

DOI: 10.37925/0039-713X-2025-1-22-25

УДК 636.082.453.52

Контаминация семени хряков-производителей микроорганизмами

и их влияние на репродуктивные показатели



С.Н. БАРЗЫКИНА¹, гл. специалист отдела информационно-методического центра по обеспечению аккредитации, e-mail: s.barzykina@vgnki.ru, С.М. БОРУНОВА^{1,2}, доктор биол. наук, гл. научный сотрудник отделения биотехнологии, зав. базовой кафедры биологической безопасности объектов ветеринарного надзора и обращения лекарственных средств в ветеринарии, Б.С. ИОЛЧИЕВ³, доктор биол. наук, вед. научный сотрудник отдела биологии воспроизведения с.-х. животных, В.В. ПОНОМАРЕВ¹, специалист отдела санитарной и клинической микробиологии,

¹ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»,

²ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»,

³ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»

Изучено влияние микробной контаминации семени хряков-производителей на биологическую полноценность сперматозоидов. При микроскопической оценке эякулята особое внимание было уделено количеству включений в сперме. Результаты микробиологических исследований показали, что сперма контаминирована бактериями семейств *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae*, *Pseudomonadaceae* и других, грибы родов *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Cladosporium*.

Исследованием установлено, что наличие в сперме микроорганизмов оказывает отрицательное влияние на биологическую полноценность сперматозоидов и приводит к снижению репродуктивных показателей.

Ключевые слова: хряки-производители, сперма, качество спермопродукции, включения.

Contamination of semen of boars-producers with microorganisms and their effect on reproductive performance

S.N. BARZYKINA¹, chief specialist of the department, information and methodological centre for accreditation support, e-mail: s.barzykina@vgnki.ru, S.M. BORUNOVA^{1,2}, doctor of biological sciences, chief researcher of the department of biotechnology, head of the basic department of biological safety of veterinary surveillance objects and circulation of medicines in veterinary medicine, B.S. IOLCHIEV³, doctor of biological sciences, leading researcher of the department of biology of reproduction of farm animals, V.V. PONOMAREV¹, specialist of the department of sanitary and clinical microbiology,

¹All-Russian State Center for Quality and Standardization of Medicines for Animals and Feeds, ²Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K.I. Skryabin, ³All-Russian Research Institute of Breeding Business

The influence of microbial contamination of the semen of boars-producers on the biological completeness of spermatozoa was studied. During microscopic evaluation of ejaculate, special attention was paid to the content of inclusions in semen. The results of microbiological studies showed that semen contains bacteria of the families *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, etc., fungi of the genus *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Cladosporium*.

It has been established by a number of authors and our studies that contamination of semen with microorganisms has a negative impact on the biological adequacy of spermatozoa and leads to a decrease in reproductive performance.

Key words: boars-producers, semen, quality of sperm production, inclusions.

■ Введение

Решение проблемы обеспечения населения продуктами питания при интенсивном росте численности жителей и сокращении сельхозугодий требует разработки и внедрения новых высокоэффективных технологий в АПК [9]. Около 35% производимого в Российской Федерации мяса получают за счет свиноводства. Конкурентная способность отрасли на рынке обусловлена сравнительно низкими затратами на производство единицы продукции, высокой технологичностью сегмента и рядом биологических особенностей вида [11].

В связи с интенсивным использованием искусственного осеменения в свиноводстве к репродуктивным показателям хряков-производителей предъявляют высокие требования. Спермой одного производителя осеменяют сотни свиноматок, следовательно, качество спермопродукции оказывает существенное влияние на параметры воспроизводства стада и экономическую эффективность отрасли. Биологическая полноценность сперматозоидов зависит от многочисленных факторов биотического и абиотического характера, которые воздействуют как на отдельные, так и на комплекс параметров [5].

