

2.Krolinski J. Wplyw Pseudomonas aeruginosa na przezywalnosc plennikow w nasienin buhajow. - Med.wet., 1977, vol.33, №5. S. 298-299.

3.Соколов В.Л., Малыгин А.И., Афанасьева Г.Е. Комплексная профилактика инфекций птиц, передающихся трансвариально// Тезисы докл. Всесоюзной научной конференции по разработке, апробации и государственному контролю ветеринарных препаратов. - М., 1981.- С. 78.

4.Осташко Ф.И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота. - К.: Аграрна наука, 1995.- С. 183.

5.Калашник.І.О. Біологічні стимулятори у ветеринарії та тваринництві. – К.: Урожай, 1974.-С.28-68.

6.Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей.// Методические рекомендации. - Х.,1990.

Определено влияние замены желтка куриных яиц плацентарным препаратом, в среде разбавления спермы быков производителей. Замена желтка дает возможность улучшить санитарный уровень спермы, а также ее качественные показатели.

The influencing of replacement of a yoke of eggs by a placental drug, in medium for a dilution of a semen of the bulls of the sires is determined. The replacement of a yoke enables to improve a sanitarian level of a semen, and also its her quality indicators.

УДК 57.08:636.2.082:619:615.55

МЕТОД САНАЦІЇ СПЕРМИ ТА ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Г.С. Тихона, О.Д.Бугров

Харківський біотехнологічний центр УААН

Викладено результати по санації сперми та ембріонів великої рогатої худоби з використанням комплексу антибіотиків гентаміцину з ампіциліном.

ембріони, спермії, трансплантація, штучне осіменіння, антибіотики

Відомо, що мікрофлора має негативний вплив як при штучному осіменінні корів, так і при трансплантації ембріонів. Тому однією з головних умов успішного використання штучного осіменіння та трансплантації ембріонів у скотарстві є запобігання мікробній контамінації. Це можливе лише при використанні засобів асептики та антисептики на кожному етапі цих технологій. Широке та безсистемне використання антибіотиків, в якості антисептичних засобів, призводить до негативного впливу їх на організм тварин, а мікроорганізми набувають стійкості до них.

Метою нашої роботи було розробка методу санації сперміїв та ембріонів великої рогатої худоби з урахуванням його дії на мікроорганізми.

Методика досліджень. Пошук антимікробного препарату для санації ембріонів та сперми почали з визначення резистограми найбільш розповсюджених антибіотиків. У дослідженнях використовували комплекси: ампіцилін і гента-

міцин, пеніцилін і гентаміцин, пеніцилін і стрептоміцин, тому що комбінації антибіотиків поширюють спектр антимікробної дії. Бактеріологічні дослідження проводили відповідно до держстандартів 20909.1-75 та 20909.2-75. Облік колоній мікроорганізмів робили після інкубування при 37⁰С через 24 години.

Для встановлення дози антибіотиків було проведено модельні бактеріологічні досліди, в яких використовували чисті культури умовно-патогенних мікроорганізмів (*E.coli*, *St.aureus*, *Pseudomonas aerug.*, *Bac.subtilis*) у розведенні 1:1000 та комплекси антибіотиків різних концентрацій: пеніцилін (100 ОД/мл) з гентаміцином (4, 6, 10, 12, 25, 50 і 100 мкг/мл середовища); ампіцилін з гентаміцином у тих же концентраціях; пеніцилін (100 ОД/мл) зі стрептоміцином (50 ОД/мл).

Для встановлення впливу вищевказаного комплексу антибіотиків на ембріони ми додавали його в промивне середовище та в середовище для багаторазового відмивання ембріонів перед пересадкою реципієнтам. Контролем були ембріони, які одержані та відмиті середовищами без антибіотиків.

Для санації нативної, а також підготовленої для кріоконсервації сперми бугаїв у відкритих та облицьованих гранулах за Харківською технологією використовували той же комплекс антибіотиків: ампіцилін з гентаміцином, але концентрація гентаміцину була 25 мкг/мл середовища, яка встановлена в модельному досліді на виживаність спермій.

При розморожуванні сперми використовували 2,9-відсотковий розчин цитрату натрію з 100 ОД/мл ампіциліну та 25 мкг/мл гентаміцину, який розфасовували в поліетиленові ампули по 1 мл, герметично упаковували, заморожували шляхом занурення в рідкий азот, в якому зберігали до використання.

Вживаність і абсолютний показник виживаності сперми визначали за методикою В.К.Мілованова.

Коефіцієнт токсичності розраховували за формулою, запропонованою М.Г.Балашовим.

Результати досліджень. У модельних бактеріологічних дослідженнях була встановлена концентрація антибіотиків, яка є оптимальною для санації ембріонів та нативної сперми великої рогатої худоби: ампіциліну 100 ОД/мл та гентаміцину 12,5 й 25 мкг/мл відповідно. Концентрація гентаміцину 4, 6, 10 мкг/мл у комбінації з ампіциліном (100 ОД/мл) хоча і пригнічувала ріст дослідних мікробів, але повної бактерицидної активності не спостерігалось. Комбінація пеніциліну (100 ОД/мл) зі стрептоміцином (50 ОД/мл) в концентраціях, які рекомендовані інструкцією, виявилася не ефективною проти дослідних штамів мікробів.

Результати дослідів по санації промивних буферних середовищ з комплексом антибіотиків ампіциліну (100 ОД/мл) та гентаміцину (12,5 мкг/мл) свідчать, що зі 147 санованих змивів 116 – були вільні від мікрофлори (78,9%). У контрольних змивах без додавання антибіотиків з 144 змивів тільки 65 – вільні від мікроорганізмів (45,2%). Ембріони з промивного буферного середовища надалі відповідно до інструкції по трансплантації ембріонів великої рогатої худоби, повинні проходити ще одну обробку – багаторазове відмивання стериль-

ним буферним середовищем. Однак мікробіологічні дослідження свідчать, що навіть п'ятиразове відмивання ембріонів стерильним буферним середовищем не завжди дає позитивний антимікробний ефект.

