

DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-303-308
 УДК 619:616.98:579:636.082.453.52:636.2:615.33



Микробиологические исследования свежеполученной спермы быков-производителей на племпредприятии

М. А. Сушкова¹, И. Я. Строганова², С. А. Счисленко³

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ), г. Красноярск, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-1271-3510>, e-mail: macha_sychkova@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-4118-3862>, e-mail: i.ya.strog@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0578-1681>, e-mail: shislenco@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Контаминация бактериями и грибами спермы, полученной в производственных условиях, во многом зависит от санитарных условий при ее получении, а также от бактерионосительства быков-производителей. Так как наличие антибактериальных препаратов, входящих в состав разбавителя при криоконсервации спермопродукции, не позволяет объективно оценить степень ее обсеменения, для установления источника контаминации было проведено микробиологическое исследование свежеполученной неразбавленной спермы быков на племенном предприятии АО «Красноярскагроплем». Для эффективного лечения бактерионосителей определяли чувствительность выделенных культур условно-патогенных микроорганизмов к антибиотикам. Эксперимент выполнен в 2017 и 2018 гг. на базе кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ и ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем». Сперму отбирали в соответствии с ГОСТ 32222-2013, ветеринарно-санитарный контроль материала проводили по ГОСТ 32198-2013. Чувствительность к антибиотикам выделенных культур микроорганизмов определяли диско-диффузионным методом согласно методическим указаниям МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» с использованием дисков, содержащих восемь препаратов. Анализ результатов микробиологических исследований показал, что выбраковка спермы по санитарным показателям на племенном предприятии происходила за счет выделения условно-патогенных микроорганизмов: в 2017 г. – синегнойной палочки (6,4% проб) и протей (8,5% проб); в 2018 г. – синегнойной палочки (2,4% образцов). Остальные показатели (общее микробное число и коли-титр) находились в пределах допустимой нормы. Анаэробы и патогенные грибы обнаружены не были. Четыре выделенных в 2017–2018 гг. изолята *Pseudomonas aeruginosa* и три изолята *Proteus vulgaris* проявили чувствительность к ципрофлоксацину, который можно использовать для этиотропной терапии быков в случае установления у них бактерионосительства.

Ключевые слова: быки-производители, свежеполученная сперма, контаминация, бактерионосительство, условно-патогенные микроорганизмы, чувствительность к антибиотикам

Для цитирования: Сушкова М. А., Строганова И. Я., Счисленко С. А. Микробиологические исследования свежеполученной спермы быков-производителей на племпредприятии. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 303–308. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-303-308.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Счисленко Светлана Анатольевна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, 660130, Россия, г. Красноярск, ул. Словова, д. 16, кв. 72, e-mail: shislenco@mail.ru.

Microbiological tests of fresh bull semen collected at breeding establishment

М. А. Sushkova¹, I. Ya. Stroganova², S. A. Schislenco³

FSBEI HE “Krasnoyarsk State Agrarian University” (FSBEI HE KrasSAU), Krasnoyarsk, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-1271-3510>, e-mail: macha_sychkova@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-4118-3862>, e-mail: i.ya.strog@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0578-1681>, e-mail: shislenco@mail.ru

SUMMARY

Bacterial and fungal contamination of the semen collected in production environment largely depends on the sanitary conditions of its collection as well as on the bacteria carrier state in breeding bulls. Since antimicrobials contained in the diluent used during semen product cryopreservation do not allow an objective assessment of semen contamination, a microbiological testing of fresh undiluted bull semen was carried out at the AO “Krasnoyarskagroplm” breeding establishment to identify the contamination source. The isolated opportunistic microorganism cultures were tested for their susceptibility to antibiotics for the purpose of effective treatment of bacteria carriers. The experiment was performed at the Department for Epizootiology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise of the Institute of Applied Biotechnology and Veterinary Medicine of the FSBEI HE “Krasnoyarsk State Agrarian University” and at the Veterinary Laboratory of the AO “Krasnoyarskagroplm” in 2017 and 2018. Semen was collected in accordance with GOST 32222-2013 and tested for veterinary and sanitary parameters according to GOST 32198-2013. Isolated microorganism cultures were tested for their susceptibility to antibiotics with disc-diffusion method according

to the Methodical Guidelines 4.2.1890-04 "Testing of microorganisms for their susceptibility to antimicrobials" using discs containing eight antimicrobials. Analysis of microbiological test results showed that semen was rejected for sanitary reasons at the breeding establishment due to isolation of the following opportunistic microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa* (6.4% samples) and *Proteus vulgaris* (8.5% sample) in 2017 and *Pseudomonas aeruginosa* (2.4% samples) in 2018. Other test parameters (total microbial count, coliform count) were within admissible limits. No anaerobes and pathogenic fungi were detected. Four *Pseudomonas aeruginosa* isolates and three *Proteus vulgaris* isolates recovered during the test have demonstrated susceptibility to ciprofloxacin that can be used for etiotropic treatment of bulls identified as bacteria carriers.