Одним из важнейших биотических факторов, влияющих на биологическую полноценность спермы, являются микроорганизмы [15]. Микробиологическое загрязнение приводит к снижению оплодотворяющей способности спермы, может вызвать аборт и мертворождение, инфицировать половые пути самки [7, 14]. Контаминация сперматозоидов микроорганизмами происходит при различных ситуациях и в разной степени. Первичное загрязнение спермопродукции часто случается при нарушении санитарно-гигиенических требований в процессе сбора спермы [15]. Основным источником загрязнения служат воздух манежа для взятия спермы, волосяной покров производителей, препуциальная полость и т.д. [12].

Однако не всегда источником микробного загрязнения спермы является окружающая среда. В ряде случаев бактериоспермия свидетельствует о заболеваниях мочеполовой системы хряков, которые могут протекать и бессимптомно. Распространенной причиной нарушения репродуктивной системы производителей являются инфекционно-воспалительные забо-

левания, такие как баланопостит, везикулит, простатит, уретрит, орхоэпидидимит, вызываемые представителями условно-патогенной микрофлоры – *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* и др. [4, 8, 13].

Микробное загрязнение спермы влияет на микро- и макроструктурные единицы сперматозоидов, приводит к различным дисфункциям и отрицательно воздействует на биологическую полноценность сперматозоидов.

Негативные последствия вызывает условно-патогенная микрофлора, попавшая со спермой при естественном или искусственном осеменении в половые пути самки. Микроорганизмы способны привести к метриту, эндометриту, вагиниту, уменьшению размера помета и увеличению числа мертворожденных и абортированных плодов [1–3, 7, 13].

В Российской Федерации действует ряд документов, регламентирующих требования к условиям отбора спермы от производителей, а также к отбору проб спермы для лабораторных исследований. К таким документам относят:

- ГОСТ 32222-2013. Межгосударственный стандарт. Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб;

- «Методические указания по ветеринарно-санитарному контролю качества замороженной спермы быков-производителей с целью ее сертификации». Методические указания №13-2-20/1036 (утверждено Министерством сельского хозяйства и продовольствия Российской Федерации 3 ноября 1999 года).

Требования к качеству ввозимой спермы животных отражены положениями Решения Комиссии Таможенного союза от 18 июня 2010 года №317 «О применении ветеринарно-санитарных мер в Евразийском экономическом союзе» (с изменениями).

Всемирной организацией здоровья животных установлены стандарты, направленные на ветеринарно-санитарное благополучие территорий стран-импортеров и экспортеров, а также санитарно-гигиенические требования к центрам по отбору и обработке спермы [6].

В опыте по изучению влияния условно-патогенной микрофлоры на состояние репродуктивной системы свиноматок осеменяли спермой хряка, контаминированной *Pseudomo-*

nas aeruginosa. Введение подобной спермы свиноматкам привело к таким заболеваниям, как вагиниты и эндометриты, а также стало причиной абортов, рождения гипотрофных поросят. При бактериологическом исследовании патологического материала от абортированных плодов и выделений из половых органов свиноматок была выделена культура *Pseudomonas aeruginosa* [10].

Таким образом, наличие бактериоспермии может являться причиной репродуктивной дисфункции или негативным фактором, влияющим на возможность оплодотворения яйцеклетки, а также причиной акушерско-гинекологической патологии свиноматок и недополучения приплода [7].

Исследования спермы животных по микробиологическим показателям необходимы как для оценки соответствия спермы установленным требованиям, так и для выделения микрофлоры с последующим установлением антибиотикорезистентности в случаях, когда бактерии обладают факторами патогенности и приводят к заболеваниям мочеполовой системы производителей.

Целью исследования являлось изучение влияния микробной контаминации спермопродукции хряков-производителей на биологическую полноценность сперматозоидов.

■ Материалы и методы исследования

Объектом исследования были хряки-производители (n=40) пород крупная белая, ландрас и дюрк, возраст которых составил от 18 до 40 месяцев. Материалом для исследования была нативная сперма, полученная в течение года.

