

## **ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ШТУЧНОГО ОСІМЕНІННЯ КОРІВ ТА СВИНОМАТОК ШЛЯХОМ ЗАСТОСУВАННЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ ДЛЯ САНАЦІЇ СПЕРМИ ПЛІДНИКІВ**

*В. П. Музика, І. Є. Атаманюк, О. П. Панич, О. І. Чайковська, І. М. Кушнір*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок

*Вивчено можливість застосування декаметоксину, як складової частини сануючих препаратів для сперми бугаїв та кнурів. Досліджено видовий склад мікроорганізмів, які виділяються із сперми плідників, чутливість їх до декаметоксину та інших антимікробних препаратів; вплив декаметоксину та його поєднань з антимікробними засобами на санітарні, біологічні показники сперми, її запліднюючу здатність. У результаті проведеної роботи були розроблені препарати для санації сперми бугаїв Декомсан і для сперми кнурів Гентадекс.*

Однією із причин масових абортів, безпліддя корів, свиноматок можуть бути інфекційні і неінфекційні захворювання, викликані мікроорганізмами, які проникають в статевий тракт і плаценту. Післяродові інфекції являються наслідком інфікування матки в період родів і зараження посліду. Причиною метритів і пов'язаних з ними низькою заплідненістю та ембріональною смертністю є підвищена мікробна забрудненість сперми. Крім бактерій, в спермі можуть міститися і гриби, в тому числі і патогенні, які спричиняють мікотичні аборти.

Мікробне забруднення сперми бугаїв, як вказує Ф. П. Петрянкин [1], Н. И. Михайлов [2], Г. В. Зверева [3], спричиняє зниження запліднюючої здатності спермій, порушення ембріогенезу, виникнення абортів, метриту, народження мертвих або нежиттєздатних плодів у корів.

Науковцями при дослідженні видового складу мікрофлори сперми бугаїв та кнурів встановлено, що основну кількість бактерій в цих пробах складають гнилісні, аеробні палички типу *Bact.*, *Coli* і *Proteus*, спорові палички, факультативні анаероби типу стафілококів [4–7].

Жодний з існуючих методів одержання сперми від тварин не гарантує повної її стерильності. Наявність мікроорганізмів і їх швидке розмноження в спермі може негативно вплинути на збереження статевих клітин і привести до зниження їх запліднюючої здатності.

При штучному осіменінні самок важливим питанням є санація сперми плідників. Актуальність його пов'язана з тим, що санація не завжди приводить до бажаних результатів в зв'язку з тим, що деякі препарати або не ефективні по відношенню до мікрофлори сперми, або негативно діють на спермії. Тривале застосування бактерицидних препаратів в середовищах для розбавлення сперми може сприяти розвитку резистентних штамів мікроорганізмів [8, 9]. Одним із шляхів підвищення ефективності санації сперми є комплексне використання антибіотиків. Дослідження повинні бути спрямовані на пошук ефективних поєднань антимікробних препаратів, враховуючи їх механізм дії на мікробну клітину і спермії тварин.

Механізм дії антибіотиків складний, вони порушують різні сторони метаболізму мікробної клітини. Відомо, що, бензилпеніциліни, цефалоспорини інгібують синтез клітинної стінки мікроорганізмів, стрептоміцин порушує окремі фази вуглеводного обміну; левоміцетин пригнічує активність ферментів типу естераз; поліміксин порушує функціонування мембран мікроорганізмів, тетрациклін вступає у процеси комплексоутворення

з іонами магнію та кальцію. У деяких антибіотиків переважає бактерицидна дія — пеніциліни, аміноглікозиди; у інших — бактеріостатична — тетрацикліни, левоміцетин, макроліти.

Резистентність мікроорганізмів до дії антибіотиків виникає за відсутності в них структури, на яку діє препарат, у деяких клітинна стінка захищена додатковою мембраною, деякі мікроорганізми можуть переводити антибіотик у неактивну форму, виключати антибіотик з клітини[8].