Key words: bulls, fresh semen, contamination, bacteria carrier state, opportunistic microorganisms, susceptibility to antibiotics

For citation: Sushkova M. A., Stroganova I. Ya., Schislenko S. A. Microbiological tests of fresh bull semen collected at breeding establishment. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 303-308. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-303-308.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Svetlana A. Schislenko, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor of Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, 660130, Russia, Krasnoyarsk, ul. Slotsova, d. 16, kv. 72, e-mail: shislenko@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В Красноярском крае молочное скотоводство является приоритетным направлением отрасли животноводства, определяющим успешность его развития. Современный период развития скотоводства в крае характеризуется широким использованием в воспроизводстве лучшего мирового генофонда скота, генотипов выдающихся быков-производителей благодаря развитию технологии получения, криоконсервации продукции и искусственному осеменению [1, 2].

На племпредприятиях вопросу контроля качества спермы быков-производителей уделяется первостепенное значение [3].

При проведении искусственного осеменения опасность представляют этиологические агенты бактериальной и вирусной природы, которые передаются через сперму и могут вызывать инфекционные заболевания маточного поголовья [4–12].

Контаминация бактериями и грибами полученной в производственных условиях спермы во многом зависит от санитарных условий при ее получении, а также от бактерионосительства быков-производителей [3, 13, 14].

Для обеспечения сохранности оплодотворяющей способности спермы на продолжительный срок ее разбавляют специальными средами, включающими антибактериальные средства [15–17]. В результате проведенных ранее исследований было установлено, что противомикробные компоненты, входящие в состав разбавителя при криоконсервации, не всегда губительно действуют на все контаминанты, что приводит к выбраковке уже криоконсервированной спермы [18].

Так как наличие антибактериальных препаратов не позволяет объективно оценить степень обсеменения спермы, для определения источника ее контаминации было проведено микробиологическое исследование свежеполученной неразбавленной спермы быков-производителей АО «Красноярскагроплем».

В задачи исследования входило:

1. Анализ результатов микробиологических исследований спермы для ее ветеринарно-санитарной оценки.
2. Определение чувствительности выделенных культур микроорганизмов к противомикробным препаратам.

В последнее время в Российской Федерации, как и во всем мире, отмечается рост устойчивости инфекционных агентов к антибактериальным препаратам, что приводит к проявлению жизнеспособности микроорганизмов при проведении этиотропного лечения.

На сегодня это одна из серьезных угроз здоровью. Неправильное использование антибиотиков ускоряет этот процесс, и все больше инфекционных заболеваний становится сложнее лечить, что характеризуется длительным течением болезни и увеличением экономических затрат.

Основными причинами, способствующими развитию антибиотикорезистентности микроорганизмов, являются: необоснованное назначение антибиотиков для лечения легких форм заболеваний; применение препаратов широкого спектра действия, когда достаточно препаратов с узким спектром действия; назначение препаратов без учета этиологического спектра возбудителей и их чувствительности.

Надзор за распространением антибиотикорезистентности является стратегической задачей в ветеринарии. Для определения устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам применяют фенотипические (традиционные) и молекулярно-генетические методы [19].

В России существует база данных *AMRmap*, в которой отражены результаты мониторинга антибиотикоустойчивости микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в 2017 и 2018 гг. на кафедре эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ и в ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем». Микробиологические исследования проводили в ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем».

Объектом исследования были быки-производители голштинской красно-пестрой и черно-пестрой, симментальской, герефордской и абердин-ангусской пород.

Предметом исследования явилась свежеполученная сперма быков-производителей в количестве 141 пробы. Сперма отбиралась в асептических услови-

ях по одному эякуляту от каждого быка в стерильную пробирку в соответствии с ГОСТ 32222-2013 «Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб» [20].

Проведение ветеринарно-санитарного контроля качества спермы проводили по следующим показателям: определение общего количества микроорганизмов – микробное число в 1 см³ (КОЕ/см³), определение коли-титра в 1 см³; наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и анаэробов.