Оценку подвижности сперматозоидов проводили с помощью фазово-контрастного микроскопа и программного обеспечения для ПК AndroVision: CASA (Minitube, Германия). Для подсчета количества сперматозоидов с аномальной морфологией и включениями, целостности акросом проводили окрашивание сперматозоидов набором «Дифф-Квик» с последующей микроскопией в иммерсионной системе при увеличении 600x. Для изучения степени фрагментации ДНК сперматозоидов мазки окрашивали акридиновым оранжевым с последующей микроскопией с использованием

УФ-фильтра со спектром длины волны 530 нм при увеличении 300х, 600х. Микробиологическое исследование спермы осуществляли методом прямого посева на питательные среды с последующей идентификацией бактерий до вида общепринятыми микробиологическими методами и методом матрично-активированной лазерной десорбции (ионизации) с времяпролетным разделением ионов (масс-спектрометр AUTOFLEX (модификация MICROFLEX); Bruker Daltonics Inc., США).

Полученные результаты и их обработку проводили с использованием BM SPSS Statistics 23.

■ Результаты исследования

В результате изучения морфологических показателей семени хряков-производителей были обнаружены включения. В зависимости от их содержания в сперме исследуемые хряки-производители были разделены на две группы: первая группа с содержанием включений <10%, вторая группа с содержанием включений <10%.

При проведении микробиологических исследований установлено наличие микробных ассоциаций в эякуляте этих хряков-производителей. Были обнаружены бактерии семейств *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcaceae*, *Pseudomonadaceae* и других, грибы родов *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichophyton*, *Cladosporium*.

Общее число бактерий, подсчитанных на мясо-пептонном агаре, в первой группе составило 3565,5±2830,79 КОЕ/см³, что на 1180,5 КОЕ/см³ больше, чем во второй (табл. 1). Показатель коли-титра оказался ниже в первой группе вследствие наличия в сперме, кроме *Escherichia coli*, других представителей БГКП – *Klebsiella pneumoniae* (больше на 25%). *Proteus mirabilis* во второй группе не выделен.

Количество проб, из которых выделены бактерии семейства *Pseudomonadaceae*, во второй группе больше на 25%.

Бактерий семейства *Staphylococcaceae* во второй группе больше в 2,3 раза – 2225 КОЕ/см³.

Микробный пейзаж представителей семейства *Enterococcaceae* в первой группе представлен *Enterococcus faecalis* – 583,33 КОЕ/см³, *Enterococcus faecium* – 4650 КОЕ/см³, во второй группе *Enterococcus faeca-*

Таблица 1. Микробная загрязненность нативной спермы хряков-производителей в зависимости от содержания включений в сперме

Показатель		Группа в зависимости от содержания включений в нативной сперме, %	
		1-я группа (>10%) (n=6)	2-я группа (<10%) (n=34)
ОМЧ, КОЕ/см ³		3565,5±2830,79	2385,0±2286,90
Коли-титр	0,1	33,37	25
	0,01	33,37	75
	менее 0,001	33,37	–
<i>Escherichia coli</i>		66,67	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		50	25
<i>Proteus mirabilis</i>		50	–
<i>Enterococcus faecalis</i>		50,00	25
<i>Enterococcus faecium</i>		16,67	25
<i>Enterococcus devriesei</i>		–	25
<i>Enterococcus hirae</i>		–	25
<i>Lactobacillus reuteri</i>		–	25
Семейство <i>Staphylococcaceae</i>		66,67	50
Семейство <i>Pseudomonadaceae</i>		50	75
Неидентифицированные бактерии, в т.ч. редко встречаемые виды		–	25
Дрожжи рода <i>Candida</i>		66,67	–
Грибы рода <i>Penicillium</i>		16,67	–
Грибы рода <i>Aspergillus</i>		–	25
Грибы рода <i>Trichophyton</i>		16,67	50
Грибы рода <i>Cladosporium</i>		33,33	15

Таблица 2. Качество спермы хряков-производителей в зависимости от содержания включений в нативной сперме