На даний час ефективними препаратами вважаються поверхнево-активні речовини, механізм дії яких ґрунтується на дифільній структурі молекули. Ці препарати, зокрема, декаметоксин, відомі здатністю у суббактеріостатичних концентраціях підвищувати чутливість мікроорганізмів до інших протимікробних засобів. Декаметоксин належить до групи біс-четвертинних амонієвих сполук, проявляє антисептичну дію. У зв'язку з тим, що декаметоксин є поверхнево-активною речовиною, він змінює проникність мікробної клітини, приводячи до її деструкції та загибелі. Він володіє широким спектром антимікробної дії відносно грампозитивних і грамнегативних коків, ентеробактерій, псевдомонад, найпростіших, грибів роду *Candida*, хламідій. При застосуванні декаметоксину резистентні форми мікроорганізмів формуються повільно. Препарат підсилює дію інших антимікробних засобів при комплексному застосуванні. Доведено, що за окремими видами антимікробної активності оптимально сумісними з дослідженими сульфаніламидами виявивсь декаметоксин, що свідчить про відповідність механізмів поєднаної інгібіції синтезу фолієвої кислоти з порушенням проникності цитоплазматичної мембрани мікробної клітини або пригніченням її синтетичних і енергетичних процесів. Декаметоксин в поєднанні з сульфадиметоксином у 17,8 разів підвищував його вихідну антистафілококову активність, а з сульфадимезином — у 8 разів антистафілококову і у 32 рази — антиешерихіальну активність, комбінація ципрофлоксацину з декаметоксином має високу лікувальну активність при лікуванні стафілококових інфекцій [9]. У медицині дослідженнями на штамів мікроорганізмів з природною і набутою стійкістю до антимікробних препаратів визначено ефективність поєднаного застосування декаметоксину в комбінації з ципрофлоксацином, доведено синергійну дію суббактеріальних доз декаметоксину та ципрофлоксацину.

Завданням наших досліджень було вивчення можливості застосування декаметоксину як складової частини сануючих препаратів для бугаїв та кнурів. Для цього необхідно було дослідити видовий склад мікроорганізмів, які виділяються із сперми, чутливість їх до декаметоксину та інших антимікробних препаратів; вплив декаметоксину та його поєднань з антимікробними засобами на біологічні показники сперми, запліднюючу здатність сперми.

**Матеріали і методи.** В дослідженнях використовували сперму бугаїв та кнурів, отриману на штучну вагіну, у якості тест-мікроорганізмів — штами мікроорганізмів, стандартні диски антибіотиків. Чутливість мікроорганізмів визначали диско-дифузійним методом на середовищі Мюллера-Хінтона. Оцінку чутливості мікроорганізмів до декаметоксину проводили за показником мінімальної бактерицидної концентрації (МБК). В роботі визначали санітарні показники нативної сперми бугаїв та кнурів, відповідно розбавленої цитратно-жовтковим середовищем (ЦЖ) і глюкозо-хелато-цитратно-сульфатним середовищем (ГХЦС) з додаванням сануючого препарату, вивчали його вплив біологічні властивості. При цьому визначали абсолютне виживання та час виживання спермійв.

Запліднюючу здатність спермійв вивчали, визначаючи процент плідного осіменіння в перший і другий статевий цикл у корів, та загальний процент тільних корів, у свиноматок — настання супоросності та осіменіння в одну охоту. Кінцевий результат підраховували за опоросами і плодючістю свиноматок.

**Результати й обговорення.** Результати дослідження представлені в таблицях.

Отримані результати показали, що мікробна забрудненість нативної сперми бугаїв коливалася від  $2,8 \times 10^4$  КУО см<sup>3</sup> (колонієутворюючі одиниці) до  $1,6 \times 10^4$  КУО см<sup>3</sup>, кнурів — від  $5,6 \times 10^4$  КУО см<sup>3</sup> до  $2,4 \times 10^4$  КУО см<sup>3</sup>, що свідчить про її високу забрудненість.

Із 44 проб нативної сперми, отриманих від бугаїв, 15 (34,1 %) проб виявились вище допустимих ветеринарно-санітарних норм (табл. 1).

