

ПРО ДЕЯКІ БАКТЕРІОСТАТИЧНІ РЕЧОВИНИ ДЛЯ ЗНЕШКОДЖЕННЯ РОЗБАВЛЕНОЇ СПЕРМИ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ ВІД МІКРОБНОЇ ЗАБРУДНЕНОСТІ

О. І. ПАНТЮХОВА, кандидат біологічних наук

Київська дослідна станція тваринництва

Одним з найважливіших завдань у технології роботи із спермою є цюнальний підбір найбільш ефективних, доступних і разом з тим неладних при застосуванні бактеріостатичних речовин, які окремо або у мбінації можна було б використати для знезараження розбавленої ерми при заморожуванні та її збереженні. Незважаючи на те, що в актичній роботі широко застосовують пеніцилін, стрептоміцин та рептоцид білий або спермосан-3, питання про підбір бактеріостатичних човин ще не повністю розроблене.

Тому метою проведених нами досліджень було вивчення антибакте-альних властивостей спермосану-3, ферменту глюкозооксидази, тетра-кліну та комбінованої дії тетрацикліну з глюкозооксидазою, тетра-кліну з ністатином.

Глюкозооксидаза привернула до себе нашу увагу тому, що вона роко застосовується у медицині і харчовій промисловості для запо-ання псуванню харчових продуктів при зберіганні.

У дослідах *in vitro* О. О. Нікольська (1966) встановила, що очищені епарати глюкозооксидази у великих розведеннях затримують ріст ачної кількості грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів при нцентрації їх 0,0005—3,12 *мкг/мл* залежно від виду мікроба.

Зважаючи на те, що в спермі постійно мешкають грампозитивні і амнегативні мікроорганізми, з метою профілактики розбавленої спер-ми ми вивчали рідкий мікроцид та суху глюкозооксидазу.

Рідкий мікроцид з титром 1 : 10000, 1 : 20000, 1 : 40000, 1 : 50000 та ший препарат глюкозооксидази з діючою активністю 225 *мкг/мл* було ержано з Інституту мікробіології імені академіка Заболотного Н УРСР.

Для визначення оптимальних концентрацій рідкого мікроциду та хої глюкозооксидази вивчали дози від 0,9 до 0,002 *мкг/мл* розріджу-а. Сперму від бугаїв-плідників розбавляли 1 : 10 глюкозо-цитратно-овтковим розріджувачем до якого додавали відповідні концентрації ідкого мікроциду з титром 1 : 10000, 1 : 20000, 1 : 40000, 1 : 50000 та су-ий препарат глюкозооксидази з діючою активністю 225 *мкг/мл*. Розбав-ену сперму зберігали при температурі 37° до припинення поступального уху спермій, після чого визначили оптимальну концентрацію, вирахо-уючи абсолютний показник виживаності. Як контроль використали терму, розбавлену тим же розріджувачем, але без добавок антибіотиків.

Оптимальною концентрацією рідкого мікроциду є 0,001—0,002 *мкг/мл*, а сухої глюкозооксидази — 0,002 *мкг/мл* (табл. 1).

У дослідах вивчали також знешкодження мікробів рідким мікроци-

дом і сухою глюкозооксидазою в оптимальних концентраціях при збереженні розбавленої сперми. З цією ж метою вивчали антимікробну властивість спермосану-3, тетрацикліну і комбінованої дії тетрацикліну з глюкозооксидазою та тетрацикліну з ністатином.

Дослідження проводили на еякулятах 10 бугаїв-плідників. Кожний одержаний еякулят ділили на сім частин і розбавляли в співвідношенні 1 : 10 глюкозо-цитратно-жовтковим розріджувачем звичайного складу з добавкою бактеріостатичних речовин:

I без бактеріостатичних речовин (контроль);

II з добавкою спермосану-3 у дозі відповідно до діючої рекомендації МСГ СРСР;

III з внесенням мікроциду з титром 1 : 10000 у дозі 0,002 *мкг/мл* розріджувача;

IV з добавкою тетрацикліну в дозі 80 ОД на 1 *мл* розріджувача;

V з добавкою сухої глюкозооксидази в дозі 0,002 *мкг/мл*;

VI з добавкою сухої глюкозооксидази в дозі 0,002 *мкг/мл* і тетрацикліну 50 ОД на 1 *мл* розріджувача;

VII з внесенням тетрацикліну з ністатином по 50 ОД дії в 1 *мл*.

