



tyndet ornesæd end penicillin, streptomycin og neomycin er gennemført en undersøgelse af kimtallet i ornesæd efter fortynding med fortyndingsvæske indeholdende ovennævnte antibiotika. Forsøgt blev udført på Forsøgsornestationen Hatting I.

### Materiale og metode

Umiddelbart efter sædopsamling og filtrering fortyndedes sæden med EDTA-fortynder indeholdende antibiotika som nedenfor angivet. Fortyndingsgrad 1:2 (1+1). Prøverne blev opbevaret i tre døgn ved 21°C, som er den højeste grænse for alm. opbevaringstemperatur for ornesæd. Herefter blev der foretaget kimtalsbestemmelse efter udsæd på Plate Count Agar (D. S. nr. 2251) og inkubering i tre døgn ved 21°C. Laveste fortyndingsgrad: 1000 × el. 1 ×. På råsæden blev ligeledes foretaget kimtalsbestemmelse, men udsæden blev foretaget på sædopsamlingsdagen. Laveste fortynding: 1 ×. Der blev desuden foretaget resistensbestemmelse for 2-4 rendyrkede, dominerende bakterietyper pr. ejakulat. Resistensbestemmelse direkte på råsæden var ikke mulig, da

der ofte fremkom uklarhed/kolonidannelse i opklaringszonen som følge af vækst af resistente bakterier i blandingsfloraen.

Fortyndingsvæsken var tilsat følgende mængder antibiotika/ml: 1 mg neomycinsulfat (NM), 1.000 i.e. benzylpenicillin (P), 1 mg dihydrostreptomycin (S), 20 µg gentamycin (G), 500 i.e. benzylpenicillin + 0,5 mg dihydrostreptomycin (P+S), 1.000 i.e. benzylpenicillin + 20 µg gentamycin (P+G), 0,5 mg neomycinsulfat + 500 i.e. benzylpenicillin (NM+P), 1 mg neomycinsulfat + 1 mg lincomycin (NM+L), 0,5 mg lincomycin + 1 mg spectinomycin (L+SP) og kontrol: ingen antibiotika (K).

### Resultater

I tabel 1 er vist resultaterne af resistensbestemmelserne fra syv enkelte ejakulater og fra to blandede sædprøver indeholdende sæd fra henholdsvis femten og tolv orner. Det ses af tabellen, at kun én ud af 25 bakteriekolonier var resistent overfor gentamycin, og nitten ud af 24 var resistente overfor penicillin. Nitten ud af de 25 bakteriekolonier viste sig fuldt følsomme overfor genta-

**Tabel 1. Resultater af resistensbestemmelser**

Orne	Penicillin				Streptomycin				Neomycin				Gentamycin			
	Bakteriekoloni nr.				Bakteriekoloni nr.				Bakteriekoloni nr.				Bakteriekoloni nr.			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
2676	R	R			MF	MF			MF	F			F	F		
2891	R	F	R		MF	MF	MF		MF	F	MF		F	F	F	
4106	R	R	F	R	MF	F	MF	F	F	F	MF		F	MF	F	
5393	R	O			R	O			R	O			F	O		
5221	R	R	R	F	MF	MF	F	F	F	MF	F	F	F	F	F	F
2945	R	MF			R	R			R	MF			F	F		
132	R	F	R	R	F	F	F	MF	F	F	F	MF	R	F	F	F
Bl. sæd																
15 orner	R	O	O		R	R	R		R	R	R		MF	MF	MF	
Bl. sæd																
12 orner	R	R	R		MF	MF	MF		MF	R	MF		MF	F	F	
		R	MF	F		R	MF	F		R	MF	F		R	MF	F
Antal																
kolonier		19	1	4		6	13	7		6	9	10		1	5	19
%		79	4	17		23	50	27		24	36	40		4	20	76

R: Resistent; MF: Middelfølsom; F: Følsom; O: Resistensbestemmelse ikke mulig. (Diam. af hæmningszone efter Kirby-Bauers Standards).