Таблиця 1

#### Мікробна забруднення нативної сперми бугаїв

Кількість проб сперми	Число мікроорганізмів в 1 см <sup>3</sup> сперми					
	Відсутні		До 5000		Більше 5000	
	Кількість	%	Кількість	%	Кількість	%
44	5	11,2	24	54,5	15	34,3

Аналіз зразків як нативної, так і розбавленої сперми показав, що частіше виділялися бактерії групи *E. coli* 32 (нативна) і 18 % (розбавлена), *Sreptococcus spp.* 28 і 12 % *Staphylococcus spp.* 20 і 11%, *P. aeruginosa* 16 і 10 %, *B. subtilis* 8 і 4 %, відповідно.

Аналогічно дані мікроорганізми виділялися із сперми кнурів (табл. 2).

Результати досліджень зон затримки росту мікроорганізмів при культивуванні на середовищі Мюллера-Хінтона і чутливості мікроорганізмів до декаметоксину представлені у таблиці 3.

Таблиця 2

#### Мікробна забруднення нативної сперми кнурів

Кількість проб сперми	Число мікроорганізмів в 1 см <sup>3</sup> сперми			
	До 5000		Більше 5000	
	Кількість	%	Кількість	%
60	25	41,3	45	58,7

Таблиця 3

#### Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів при культивуванні на агаровому середовищі Мюллера-Хінтона (n = 5)

Антибіотики	Діаметри зон затримки росту (мм)			
	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>
Ампіцилін	29,1 ± 5,1	17,1 ± 3,5	-	-
Пеніцилін	27,3 ± 4,1	-	-	-
Оксацилін	20,2 ± 4,4	-	-	-
Гентаміцин	22,2 ± 2,1	22,4 ± 4,2	18,3 ± 3,4	18,3 ± 4,2
Норфлорксацин	19,1 ± 4,3	25,2 ± 2,2	24,1 ± 4,2	24,2 ± 5,2
Енрофлорксацин	20,1 ± 4,1	24,2 ± 2,1	22,1 ± 4,1	24,2 ± 4,2
Левоміцитин	20,1 ± 3,1	20,1 ± 4,2	-	-
Еритроміцин	23,1 ± 4,2	20,2 ± 3,2	-	-
Цефтріаксон	24,2 ± 3,2	27,5 ± 3,8	20,5 ± 3,4	20,8 ± 3,2
Цефазолін	25,2 ± 3,2	25,5 ± 3,8	23,5 ± 3,8	27,8 ± 3,2

Примітка: - — відсутність зон затримки росту

Встановлено, що діаметри затримки росту для групи пеніцилінів складає 20,2–29,1 мм для стафілококів, 17,1 мм (ампіцилін) для кишкової палички. Для гентаміцину діаметри затримки росту становили від 22,2 до 18,3 см, фторхінолонів (норфлорксацин і енрофлорксацин) — 19,1–24,2 мм. Діаметр затримки росту для групи цефалоспоринів (цефтріаксон, цефазолін) складає 24,2–25,2 — для стафілококів, 27,5–25,5 — для кишкової палички, 20,5–23,5 — для синьогнійної палички і 20,8–27,8 мм — для протею. При цьому видно, що не всі антибіотики діють на мікроорганізми.

Дослідженнями встановлено, що мікроорганізми, які були виділені із сперми кнурів, (*E. coli*, *P. vulgaris*, *S. epidermidis*, *Staphylococcus spp.*, *P. aeruginosa*) є чутливими до декаметоксину, гентаміцину та їх поєднань. До декаметоксину чутливі *S. epidermidis* у концентрації 0,11 мкг/мл, *S. aureus* — 0,90 мкг/мл, *E. coli* — 3,9 мкг/мл, *P. vulgaris* — 7,8 мкг/мл, *P. aeruginosa* — 15,6 мкг/мл. (табл. 4).

Таблиця 4

Чутливість мікроорганізмів, виділених із сперми кнурів, до декаметоксину

Концентрація препарату, мкг/мл	Культури мікроорганізмів				
	<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. aeruginosa</i>
62,50	-	-	-	-	-
31,20	-	-	-	-	-
15,60	-	-	-	-	-
7,80	-	-	-	-	+
3,90	-	-	-	+	+
1,80	-	-	+	+	+
0,90	-	-	+	+	+
0,45	-	+	+	+	+
0,22	-	+	+	+	+
0,11	-	+	+	+	+
0,06	+	+	+	+	+

Примітка: «-» - відсутність росту культури; «+» - наявність росту культури.