Показатель	Содержание включений* в нативной сперме	
	1-я группа (>10%)	2-я группа (<10%)
Содержание включений, %	33,55±2,14	0,37±0,01
Концентрация сперматозоидов, 10 ⁶ /мл	205,65±13,62	257,96±15,24
Поступательная подвижность, %	69,35±1,28	90,80±1,36
Содержание спермиев с аномальной морфологией, %	25,57±2,88	6,73±0,16
Быстрая подвижность, %	35,64±2,50	40,74±2,31
Число сперматозоидов с поврежденной акросомой, %	15,70±1,64	6,08±0,69
Индекс фрагментации ДНК, %	9,00±0,14	1,78±0,06

*Включения спермы хряков-производителей представлены эпителиальными клетками – 59,13%, спермином – 3,48%, кристаллами солей – 37,39%.
Примечание: значимость влияния – P<0,001.

lis – 650 КОЕ/см³, *Enterococcus faecium* – 2600 КОЕ/см³, *Enterococcus devriesei* – 1750 КОЕ/см³, *Enterococcus hirae* – 2200 КОЕ/см³.

Бактерии вида *Lactobacillus reuteri* обнаружены только во второй группе – 200 КОЕ/см³.

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* в количестве 2280 КОЕ/см³ и грибы рода *Penicillium* – 20 КОЕ/см³ выделены только в первой группе. Грибы рода *Aspergillus* – 20 КОЕ/см³ обнаружены лишь во второй группе.

Количество грибов рода *Trichophyton* и грибов рода *Cladosporium* в первой группе было больше в 1,5 и 3 раза соответственно и составило 60 КОЕ/см³ и 30 КОЕ/см³.

Для оценки влияния включений на показатели качества спермы хряков-производителей был проведен

дисперсионный анализ воздействия данного фактора на биологическую полноценность. Результаты анализа демонстрируют, что включения оказывают статистически значимое влияние на концентрацию сперматозоидов в сперме, морфологию сперматозоидов, их подвижность, состояние акросом и степень фрагментации ДНК. Количество эякулятов с включением в первой группе составило в среднем 33,55%, что превышает данный показатель во второй группе в 90,6 раза (табл. 2).

Концентрация сперматозоидов в эякуляте хряков-производителей второй группы на 52,31% выше, чем в первой (P<0,05). Подвижность сперматозоидов в первой группе составила в среднем 69,35%, во второй данный показатель на 21,45 абс.% больше.

Частота встречаемости сперматозоидов с аномальной морфологией в эякуляте хряков первой группы превышает показатель второй группы в 3,8 раза ($P < 0,001$). Содержание сперматозоидов с интактной акросомой во второй группе составляет 94%, в группе хряков-производителей, у которых содержание включения было 10% (в среднем 33,55%), 15,7% сперматозоидов имеют повреждения в акросоме. Индекс ядерной ДНК сперматозоидов в первой группе хряков-производителей – 9%, что превышает показатель хряков-производителей второй группы в 5,05 раза.

Анализ в сформированных по содержанию включений группах хряков-производителей на продуктивность свиноматок по параметру многоплодия и проценту прохолостов показал корреляционную зависимость величин (табл. 3). Среднее многоплодие

Таблица 3. Взаимосвязь воспроизводительных показателей стада с содержанием включений в сперме хряков-производителей

Показатель	Содержание включений в нативной сперме	
	1-я группа (>10%)	2-я группа (<10%)
Среднее многоплодие, гол.	7,61±0,52	10,07±0,51
Прохолост по опоросу, %	22,68±1,03	20,08±1,20

в первой группе ниже аналогичного показателя второй группы на 2,46 головы ($P < 0,05$). Прохолост в первой группе выше, чем во второй, на 2,6%.

■ Заключение

Полученные в результате исследования данные позволяют сделать вывод о том, что одним из основных факторов биотического характера является контаминация семени хряков-производителей микроорганизмами.

Установлено, что в сперме, содержащей включения, микробный пей-

заж представлен бактериями, микроскопическими грибами и дрожжами. Содержание включений в эякуляте хряков-производителей оказывает отрицательное влияние на качество спермы. Снижается поступательная подвижность и количество спермиев с интактной акросомой, увеличивается содержание сперматозоидов с аномальной морфологией и индекс фрагментации ДНК. Сокращается многоплодие и повышается доля прохолостов при использовании эякулятов, содержащих включения.