Розбавлену сперму зберігали при температурі 37°. Для вирахування абсолютного показника переживаності спермій їх активність визначали через кожну годину до загибелі. З метою вивчення бактеріостатичної дії введених добавок, розбавлену сперму висівали через 1, 5, 10 годин збереження на м'ясо-пептонний агар в чашках Петрі. Ріст мікробів обліковували після 72-годинного витримання посівів у термостаті при температурі 37°. Ступінь чутливості мікроорганізмів до бактеріостатичної дії речовин визначали 3 рази на підставі зменшення росту мікробів і збереження високого абсолютного показника виживаності спермій.

Результати дослідження впливу бактеріостатичних речовин на абсолютний показник виживаності спермій та мікробну забрудненість у процесі зберігання сперми протягом 1, 5, 10 годин при температурі 37° показані в таблицях 2, 3.

У результаті проведених досліджень встановили, що спермосан-3 пригнічує ріст мікробів протягом 10 годин. Так, за першу годину зберігання сперми було одержано до 47,4% чистих проб, а протягом 10 годин — 41,6%. Суцільного росту мікроорганізмів не було відмічено. Мікроцид, глюкозооксидаза, тетрациклін, тетрациклін з ністатином мали слабку антимікробну дію, оскільки у спермі з добавкою мікроциду, збереженій протягом 5 годин, у 69% проб встановили підвищену мікробну забрудненість, з добавкою глюкозооксидази — 77, тетрацикліну — 47,4, тетрацикліну з ністатином — 42,4%. Глюкозооксидаза з тетрацикліном мала високу антимікробну дію протягом 10 годин, але згубно діяла не тільки на мікроби, а й на спермії. Виживаність спермій у пробах з добавкою мікроциду була низькою і становила 3,230, глюкозооксидази — 9,264, глюкозооксидази з тетрацикліном — 2,802.

Отже, глюкозооксидаза в оптимальних концентраціях (0,002 *мкг/мл*) слабо затримує ріст мікроорганізмів і негативно впливає на сперму.

Результати досліджень мікробної забрудненості сперми свідчать,

Абсолютний показник переживаності сперми бугаїв-плідників при визначенні оптим

Розріджувач з добавкою	Концентрація							
	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2
ий мікроцид з титром 1 : 10000	0,030	0,050	0,060	0,100	0,150	0,300	0,350	0,200
ий мікроцид з титром 1 : 20000	0,350	0,450	0,500	0,550	0,550	0,750	0,850	0,950
ий мікроцид з титром 1 : 40000	0,250	0,325	0,550	0,550	0,550	0,700	0,700	0,800
ий мікроцид з титром 1 : 50000	0,250	0,250	0,400	0,350	0,450	0,600	0,600	0,675
ий препарат глюкозооксидази	—	—	—	—	—	—	—	—
троль без бактеріостатичних ре-	—	—	—	—	—	—	—	—
ди	—	—	—	—	—	—	—	—

Вплив бактеріостатичних речовин на абсолютний показник виживаності спермій

Розріджувач	Абсолютний показник виживаності, спермій, $M \pm t$
окозо-цитратно-жовтковий без бактеріостатичних речовин	4,771 \pm 0,36
окозо-цитратно-жовтковий з спермосаном-3	4,522 \pm 0,22
окозо-цитратно-жовтковий з мікроцидом (10,002 <i>мкг/мл</i>)	3,230 \pm 0,35
окозо-цитратно-жовтковий з тетрацикліном (50 <i>ОД/мл</i>)	4,101 \pm 0,23
окозо-цитратно-жовтковий з глюкозооксидазою (0,002 <i>мкг/мл</i>)	2,964 \pm 0,34
окозо-цитратно-жовтковий з глюкозооксидазою (0,002) і тетрацикліном (50 <i>ОД/мл</i>)	2,802 \pm 0,30
окозо-цитратно-жовтковий з тетрацикліном і ністатиним (по <i>ОД/мл</i>)	3,581 \pm 0,43

протягом 5 годин збільшується ріст мікроорганізмів у спермі (2,3—43,0 *тис/мл*), а після 10 годин відмічається значне зменшення (2,5—9 *тис/мл*) кількості мікробів, за винятком проб з добавкою глюкооксидази.

