

УДК 636.22128.082.453.5

**МЕТОДЫ САНАЦИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ
ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

А.Д. БУГРОВ, доктор биологических наук

Г.С. ТИХОНА, кандидат сельскохозяйственных наук

Харьковский биотехнологический центр УААН

Резюме. В работе изучен видовой состав микроорганизмов половых путей коров и телок. Предложены методы предупреждения микробной контаминации на этапах трансплантации эмбрионов, повышающие их приживляемость.

Ключевые слова: трансплантация, эмбрион, микроорганизмы, контаминация, антибиотики.

Введение. Несмотря на успехи, достигнутые в области трансплантации, выход полноценных эмбрионов и их приживляемость остаются нестабильными. Это зависит от многих причин, одной из которых является бактериальная контаминация [1, 2]. Проблемными остаются вопросы предупреждения заноса инфекции в матку при извлечении и пересадке эмбрионов, которые осуществляются в лютеальную фазу полового цикла, когда матка коровы особенно чувствительна к микробному фактору. Поэтому, одним из главных условий успешного применения трансплантации эмбрионов является проведение асептических и антисептических мероприятий [3, 4]. В качестве антисептических средств часто используют антибиотики. Широкое и бессистемное использование последних приводит к отрицательному действию их на организм животных и приобретению устойчивости микроорганизмов к ним.

Целью исследования была разработка методов микробной деконтаминации при трансплантации эмбрионов.

Материал и методика исследований. Бактериальную загрязненность половых путей коров и телок определяли во время течки и охоты и на 7-8-ой день полового цикла. Для этого производили отбор проб влагалищной слизи с последующим посевом на питательные среды для микроорганизмов. Слизистые оболочки половых путей санировали аэрозолем «Септонекс» и раствором Люголя с экспозицией 15 мин. Затем проводили извлечение и пересадку эмбрионов нехирургическим путем. Для санации промывных сред и сред для отмывки эмбрионов

были испытаны ампициллин с гентамицином, пенициллин с гентамицином, пенициллин со стрептомицином. Бактерицидные дозы антибиотиков определяли на чистых культурах условно-патогенных микроорганизмов (*E.coli*, *St.aureus*, *Pseudomonas aerug.*, *Bac.subtilis*) с использованием комплексов антибиотиков разных концентраций: пенициллин (100 Ед/мл) с гентамицином (4, 6, 10, 12, 25, 50 и 100 мкг/мл среды); ампициллин с гентамицином в тех же концентрациях; пенициллин (100 Ед/мл) со стрептомицином (50 Ед/мл). Влияние антибиотиков на приживляемость эмбрионов определяли при их добавлении в промывные буферные среды и в среды для многократного отмывания эмбрионов перед пересадкой реципиентам.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Анализ результатов бактериальной загрязненности половых путей показал, что у 9-ти телок из 10-ти (90 %) в пробах слизистой оболочки цервикальной части влагалища микроорганизмы присутствовали в лютеальную фазу полового цикла, у 6-ти телок из 10-ти (60%) – во время половой охоты (табл. 1).

Таблица 1

Бактериальная контаминация влагалищной слизи телок в фолликулярную и лютеальную фазы полового цикла (n=10)

День полового цикла	Рост микроорганизмов на питательных средах				
	МПБ		МПА		МПА в чашках
	положительных проб	%	положительных проб	%	м.г./мл смыва
0-й	6	60±15,48	4	40±15,48	483,5±267,5
1-й	8	80±12,64	7	70±15,48	390,5±93,1
2-й	6	60±15,48	6	60±15,48	221,5±66,6
7-й	9	90±9,48	7	70±14,49	495,0±85,3

Минимальное среднее количество микробных тел в 1 мл смыва со слизистой оболочки цервикальной части влагалища зафиксировано на 2-й день полового цикла (221,5±66,6), а максимальное – на 7-й день (495,0±85,3), когда производилась трансплантация эмбрионов.

Несколько иные результаты были получены в опытах на коровах. Наличие микрофлоры в смывах со слизистой оболочки цервикальной части влагалища было отмечено во время половой охоты у 17 коров из 21, что составляет 80,95 %, а в лютеальную фазу полового цикла (7-й день) – у 7 коров-доноров из 7 (100 %).

При идентификации микробов, присутствующих в смывах, была установлена видовая принадлежность: *E.coli*, *St.aureus*, *St.album*, *Proteus vulgaris*, *Bac.subtilis*, *Pseudomonas aerug.*

Санация половых путей коров и телок привела к значительному снижению роста микрофлоры. Лучшие результаты получены при об-

работке их раствором Люголя с экспозицией 15 мин. При этом происходило снижение роста микрофлоры в пробах, отобранных у коров, с $86,81 \pm 37,82$ до $2,07 \pm 1,12$ м.т./мл, т.е. в 41,9 раз, у телок-реципиентов – с 72,63 до 10,16 м.т./мл. Использование «Септонекса» снизило бактериальную контаминацию у коров только в 5,4 раза.