Литература

- Абдрахманов А.Р. Влияние условно-патогенной микрофлоры на репродуктивное здоровье/А.Р. Абдрахманов, Р.М. Абдрахманов. Современные проблемы науки и образования, 2018. №2. С. 8. EDN UPLKEV.
- Демонова М.Н. Лечение вагинита у коров/М.Н. Демонова. Вестник молодежной науки Алтайского государственного аграрного университета, 2017. №1. С. 193–196. EDN VAWTPZ.
- Ескин А.А. Влияние условно-патогенной микрофлоры влагалища на течение беременности/А.А. Ескин, И.Г. Арндт, Ю.А. Петров//Здоровая мать – здоровое потомство: Сборник материалов внутривузовской научно-практической конференции. Ростов н/Д.: Ростовский государственный медицинский университет, 2020. С. 160–165. EDN RVXTJH.
- Игнатьев В.О. Микробный пейзаж препуциального мешка быков при андрологических заболеваниях/В.О. Игнатьев, А.И. Иванов. Иппология и ветеринария, 2021. №1(39). С. 109–116. EDN VBSXFA.
- Куклин А.Д. Изучение контаминации микроорганизмами спермы жеребцов при замораживании: Автореферат диссертации кандидата биолог. наук. Харьков, 1973. 24 с.
- Кодекс здоровья наземных животных МЭБ. Всемирная организация здравоохранения животных. 2019. 28-е изд. Т. 1. 542 с. ISBN: 978-92-95108-94-3.
- Мальцева Б.М. Роль условно-патогенной микрофлоры в патологии размножения свиней (аборты и мертворожденные поросята)/Б.М. Мальцева. Ветеринария, 1999. №4. С. 891. EDN ECPZCT.
- Матюхина Е.В. Этиологическая роль условно-патогенной микрофлоры в возникновении акропоститов, баланопоститов и везикулитов быков-производителей: Автореферат диссертации кандидата вет. наук. Барнаул, 2011. 18 с.
- Плаксин И.Е., Плаксин С.И., Трифанов А.В. Перспективные направления развития отрасли свиноводства в России. Технологии и технические средства механизированного производства продукции растениеводства и животноводства, 2020. №2(103). С. 72–81.
- Ралка И.П. Роль условно-патогенной микрофлоры в патологии размножения свиней (аборты и мертворожденные поросята)/Ралка И.П., Куклев В.А., Шипицын А.Г., Болоцкий И.А., Дружина К.В., Васильев В.Ф. Вестник ветеринарии, 1998. №9(3). С. 27–29.
- Федеральная служба государственной статистики (Росстат). <https://rosstat.gov.ru>.
- A.R. Paray, M. Bhakat, S.A. Lone, T.K. Mohanty, R. Sinha, J.U. Rahman, Z.B. Khanday, Z. Danish. Role of preputial washing in reducing microbial load and improving bovine semen quality. Asian Pacific Journal of Reproduction, 2018. 7(3):97–102. <https://www.europub.co.uk/articles/-A-407600>.
- Dalmutt A.C., Moreno L., Gomes V., Cunha M., Barbosa M., Sato M., Knöbl T., Pedroso A., Moreno A. Characterization of bacterial contaminants of boar semen: Identification by MALDI-TOF mass spectrometry and antimicrobial susceptibility profiling. Journal of Applied Animal Research, 2020. 48: 559–565. 10.1080/09712119.2020.1848845.
- Malmgren L. Aerobic bacterial flora of semen and stallion reproductive tract and its relationship to fertility under field conditions/L. Malmgren, E.E. Olsson, A. Engvall, A. Albiñ. Acta Vet. Scand., 1998. Vol. 39. P. 173–182.
- Маринов П. Възпроизводственият процес и микробиологичния статус на спермата, получавана и използвана у нас/П. Маринов. Ветеринарен сборник, 1988. Г. 86. №6. С. 46–47.