Очевидно, наявність значної кількості мікроорганізмів у розбавле-

Ріст мікроорганізмів у спермі, розбавленій глюкозо-цитратно-жовтковим розріджува

Абруденість сперми	Години зберігання сперми	ГЦЖ без бактеріостатичних речовин		ГЦЖ+спермосан-3		ГЦЖ+тетрациклін	
		кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$	кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$, тис.	кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$
сті проби	1	5,8	—	47,4	—	31,7	—
	5	—	—	21,1	—	21,6	—
5 <i>тис</i> мікроорганізмів	1	26,3	4,0 \pm 2,0	52,6	2,6 \pm 0,8	31,6	5,0 \pm 2,0
	5	10,5	3,5 \pm 0,5	57,8	2,3 \pm 0,4	21,1	4,0 \pm 0,3
1 <i>мл</i>	10	—	—	33,3	2,5 \pm 1,1	—	—
	1	57,9	141,0 \pm 18,2	—	—	36,8	130,0 \pm 48,0
кільше 6 <i>тис</i> мікроорганізмів	5	68,4	1063,0 \pm 151,0	21,1	90,0 \pm 17,5	47,4	451,0 \pm 144,0
	10	66,7	2090,0 \pm 158,8	25,1	26,0 \pm 4,1	58,4	299,0 \pm 60,0
цільний ріст лоній	11	—	—	—	—	—	—
	5	21,1	—	—	—	10,4	—
	10	33,3	—	—	—	41,6	—

альних концентрацій ферменту глюкозооксидази

мкг/мл											
0,1	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,001	0,002
0,400	0,500	0,777	0,842	0,880	0,950	1,050	0,875	1,300	2,730	3,500	3,800
0,650	0,675	0,950	1,025	2,075	2,475	3,078	3,325	2,950	4,050	3,975	4,050
0,950	0,900	0,930	0,950	1,695	1,920	2,300	3,175	3,600	3,700	3,800	3,800
0,779	0,850	0,800	1,000	2,890	3,360	3,800	3,900	4,675	4,650	4,980	4,980
—	—	—	—	—	—	—	—	1,478	2,400	3,375	4,350
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,113±0,29	—

ній спермі з добавками відповідних бактеріостатичних речовин пояснюється антагонізмом мікроорганізмів, який спровокований антибіотиками, тому що відомо, що антибіотики вибірково впливають на мікроорганізми і цим самим сприяють зміні мікробного складу в розбавленій спермі. Так, мікроорганізми, чутливі до антибіотиків, гинуть або пригнічуються, нечутливі природно або набуто починають бурхливо розвиватися.

Отже, різні бактеріостатичні добавки, внесені в розріджувач для сперми при однорідному мікробному складі, мають неоднакову широту антибактеріального спектра. Доцільним слід вважати добавку спермосану-3, яка порівняно з тетрацикліном, мікроцидом, глюкозооксидазою і комбінованою дією глюкозооксидази з тетрацикліном та тетрацикліну з ністатином має ширший антибактеріальний спектр дії із збереженням найвищого показника виживаності спермій.

З метою профілактики мікробної забрудненості при розбавленні сперми для її збереження при температурі 0° або при глибокому заморожуванні сперми на станціях штучного осіменіння сільськогосподарських тварин доцільно використовувати спермосан-3.

чем з внесенням бактеріостатичних речовин

ГЦЖ+мікроцид		ГЦЖ+глюкозооксидаза 0,002 мкг/мл		ГЦЖ+глюкозооксидаза+тетрациклін		ГЦЖ+тетрациклін+ністатин	
кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$	кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$	кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$	кількість проб, %	кількість мікроорганізмів, $M \pm t$
26,3	—	16,6	—	33,3	—	14,7	—
—	—	23,0	—	36,0	—	10,4	—
—	—	—	—	11,1	—	2,4	—
26,3	6,0±0,6	44,4	3,3±1,4	25,0	6,0±1,3	20,1	5,9±1,2
30,8	7,0±1,8	—	—	36,4	5,0±1,7	12,1	5,9±1,6
—	—	—	—	55,5	5,0±1,9	1,8	3,6±0,9
47,4	375,0±86,0	39,0	253,0±16,0	41,7	136,0±43,0	40,4	189,4±56,3
69,2	543,0±35,0	77,0	117,0±47,0	27,2	164,0±44,0	42,4	386,4±49,4
50,0	166,0±13,0	58,4	298,0±76,0	33,4	58,0±21,0	52,0	201,0±34,0
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	1,8	—
50,0	—	41,6	—	—	—	1,9	—