Чутливість до гентаміцину становила у концентраціях: *S. aureus* — 2,9 мкг/мл, *E. coli*, *P. vulgaris* — 5,8 мкг/мл, *P. aeruginosa* — 11,8 мкг/мл. При поєднаннях гентаміцину з декаметоксином у певних пропорціях, чутливість мікроорганізмів проявлялася у значно нижчих концентраціях.

Для визначення максимально нешкідливих доз вибраних антимікробних компонентів розбавлену сперму з препаратами досліджували за біологічними показниками: абсолютне виживання (S) і виживання спермій у годинах (Ч). Для цього сперму бугаїв розбавляли цитратно-жовтковим середовищем (ЦЖ) і кнурів — глюкозо-хелато-цитратно-сульфатним середовищем (ГХЦС) з додаванням сануючих препаратів.

Виходячи з отриманих результатів досліджень, нами запропонований препарат для санації сперми бугаїв Декомсан — комплекс препаратів декаметоскин-пеніцилін-стрептоміцин. Документація на вказаний препарат затверджена Державним департаментом ветеринарної медицини 18.03.1998 р. ТУУ №4615325-98. Патент №22016. Препарат в запропонованих концентраціях нетоксичний для спермій бугаїв, біологічні та біохімічні показники якості сперми, санованої Декомсаном відповідають відповідним стандартам. Так у сперми, санованої Декомсаном показник абсолютного виживання спермій на 12 % вищий, ніж у санованій спермосаном-3 і на 13,5 %, ніж у несанованій. Вивчення запліднюючої здатності сперми, санованої цим препаратом, теж підтвердило його високу ефективність. Процент плідного осіменіння в першій статевий цикл в досліді становив 65,8–68,8 %, у другий статевий цикл — 26,3–8,6 %. У контролі (сперма, санована спермосаном-3) ці показники були, відповідно, 53,1–60,0 і 34,3–37,5 %. Загальний процент тільки корів становив у досліді 92,2–97,1 %, у контролі 87,5–94,3 %.

З метою визначення оптимальної композиції компонентів нового сануючого препарату для санації сперми кнурів Гентадекс були проведені дослідження впливу різних доз гентаміцину сульфату і декаметоксину на рухливість, показник абсолютного виживання спермій. На основі отриманих даних нами запропонований сануючий препарат Гентадекс. У ГХЦС розбавнику з Гентадексом показник абсолютного виживання (S) і виживання спермій у годинах (Т) були вищі на 26 і 8 %, ніж у контролі. (табл. 5).

**Біологічні показники сперми кнурів, санованої Гентадексом і несанованої, розбавленої ГХЦС середовищем (контроль)**

Препарат	Активність спермій, доби зберігання, бали									S	T	%	%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9				
Гентадекс	8	7	7	6	5	5	4	3	0.5	913	192	126	108
Контроль	8	6	6	3	2	2	op	-	-	723	144	100	100

У господарствах Волинської області вивчали запліднюючу здатність спермій кнурів у спермі, санованій Гентадексом. Дослідження проводили на здорових свиноматках, які знаходилися в однакових умовах годівлі, утримання і догляду. Настання супоросності враховували від осіменіння в одну охоту. Кінцевий результат підраховували по опоросах (табл. 6).

Таблиця 6

**Заплідненість свиноматок, осіменених спермою, санованою Гентадексом**

Показники	Результати осіменіння
Осіменено свиноматок	80
Запліднилось, гол.	68
Запліненість %	85
Вихід поросят на одну свиноматку	9,2

Аналіз отриманих даних досліджень свідчить про високу заплідненість свиноматок, осіменених спермою, санованою Гентадексом.

## В И С Н О В К И

Вивчено можливість застосування декаметоксину як складової частини сануючих препаратів для бугаїв та кнурів. Досліджено видовий склад мікроорганізмів, які виділяються із сперми плідників, чутливість їх до декаметоксину та інших антимікробних препаратів; вплив декаметоксину та його поєднань з антимікробними засобами на санітарні, біологічні, показники сперми, її запліднюючу здатність. В результаті проведеної роботи були розроблені препарати для санації сперми бугаїв Декомсан і для кнурів Гентадекс.