Исследования показали, что бактерицидным действием обладает комбинация ампициллина с гентамицином в концентрации 100 Ед/мл и 12 мкг/мл. Концентрация гентамицина 4, 6, 10 мкг/мл с ампициллином (100 Ед/мл) хотя и угнетала рост исследуемых штаммов микроорганизмов, но полной бактерицидной активностью не обладала. Пенициллин (100 Ед/мл) со стрептомицином (50 Ед./мл) оказались мало эффективными для микробной деконтаминации.

Добавление комплекса антибиотиков ампициллина (100 Ед./мл) и гентамицина (12 мкг/мл) в промывные буферные среды позволило получить 116 из 147 смывов, свободных от микрофлоры (78,9 %). В контроле из 144 смывов только 65 были свободны от микроорганизмов (45,2 %). Санация промывных буферных сред предупредила воспалительные процессы в матке, что в дальнейшем позволило многократно использовать высокопродуктивных коров-доноров. Эмбрионы из промывной буферной среды в дальнейшем, соответственно инструкции, должны проходить еще одну обработку – многократное отмывание стерильной буферной средой. Наши исследования показали, что даже пятикратное отмывание эмбрионов стерильной буферной средой не всегда дает положительный антимикробный эффект. Из 25 контрольных проб в трех наблюдался рост микрофлоры, а при отмывании эмбрионов с добавлением вышеуказанного комплекса антибиотиков все 25 проб были стерильными.

Исследования по определению влияния антибиотиков на приживляемость эмбрионов показали, что из 38 телок-реципиентов, которым были пересажены эмбрионы, отмытые средой с добавлением гентамицина с ампициллином (12 мкг/мл и 100 Ед/мл) стельными стали 28 голов. В контроле из 36 реципиентов только 18 голов были стельными ($P < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Влияние антибиотиков на приживляемость эмбрионов

Среда для отмывания эмбрионов	Всего реципиентов, гол.	Из них стельных	
		гол.	%
<u>Опыт</u> Ампициллин с гентамицином	38	28	73,6±7,14
<u>Контроль</u> Без антибиотиков	36	18	50±8,33

Выводы. 1. Санация половых путей коров-доноров и телок-реципиентов раствором Люголя с экспозицией 15 мин. достоверно снижает микробную контаминацию.

2. Добавление ампициллина с гентамицином в концентрациях 100 Ед./мл и 12 мкг/мл в промывные буферные среды и среды для отмывки эмбрионов обеспечивает полную деконтаминацию эмбрионов и повышает их приживляемость на 23,6 %.

Литература

1. Бугров А.Д., Величко И.М. Микробная контаминация при трансплантации эмбрионов // Тези. докл. симпозиума по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. – Тарту, 1986. – С. 38.

2. Sing et al. Embryo transfer as a means of controlling viral infections // Theriogenology. – 1983. – Vol. 20. – № 2. – P. 169-176.

3. Советкин С.В. Препараты и методы, обеспечивающие эффективную трансплантацию эмбрионов кр.рог.скота: Дис. д-ра биол. наук. в форме науч. докл. – Дубровицы, 1994.

4. Тихона Г.С. Способи підвищення приживлення ембріонів в.р.х. при трансплантації: Автореф. дис. канд. с.-г. наук. – Харків, 1996. – 25 с.

УДК 636.4.082.453.53

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ В ТЕХНОЛОГИИ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ СВИНЕЙ

А.И. БУДЕВИЧ, кандидат сельскохозяйственных наук

Е.И. ШЕЙКО, кандидат биологических наук

Е.И. ЛИНКЕВИЧ, кандидат сельскохозяйственных наук

Т.В. ЗУБОВА, кандидат сельскохозяйственных наук

Т.Н. БРОВКО, Д.М. БОГДАНОВИЧ, И.Н. ШЕВЦОВ, Т.Г. КИЗИК

РУП «Институт животноводства НАН Беларуси»

Резюме. Установлено, что применение биологически активных водных растворов вместо saniрующих препаратов в разбавителе позволяет улучшить качество получаемой спермопродукции, предназначенной для использования в технологии искусственного осеменения свиней, по показателям подвижности, выживаемости и состоянию акросом спермиев.

Ключевые слова: анолит, сперма, акросомы, хряки-производители.

Введение. С внедрением интенсивных методов ведения животноводства и возрастанием экологической нагрузки отмечается тенденция к снижению защитных функций организма, что приводит к нарушениям в различных жизненно важных системах, в частности, в репродуктивной в результате активизации жизнедеятельности патогенной и