Общее микробное число (ОМЧ) в 1 см³ определяли путем посева спермы на мясо-пептонный агар (МПА) из двух разведений (1:10 и 1:1000) на четыре чашки от каждого разведения с использованием двухслойного агарового метода. Коли-титр определяли посевом на среду Булира для сбраживания бактериями группы кишечной палочки (БГКП) маннита. Оценивали результат визуально по изменению цвета среды и наличию газообразования.

Для выявления условно-патогенных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* использовали мясо-пептонный бульон (МПБ) с добавлением 10% глюкозы, для идентификации *Proteus vulgaris* проводили микроскопию препаратов и хлороформалиновую пробу.

Для выделения анаэробов сперму культивировали на среде Китта-Тароцци в соответствии с ГОСТ 32198-2013 «Средства воспроизводства. Сперма. Методы микробиологического анализа» [21] и с учетом методических рекомендаций по профилактике микробной контаминации спермы быков-производителей [3].

Микологическое исследование спермы проводили по методике оценки спермы, применяемой при искусственном осеменении сельскохозяйственных животных [22].

Чувствительность к антибиотикам выделенных культур микроорганизмов проводили диско-диффузионным методом с использованием дисков, содержащих ципрофлоксацин (5 мкг), стрептомицин (30 мг), гентамицин (10 мкг), тетрациклин (30 мкг), ампициллин (10 мкг), цефтазидим (30 мкг), имипенем (10 мкг), полимиксин (300 ЕД), в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные в 2017 г. микробиологические исследования 47 образцов свежеполученной неразбавленной спермы показали, что ни одна из проб не дала роста на среде Китта-Тароцци, следовательно, в испытуемом материале отсутствовали анаэробы. Наибольшее выявленное значение ОМЧ составило 3290 КОЕ/см³ при максимальном по ГОСТ 32198-2013 – 5000 КОЕ/см³. В шести пробах (12,8%) спермы образование колоний на плотных питательных средах не обнаружено. Среднее значение ОМЧ исследуемых образцов составило 275 ± 76 КОЕ/см³. В одной пробе коли-титр был равен 0,1 см³.

В трех образцах свежей спермы выявили наличие синегнойной палочки (изоляты № 3, 37, 42), что составило 6,4% от общего количества исследованных проб. Сперма от таких животных выбраковывается, а быки-спермодоноры ставятся на контроль по бактериосистемности.

Синегнойная палочка относится к виду палочковидных бактерий. Она обладает такими факторами патогенности, как подвижность и токсинообразование,

и легко поражает организм с ослабленным иммунным статусом [24].

Псевдомонады способны длительное время персистировать в организме, поэтому микроорганизм эволюционно выработал механизмы защиты от применяемых лечебных мер и ускользания от иммунных реакций организма хозяина.

Одним из важнейших факторов колонизации микроорганизма является образование биопленки. В данном случае полисахаридный матрикс клетки становится невидимым для иммунной системы, а экзополисахариды затрудняют диффузию антибактериальных препаратов [25].

Клетки организма хозяина используются для накопления псевдомонад. Такая инвазия наблюдается, как правило, в эпителиальных клетках при заражении мочеполовых путей, и обычно у входных ворот инфекции контаминация возбудителем значительно больше [24].

Положительный эффект в борьбе с биопленками *P. aeruginosa* был достигнут М. С. Walters et al. при комбинированном использовании тобрамицина, ципрофлоксацина и тетрациклина, действующих на активные клетки в верхнем слое биопленки, и антибиотика колистина, влияющего на неактивные клетки [26].

Результаты исследований по определению антибиотикорезистентности выделенных изолятов *P. aeruginosa* представлены на рисунке 1 и в таблице 1.

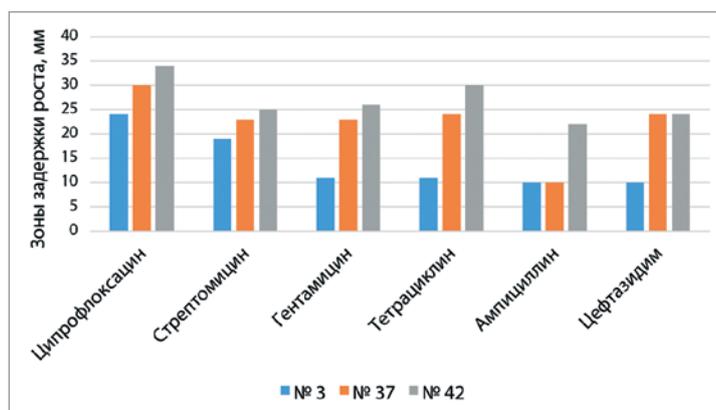


Рис. 1. Определение чувствительности изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в 2017 г.