Із 25 досліджених проб у трьох спостерігався ріст мікрофлори, а при відмиванні ембріонів з додаванням антибіотиків ампіциліну з гентаміцином (100 ОД/мл 12,5 мкг/мл) всі проби були стерильними.

1. Вплив антибіотиків на приживлюваність ембріонів

Середовище для відмивання ембріонів	Всього реципієнтів, гол.	З них тільки	
		кількість, гол.	%
Ампіцилін з гентаміцином	38	28	73,6±7,14
Без антибіотиків	36	18	50±8,33

Комплекс антибіотиків ампіцилін з гентаміцином має широкий спектр антимікробної дії й не шкодить приживлюваності ембріонів.

З таблиці 1 видно, що із 38 реципієнтів, яким були пересаджені ембріони відмиті середовищем з комплексом антибіотиків гентаміцин з ампіциліном (12,5 мкг/мл та 100 ОД/мл) тількими стали 28 голів, що становить 73,6%. У контролі – з 36 реципієнтів тільки 18 голів були тількими, що становить 50% ($P < 0,05$).

Наші подальші дослідження були присвячені вибору оптимальної концентрації антибіотиків при заморожуванні сперми з урахуванням результатів, що були одержані в дослідах з нативною спермою, тобто ампіциліну й гентаміцину в концентраціях відповідно 100 ОД та 25 мкг на 1 мл середовища.

Так, у досліді зі спермою, яку заморожували в облицьованих гранулах за Харківською технологією, для отримання сперми використовували два середовища. Установлено, що виживаність спермій при додаванні вищевказаних антибіотиків у середовище №1 була вищою на 0,7 год., абсолютний показник виживаності – на 2,4 ОД. у порівнянні з контролем та на 0,5 год., 2,5 ОД. у порівнянні з додаванням антибіотиків в обидва середовища.

При заморожуванні сперми у відкритих гранулах показано, що додавання антибіотиків ампіциліну і гентаміцину в концентрації відповідно 100 ОД і 25 мкг на 1 мл середовища перевищувало контрольні показники виживаності на 0,9 год. ($P < 0,001$) і абсолютний показник виживаності – на 1,8 ОД. ($P < 0,01$), що не перевищувало норм токсичності.

При розморожуванні сперми у 2,9-відсотковому розчині натрію цитрату з ампіциліном і гентаміцином у таких же концентраціях підвищувало виживаність спермій на 1,4 год. і абсолютний показник виживаності – на 4,0 ОД. ($P < 0,01$), а також не було токсичним по відношенню до спермій. Крім цього, було проведено вивчення впливу середовища для розморожування при зберіганні його в рідкому азоті і при кімнатній температурі на протязі 3-х діб (табл. 2).

2. Вживаність сперми, замороженої у відкритих гранулах з використанням розморожувача при різних температурах його зберігання

Середовище	Вживаність спермій, год.	Абсолютний показник виживаності, од.
Свіжоприготований цитрат натрію без антибіотиків	5,4±0,28	18,4±1,4
Свіжоприготований цитрат натрію з антибіотиками	7,2±0,29	23,4±1,3
Цитрат натрію з антибіотиками при зберіганні при +18°C	6,3±0,29	21,5±1,3
Цитрат натрію з антибіотиками при зберіганні в рідкому азоті	7,1±0,26	23,1±1,3

Установлено, що для запобігання зниження активності 2,9-відсоткового розчину цитрату натрію, що містить антибіотики, необхідно зберігати його в рідкому азоті при температурі -196°C.

Результати порівняльного аналізу використання середовищ з доданням антибіотиків та без них показали, що показники виживаності спермій на 1,5 год. ($P < 0,01$) і на 2,4 ОД. – абсолютний показник виживаності зі спермосаном-3 перевищували контроль (без антибіотиків). Однак у порівнянні з комплексом антибіотиків ампіциліну з гентаміцином він був менш ефективним на 0,5 год. і 1,0 ОД відповідно, перевищуючи при цьому норму токсичності (2,4 проти 2,1 – для комплексу ампіциліну з гентаміцином).

У досліді з замороженою-відталою спермою спостерігалася та ж тенденція, однак при цьому спермосан-3 проявляв більш токсичну дію (2,6 для спермосана-3 і 2,2 – для комплексу гентаміцину з ампіциліном). Тобто більш ефективним виявився запропонований нами комплекс антибіотиків ампіциліну з гентаміцином у концентрації 100 ОД/мл і 25 мкг/мл відповідно.

Висновки:

1. Комплекс антибіотиків ампіцилін з гентаміцином у концентраціях 100 ОД/мл та 12,5 мкг/мл є надійним антимікробним засобом.

2. У результаті дослідів було встановлено, що найбільш оптимальними концентраціями при роботі з ембріонами є ампіцилін з гентаміцином у дозі 100 ОД/мл та 12,5 мкг/мл, а дози для сперми, при яких не знижується показник виживаності спермій є 100 ОД/мл ампіциліну з 25 мкг/мл гентаміцину.

Изложены результаты по санации спермы и эмбрионов крупного рогатого скота с использованием комплекса антибиотиков гентамицина с ампицилином.

The optimal dose of antimicrobial complex consists from ampicillin and gentamicin was determined. Influence of the complex on bovine sperm survival and pregnancy rate of cows at embryo transfer was studied.