклетки. В исследованных пробах обнаружено лишь около 1 % спермиев с указанной патологией.

Дистальные цитоплазматические капли находятся в дистальном конце средней части шейки половых гамет. При проведении исследований установлено, что в пробах находилось 93-94 % интактных спермиев. В группе эякулятов с использованием ампицилина этот показатель был выше – 95,17 %.

Ненормально сформированный хвостик не допускает прогрессирующего движения спермия и может затруднить его продвижение в маточную трубу, не говоря уже о возможности проникнуть в яйцеклетку. В наших исследованиях выявлено, что в каждой из групп эякулятов содержалось 94-95 % морфологически целостных спермиев.

Данные исследований степени акросомной деструкции спермиев в зависимости от используемых антибиотиков и их концентраций отражены в таблице 4.

Отмечена тенденция проявления акросомных повреждений спустя 24 часа хранения, степень деструкции во всех группах находилась на уровне 2 %.

Спустя 72 часа хранения указанный показатель достоверно увеличился до 6,2 %. Стоит отметить, что наименьшая величина акросомных повреждений выявлена в группе с использованием ампицилина, наибольшая – в группе с цефепимом.

Заключение. 1. Использование цефепима, цефотаксима, ампицилина и фурадонина в дозе 250 мг на 1 л разбавителя оказывает высокое saniрующее действие (до 100 %) на выявленную микрофлору спермы

хряков – *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus/lytae*, *Kocuria varians* и *Streptococcus porcinus*.

Таблица 4 – Нарушение целостности акросом спермиев в зависимости от применения saniрующих препаратов

Группы	Количество эякулятов	Степень акросомной деструкции, %			
		Сроки хранения, часы			
		свежеполученная разбавленная	24	48	72
гентамицин (контроль)	70	–	1,98±0,26	2,88±0,26	5,60±0,2
цефазолин	70	–	2,10±0,15	2,95±0,28	5,52±0,21
цефотаксим	70	–	1,92±0,26	2,85±0,13	5,00±0,22*
цефепим	70	–	2,02±0,15	3,58±0,17*	6,20±0,21*
ампициллин	65	–	1,91±0,17	2,68±0,14	4,71±0,31*

Примечание: * - P<0,05

2. Применение 250 мг/ 1 л saniрующих препаратов цефотаксима, цефепима и ампициллина в состав разбавителя способствует повышению показателя подвижности в течение 72 часов хранения на 8,8 %.

3. Добавление ампициллина в дозе 250 мг/ 1 л разбавителя позволяет сохранить морфологическую и акросомную целостность половых гамет до 95 %.

Литература

1. Mitchell, J. R. The artificial insemination and Embryo transfer of dairy and beef cattle (including information pertaining to goats, sheep, horses, swine, and other animals): a handbook and laboratory manual for students, herd operators, and persons involved in genetic development / J. R. Mitchell, A. Gordon . – Illinois : Pearson Education, 2004. – 352 p.
2. Veterinary Reproduction & Obstetrics / G. H. Arthur [et al.]. – Seventh Edition. – W.B. : Saunders Company, 1996. – 726 p.
3. Saniрующие препараты для повышения качества спермы хряков-производителей / С. В. Советкин [и др.] // Ветеринария. – 2000. – № 6. – С. 48-50.
4. Bronicka, A. Aktualne kryteria oceny oraz uwarunkowania jakosci nasienia knura / A. Bronicka, Z. Dembinski // Med. Weter. –1999. – Vol. 55, № 7. – P. 436-439.
5. Факторы патогенности *Pasteurella multocida* / А. П. Лемеш [и др.] // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. – 2009. – № 2. – С. 20-26.
6. Инструкция по искусственному осеменению свиней / Е. В. Раковец [и др.]. – Мн., 1998. – 38 с.
7. Способ комплексной оценки качества спермы хряков : пат. № 8778 ВУ : С1 МПК А 61D 19/02 / Шейко И.П., Будевич А.И., Будевич И.И., Минина Н.Г., Богданович Д.М. ; заявитель и патентообладатель Ин-т животноводства Нац. акад. наук Беларуси. – № а20030345 ; заявл. 17.04.2003 ; опубл. 30.12.2006, Афіц. бюл. № 4. – 2 с.

(поступила 21.03.2016 г.)