Fig. 1. Tests of *P. aeruginosa* isolates recovered in 2017 for their susceptibility

Таблица 1
Антибиотикорезистентность выделенных в 2017 г. изолятов *P. aeruginosa* к противобактериальным препаратам

Table 1
Antimicrobial resistance of *P. aeruginosa* isolates recovered in 2017

| Наименование антибиотика | Чувствительность изолятов | | |
|--------------------------|---------------------------|----------------|----------------|
| | № 3 | № 37 | № 42 |
| Ципрофлоксацин | чувствительный | чувствительный | чувствительный |
| Стрептомицин | чувствительный | чувствительный | чувствительный |
| Гентамицин | резистентный | чувствительный | чувствительный |
| Тетрациклин | резистентный | чувствительный | чувствительный |
| Ампициллин | резистентный | резистентный | чувствительный |
| Цефтазидим | резистентный | чувствительный | чувствительный |

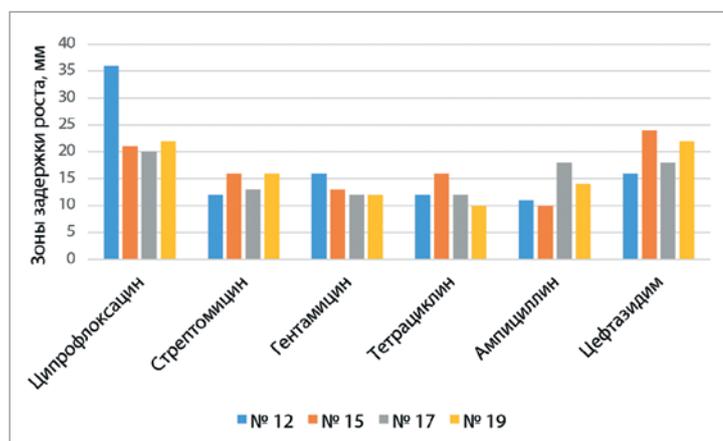


Рис. 2. Определение антибиотикорезистентности изолятов *P. vulgaris*, выделенных в 2017 г.

Fig. 2. Tests of *P. vulgaris* isolates recovered in 2017 for their antimicrobial resistance

Таблица 2
Антибиотикорезистентность выделенных в 2017 г. изолятов *P. vulgaris* к противобактериальным препаратам

Table 2
Antimicrobial resistance of *P. vulgaris* isolates recovered in 2017

| Наименование антибиотика | Чувствительность изолятов | | | |
|--------------------------|---------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | № 12 | № 15 | № 17 | № 19 |
| Ципрофлоксацин | чувствительный | чувствительный | промежуточный | чувствительный |
| Стрептомицин | резистентный | промежуточный | промежуточный | промежуточный |
| Гентамицин | чувствительный | промежуточный | резистентный | резистентный |
| Тетрациклин | резистентный | промежуточный | резистентный | резистентный |
| Ампициллин | резистентный | резистентный | чувствительный | промежуточный |
| Цефтазидим | промежуточный | чувствительный | чувствительный | чувствительный |

Полученные данные свидетельствуют о том, что все три изолята *P. aeruginosa* проявили большую чувствительность к ципрофлоксацину и меньшую – к стрептомицину. Изоляты № 37 и 42 также были чувствительны гентамицину, тетрациклину и цефтазидиму. Изолят № 42 оказался чувствительным еще и к ампициллину.

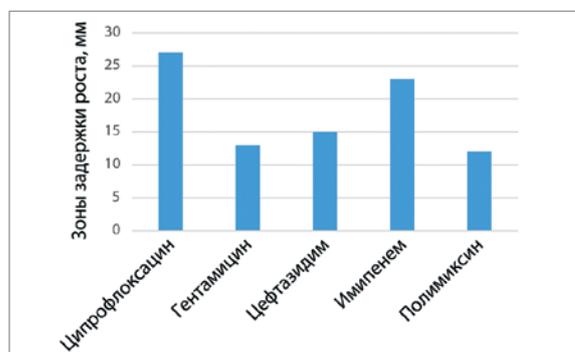


Рис. 3. Определение антибиотикорезистентности изолята *P. aeruginosa*, выделенного в 2018 г.