**Перспективи подальших досліджень.** З метою підвищення ефективності санації сперми продовжуються дослідження з комплексного використання антибіотиків, враховуючи їх механізм дії на мікробну клітину і спермії тварин.

### **INCREASE OF EFFICIENCY OF ARTIFICIAL INSEMINATION OF COWS AND SOWS BY APPLICATION OF DECAMETOXIN FOR SANITATION OF PRODUCERS SPERM**

*V. P. Muzyka, I. E. Atamaniuk, O. P. Panych, A. I. Chaykovska, I. M. Kushnir*

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives

## S U M M A R Y

Possibility of decametoxin application is studied, as to component part of sanitation preparations for sperm of bulls and male hogs. Specific composition of microorganisms that is distinguished from producers sperm, sensitiveness of them to decametoxin and other anti-microbial preparations; influence of decametoxin and his combinations with anti-microbial facilities on the sanitary, biological indexes of sperm, its reproductive ability. As a result of the conducted work

there were designed preparations for sanitation of Decomsan bulls sperm and for sperm of Gentadex male hogs.

## **ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ КОРОВ И СВИНОМАТОК ПУТЕМ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕКАМЕТОКСИНА ДЛЯ САНАЦИИ СПЕРМЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ**

*В. П. Музыка, И. Е. Атаманюк, А. П. Панич, А. И. Чайковская, И. М. Кушнир*

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

### **А Н Н О Т А Ц И Я**

Изучена возможность применения декаметоксина, как составной части saniрующих препаратов для спермы быков и хряков. Изучено видовой состав микроорганизмов, которые выделяются из спермы производителей, чувствительность их к декаметоксину и другим противомикробным препаратам; влияние декаметоксина и его сочетаний с противомикробными средствами на санитарные, биологические показатели спермы, ее воспроизводительную способность. В результате проведенной работы были разработаны препараты для санации спермы быков Декомсан и для спермы хряков Гентадекс.

### **Л І Т Е Р А Т У Р А**

1. *Петрянкин Ф. П., Зудилин В. А.* Бактериальная контаминация спермы быков. Ветеринария. — 1976. — № 7. — С. 84–85.
2. *Михайлов Н. Н., Чистяков И. Я., Зудилин* Роль условно-патогенной микрофлоры в этиологии нарушения репродуктивной функции у животных. Мат. конф. по профилактике бесплодия сельскохозяйственных животных на Северном Кавказе. Новочеркасск. — 1974. — С. 35–38.
3. *Зверева Г. В.* Роль грибов в эмбриональной смертности коров // Докл. К VI Международному контр. по размнож. и искусств. осеменению. М.: Колос, 1968. — С. 53–55.
4. *Балашов Н. Г.* Ветеринарный контроль препаратов искусственного осеменения животных. М.: Колос. — 1980. — С. 146.
5. *Осетров А. М., Новиков В.В.* Профилактика микробного загрязнения спермы хряков. Свиноводство., 1983, №2 – с.19-20.
6. *Паришутин Г.В., Михайлов Н.Н., Козло Н.Е.* Искусственное осеменение с.х. животных. М. „Колос” 1976, 240 с.
7. *Пантюхова О.И.* Влияние микроорганизмов и бактериологических веществ на переживаемость и оплодотворяющую способность спермиев. Киев. 1986, 213 с.
8. *Осетров А.М., Новиков В.В.* Профилактика микробного загрязнения спермы хряков. Свиноводство., 1983, №2 – с.19-20.
7. *Родина В.Н., Балашов Н.Г., Зайцев А.Ф.* Сравнительное изучение бактерицидных свойств и безвредности препаратов при санации спермы животных. Труды ВГНКИ ветпрепаратов. 1978.
8. Протимікробна дія та біологічна активність нових антисептиків і деяких хінолінів. Автореферат дис. канд. мед. наук: 03.00.07 / М. В. Бойко; АМН України
9. Антибіотикорезистентність та шляхи її подолання: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції і пленуму Асоціації інфекціоністів Сумщини, 30-31 травня 2012 року, м. Суми / ред. М. Д. Чемич, В. М. Козько та ін. — Суми: Сумський державний університет, 2012. — 104 с.