Fig. 3. Test of *P. aeruginosa* isolate recovered in 2018 for its antimicrobial resistance

В 8,5% от общего количества исследованных проб (изоляты № 12, 15, 17, 19) был выделен патогенный протей (*Proteus vulgaris*), который является грамотрицательной, спорообразующей, факультативно-анаэробной мелкой нитевидной палочкой. Протей – представитель нормальной, условно-патогенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта млекопитающих.

Бактерии рода *Proteus* в основном становятся причиной болезни молодняка сельскохозяйственных животных, находящихся в иммунодепрессивном состоянии и подверженных стрессам. Вспышки протейной инфекции регистрируются спорадически, основной путь передачи возбудителя – алиментарный.

Протей относится к типичному виду грамотрицательных бактерий, содержащих бета-лактамазы, которые способствуют развитию резистентности к антимикробным препаратам, таким как пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы [27].

Сперма от таких быков-производителей выбраковывается, а сами они ставятся на контроль по бактерионосительству. В данном случае целесообразно проводить определение чувствительности каждой свежесделанной культуры микроорганизмов к антимикробным препаратам для проведения более эффективного лечения быков в случае установления бактерионосительства.

Результаты исследований по определению антибиотикорезистентности изолятов *P. vulgaris* к антимикробным препаратам представлены на рисунке 2 и в таблице 2.

В результате исследования установили, что три из четырех изолятов *P. vulgaris* (№ 12, 15, 19) проявили высокую чувствительность к ципрофлоксацину, а изолят № 17 – промежуточную. Изоляты № 15, 17, 19 были чувствительны к цефтазидиму, изолят № 12 – к гентамицину, а № 17 – к ампициллину.

Весной 2018 г. было получено и исследовано 42 пробы свежей спермы быков-производителей. В испытуемых образцах среднее значение ОМЧ было равно 142 ± 70 КОЕ/см³, при этом наибольшее значение (2020 КОЕ/см³) установили в одном образце, что составило 2,4% от общего количества исследованных проб. Во всех пробах коли-титр превышал 0,1 см³, при этом стерильными были 14 проб, что составило 33,3%. Анаэробы и патогенные грибы не обнаружены. Из одной пробы, что составило 2,4%, был выделен возбудитель псевдомонозы – синегнойная палочка. Полученную

Таблица 3
Антибиотикорезистентность выделенного в 2018 г. изолята *P. aeruginosa* к противобактериальным препаратам

Table 3
Antimicrobial resistance of *P. aeruginosa* isolate recovered in 2018

| Наименование антибиотика | Чувствительность изолята |
|--------------------------|--------------------------|
| Ципрофлоксацин | чувствительный |
| Гентамицин | промежуточный |
| Цефтазидим | промежуточный |
| Имипенем | чувствительный |
| Полимиксин | резистентный |

чистую культуру *P. aeruginosa* оценивали на предмет ее антибиотикорезистентности к антимикробным препаратам. Результаты представлены на рисунке 3 и в таблице 3.

Полученные данные показали, что выделенный изолят *P. aeruginosa* наибольшую чувствительность проявил к ципрофлоксацину и имипенему.

Осенью 2018 г. было отобрано и исследовано 52 зякулята от быков-производителей. При исследовании полученных образцов рост на МПА и других используемых питательных средах отсутствовал. По результатам микологического исследования патогенные грибы в сперме быков не обнаружены. Учитывая полученные результаты исследования, установили, что сперма была пригодной для искусственного осеменения.

ВЫВОДЫ

1. Анализ результатов микробиологических исследований свежеполученной на племпредприятии спермы быков-производителей показал, что выбраковка спермопродукции по санитарным показателям происходила за счет выделения условно-патогенных микроорганизмов: в 2017 г. – синегнойной палочки в 6,4% и протее в 8,5% образцов, в 2018 г. – синегнойной палочки в 2,4% проб. Остальные показатели – ОМЧ и коли-титр – оставались в пределах допустимой нормы. Анаэробы и патогенные грибы выделены не были.

2. При определении антибиотикорезистентности изолятов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных в 2017 г. (3 изолята *P. aeruginosa* и 3 изолята *P. vulgaris*) и 2018 г. (1 изолят *P. aeruginosa*), к противомикробным препаратам установили чувствительность культур к ципрофлоксацину, который можно использовать для лечения быков при выявлении у них бактерионосительства. К остальным препаратам чувствительность различалась среди культур одного и того же вида, но полученных от разных животных, поэтому для эффективной этиотропной терапии целесообразно определять чувствительность выделенных культур к антимикробным препаратам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбом по искусственному осеменению крупного рогатого скота. Под ред. А. И. Абилова. М.: Росинформагротех; 2011. 172 с.
2. Лефлер Т. Ф., Четвертакова Е. В., Еремина И. Ю., Луценко А. Е., Волков А. Д. Влияние голштинской породы на генофонд молочного скота Красноярского края. *Достижения науки и техники АПК*. 2017; 31 (8): 54–57. eLIBRARY ID: 30053601.
3. Белоножкин В. П., Величко Л. В. Профилактика микробной контаминации спермы быков-производителей: методические рекомендации. п. Быково; 2013. 26 с.
4. Балашов Н. Г. Ветеринарный контроль при искусственном осеменении животных. М.: Колос; 1980. 272 с.
5. Герасимов С. В. Иммунобиологические свойства вакцины против кампилобактериоза крупного рогатого скота в зависимости от компонента состава: автореф. дис. ... канд. вет. наук. СПб.; 2018. 22 с.
6. Глов А. Г., Глотова Т. И., Семенова О. В. Проявление инфекционного ринотрахеита у телят раннего возраста. *Ветеринария*. 2013; 12: 11–14. eLIBRARY ID: 33915850.
7. Глов А. Г., Глотова Т. И., Строганова И. Я. Вирусные болезни крупного рогатого скота при интенсивном ведении молочного животноводства. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2010. 187 с.
8. Глов А. Г., Глотова Т. И. Вирусная диарея: значение в патологии воспроизводства крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2015; 4: 3–8. eLIBRARY ID: 23235383.
9. Глов А. Г., Глотова Т. И., Шуляк А. Ф. Особенности проявления вирусной диареи – болезни слизистых оболочек у племенных быков. *Ветеринария*. 2012; 12: 3–6. eLIBRARY ID: 18235850.
10. Строганова И. Я., Хлыстунов А. Г., Трухоненко А. А., Гуменная Е. Ю. Распространение вирусных и микоплазменных инфекций крупного ро-

гатого скота в животноводческих хозяйствах Средней Сибири. *Вестник КрасГАУ*. 2013; 8 (83): 41–43. eLIBRARY ID: 21298303.

11. Шуляк А. Ф., Величко Г. Н. Инфекционный ринотрахеит у племенных быков на племпредприятиях. *Ветеринария*. 2016; 11: 7–11. eLIBRARY ID: 27297113.
12. Morrell E. L., Barbeito C. G., Odeón C. A., Gimeno E. J., Campero C. M. Histopathological, immunohistochemical, lectinohistochemical and molecular findings in spontaneous bovine abortions by *Campylobacter fetus*. *Reprod. Domest. Anim.* 2011; 46 (2): 309–315. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2010.01668.x.
13. Сушкова М. А., Строганова И. Я. Влияние санитарной обработки быков-производителей на микробную контаминацию спермы. *Инновационные тенденции развития Российской науки: материалы XI Международной научно-практической конференции молодых ученых (10–11 апреля, 2018 г.)*. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2018; 96–98. eLIBRARY ID: 36279040.
14. Meena G. S., Raina V. S., Gupta A. K., Mohanty T. K., Bhakat M., Abdullah M., Bishist R. Effect of preputial washing on bacterial load and preservability of semen in Murrah buffalo bulls. *Vet. World*. 2015; 8 (6): 798–803. DOI: 10.14202/vetworld.2015.798-803.
15. Aires V. A., Hinsch K. D., Mueller-Schloesser F., Bogner K., Mueller-Schloesser S., Hinsch E. *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*. 2003; 60 (2): 269–279. DOI: 10.1016/S0093-691X(02)01369-9.
16. Herold F. C., Gerber D., Aurich J. E. Influence of homologous seminal plasma on bovine epididymal semen frozen with Trilady® or AndroMed®. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 2002; 90: 8–61.
17. Nabiev D., Gilles M., Schneider H., Mahabir E., Koll H., Schellander H & K. AndroMed® versus Trilady® – influence on functional *in vitro* fertility parameters and IVP of frozen thawed bovine semen. *Wien Tierärztl Monat. = Vet. Med. Austria*. 2003; 90 (Suppl. 1).
18. Sushkova M. A., Stroganova I. Y., Schislenko S. A., Lefler T. F., Chetvertakova E. V., Donkova N. V. Veterinary and sanitary control of cryopreserved sperm of stud bulls. *Asia Life Sciences*. 2019; 28 (1): 23–32. eLIBRARY ID: 41645896.
19. Munita J. M., Arias C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4 (2): 4.2.15. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
20. ГОСТ 32222-2013 Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200105456>.
21. ГОСТ 32198-2013 Средства воспроизводства. Сперма. Методы микробиологического анализа. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200105526>.
22. Методические указания по лабораторному исследованию спермы производителей, а также препаратов и инструментов, применяемых при искусственном осеменении животных, на бактериальную загрязненность: утв. ГУВ МСХ СССР 17 июля 1969 г. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456010871>.
23. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (методические указания МУК 4.2.1890-04). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2004; 6 (4): 306–359.
24. Лазарева А. В., Чеботарь И. В., Крыжановская О. А., Чеботарь В. И., Маянский Н. А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17 (3): 170–186. eLIBRARY ID: 24110410.
25. Мележик И. А., Яворская Н. В., Шепелевич В. В., Козкозей В. Н. Роль биопленок *Pseudomonas aeruginosa* в развитии эндогенных инфекций. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2013; 3: 8. eLIBRARY ID: 20449698.
26. Walters M. C. 3rd, Roe F., Bugnicourt A., Franklin M. J., Stewart P. S. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47 (1): 317–323. DOI: 10.1128/AAC.47.1.317-323.2003.
27. Васильев Д. А., Феоктистова Н. А., Золотухин С. Н. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus*. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017; 2 (38): 70–75. DOI: 10.18286/1816-4501-2017-2-70-75.

REFERENCES

1. Album on artificial insemination of cattle. Ed. by A. I. Abilov. Moscow: Rosinformagrotekh; 2011. 172 p. (in Russ.)
2. Lefler T. F., Chetvertakova E. V., Eremina I. Yu., Luschenko A. E., Volkov A. D. Influence of Holstein breed on the gene pool of dairy cattle in Krasnoyarsk krai. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2017; 31 (8): 54–57. eLIBRARY ID: 30053601. (in Russ.)
3. Belonozhkin V. P., Velichko L. V. Prevention of microbial contamination of breeding bull semen: methodical guidelines. p. Bykovo; 2013. 26 p. (in Russ.)

4. Balashov N. G. Veterinary control during artificial insemination of animals. Moscow: Kolos; 1980. 272 p. (in Russ.)
5. Gerasimov S. V. Immunological properties of the vaccine against bovine campylobacteriosis depending on the vaccine formula: Candidate of Science Thesis Abstract. Saint Petersburg; 2018. 22 p. (in Russ.)
6. Glotov A. G., Glotova T. I., Semenova O. V. Infectious bovine rhinotracheitis in young calves. *Veterinariya*. 2013; 12: 11–14. eLIBRARY ID: 33915850. (in Russ.)
7. Glotov A. G., Glotova T. I., Stroganova I. Ya. Viral bovine diseases in intensive dairy farming systems. Krasnoyarsk: KrasSAU; 2010. 187 p. (in Russ.)
8. Glotov A. G., Glotova T. I. Impact of bovine viral diarrhoea virus to fertility in cattle. *Veterinariya*. 2015; 4: 3–8. eLIBRARY ID: 23235383. (in Russ.)
9. Glotov A. G., Glotova T. I., Shuliak A. F. Peculiarities of bovine viral diarrhoea – mucosal disease in breeding bulls. *Veterinariya*. 2012; 12: 3–6. eLIBRARY ID: 18235850. (in Russ.)
10. Stroganova I. Ya., Khlystunov A. G., Trukhonenko A. A., Gumennaya E. Yu. The spreading of cattle viral and mycoplasmal infections in the livestock enterprises in the central Siberia. *The Bulletin of KrasSAU*. 2013; 8 (83): 41–43. eLIBRARY ID: 21298303. (in Russ.)
11. Shulyak A. F., Velichko G. N. Infectious bovine rhinotracheitis of the breeding bulls in the artificial insemination centre. *Veterinary*. 2016; 11: 7–11. eLIBRARY ID: 27297113. (in Russ.)
12. Morrell E. L., Barbeito C. G., Odeón C. A., Gimeno E. J., Campero C. M. Histopathological, immunohistochemical, lectin histochemical and molecular findings in spontaneous bovine abortions by *Campylobacter fetus*. *Reprod. Domest. Anim.* 2011; 46 (2): 309–315. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2010.01668.x.
13. Sushkova M. A., Stroganova I. Ya. Influence of sanitary treatment of bulls-producers on microbial contamination of sperm. *Innovatsionnye tendentsii razvitiya Rossijskoj nauki: materialy XI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh (10–11 aprelya, 2018 g.) = Innovation trends in Russian science development: Proceedings of the XI International Scientific and Practical Conference of Early-Career Scientists (April 10–11, 2018)*. Krasnoyarsk: KrasSAU; 2018; 96–98. eLIBRARY ID: 36279040. (in Russ.)
14. Meena G. S., Raina V. S., Gupta A. K., Mohanty T. K., Bhakat M., Abdullah M., Bishit R. Effect of preputial washing on bacterial load and preservability of semen in Murrah buffalo bulls. *Vet. World*. 2015; 8 (6): 798–803. DOI: 10.14202/vetworld.2015.798-803.
15. Aires V. A., Hinsch K. D., Mueller-Schloesser F., Bogner K., Mueller-Schloesser S., Hinsch E. *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*. 2003; 60 (2): 269–279. DOI: 10.1016/s0093-691x(02)01369-9.
16. Herold F. C., Gerber D., Aurich J. E. Influence of homologous seminal plasma on bovine epididymal semen frozen with Trilady® or AndroMed®. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 2002; 90: 8–61.
17. Nabiev D., Gilles M., Schneider H., Mahabir E., Koll H., Schellander H & K. AndroMed® versus Trilady® – influence on functional *in vitro* fertility parameters and IVP of frozen thawed bovine semen. *Wien Tierärztl Monat. = Vet. Med. Austria*. 2003; 90 (Suppl. 1).
18. Sushkova M. A., Stroganova I. Ya., Schislenko S. A., Lefler T. F., Chetvertakova E. V., Donkova N. V. Veterinary and sanitary control of cryopreserved sperm of stud bulls. *Asia Life Sciences*. 2019; 28 (1): 23–32. eLIBRARY ID: 41645896.
19. Munita J. M., Arias C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4 (2): 4.2.15. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
20. GOST 32222-2013. Product for reproduction. Semen. Methods of select sample. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200105456>. (in Russ.)
21. GOST 32198-2013 Product for reproduction. Semen. Microbiological analysis technique. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200105526>. (in Russ.)
22. Methodical Guidelines for laboratory tests of breeder semen as well as for medicinal products and instruments used for artificial insemination for bacterial contamination: approved by the Main Veterinary Department of the USSR Ministry of Agriculture of 17 July 1969. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456010871>. (in Russ.)
23. Guidelines for Susceptibility Testing of Microorganisms to Antibacterial Agents. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2004; 6 (4): 306–359. (in Russ.)
24. Lazareva A. V., Tchebotar I. V., Kryzhanovskaya O. A., Tchebotar V. I., Mayanskiy N. A. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2015; 17 (3): 170–186. eLIBRARY ID: 24110410. (in Russ.)
25. Melezhyk I. A., Yavorskaya N. V., Shepelevich V. V., Kokozay V. N. The role of biofilm in *Pseudomonas aeruginosa* endogenous infections. *Bulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN*. 2013; 3: 8. eLIBRARY ID: 20449698. (in Russ.)
26. Walters M. C. 3rd, Roe F., Bugnicourt A., Franklin M. J., Stewart P. S. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47 (1): 317–323. DOI: 10.1128/AAC.47.1.317-323.2003.
27. Vasiliev D. A., Feoktistova N. A., Zolotukhin S. N. Isolation and study of biological properties of *Proteus* genus bacteria. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2017; 2 (38): 70–75. DOI: 10.18286/1816-4501-2017-2-70-75. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 04.10.2022

Поступила после рецензирования / Revised 20.10.2022

Принята к публикации / Accepted 07.11.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сушкова Мария Алексеевна, ветеринарный врач ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем», Красноярский край, Россия.

Строганова Ирина Яковлевна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, г. Красноярск, Россия.

Счисленко Светлана Анатольевна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, г. Красноярск, Россия.

Mariya A. Sushkova, Veterinarian, Veterinary Laboratory of the AO "Krasnoyarskagroplem" breeding establishment, Krasnoyarsk Krai, Russia.

Irina Ya. Stroganova, Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Professor of Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.

Svetlana A. Schislenko, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor of Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.