**Tabel 2. Resultater af kimtalsbestemmelser i råsæd og fortyndet sæd. Antal kim/ml**

Orne	Råsæd	Kontrol	Antibiotika i fortyndingsvæsken								Lavest fort. ved udsæd			
			L+SP	NM+L	NM	NM+P	G	P	S	P+S		P+G		
A	24.00	6 mio.	1,2 mio.	270.000	15.000									-3
B	300	4 mio.	400.000	56.000	6.100									-3
C	11.000	13 mio.	950.000	2,8 mio.	11.000									-3
D	2.800	3 mio.	270.000	21.000	13.000									-3
E	4.100	3 mio.	1,0 mio.	38.000	<1.000									-3
2676	13.000	850.000			<1.000		<1.000					<1.000		-3
2891	19.000	83 mio.			4.000		1,6 mio.					<1.000		1
5393	43.000	27 mio.			<100	<100	<100	<100	<100	<1				1
5221	8.800	20 mio.			<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1			1
2945	5.800	17 mio.			<100	<1	<1	<1	<100	<1				1
132	36.000	26 mio.			<100	<100	<1	<1	<1	<1				1
Bl. sæd														
15 orner	65.000	86 mio.			81.000	<1.000		<1.000		<1.000	<1.000	<1.000		-3
Bl. sæd														
12 orner	24.000	55 mio.				<1.000		<1.000	<1.000	<1.000				-3

mycin, hvorimod kun ti, syv og fire viste fuld følsomhed overfor henholdsvis neomycin, streptomycin og penicillin.

I tabel 2 er vist resultaterne af kimtalsbestemmelserne på råsæd og fortyndet sæd, indeholdende forskellige antibiotika som angivet i teksten. Det fremgår af tabellen, at selv med relativt lave kimtal i råsæden på opsamlingsstidspunktet, vil fortyndet sæd uden tilsætning af antibiotika efter tre dages opbevaring indeholde mange millioner bakterier. Tilsætning af antibiotika har som forventet hæmmet bakterievæksten i den fortyndede sæd. Dårligst effekt er opået ved tilsætning af lincomycin + spectinomycin og neomycin + lincomycin. Tilsætning af de øvrige undersøgte antibiotika, gentamycin, penicillin, streptomycin og neomycin, alene eller i kombination, har resulteret i kimtal, som i 37 ud af 44 prøver, svarende til 84% har været < 1.000 eller endog lavere. Fem prøver havde et kimtal på  $\leq$  15.000 og i to prøver fandtes kimtal på henholdsvis 81.000 (NM) og 1,6 mio. (G).

### Diskussion og konklusion

Bakteriefloraen i ornesæd består normalt af en række saprofytære bakterier, hvis stofskifteprodukter påvirker det medium, hvori sæden er fortyndet, således at sædcellernes overlevelsesvne

nedsættes. Ved tilsætning af antibiotika forsøger man at hæmme en for kraftig bakterievækst under sædens opbevaring.

I herværende undersøgelse er effekten af en række nye og gamle antibiotika blevet afprøvet for deres virkning på kimtallet i fortyndet ornesæd.

Resultatet af kimtalsbestemmelserne viser, at lincomycin + spectinomycin og neomycin + lincomycin ikke har kunnet hæmme bakterievæksten i den fortyndede sæd i tilnærmelsesvis samme omfang som de øvrige undersøgte antibiotika, neomycin, penicillin, gentamycin og streptomycin, alene eller i kombination, og at effekten af alle disse stoffer stort set har været den samme.

Der er uoverensstemmelse mellem resultaterne af resistensbestemmelserne og kimtalsbestemmelserne. På grundlag af resistensbestemmelserne skulle man forvente, at gentamycin havde en større effekt på kimtallet i den fortyndede sæd end de øvrige antibiotika. Dette har ikke været tilfældet.

Årsagen hertil kan være, at når alle de gram-negative, gentamycinfølsomme bakterier hæmmes, får gentamycinresistente, gram-positive bakterier bedre vækstmuligheder. Dette kan bl.a. forklare det meget høje kimtal i en af de gentamycinholdige prøver.

Det er endvidere bemærkelsesværdigt, at penicillin alene, med resistensbestemmelserne i mente, har kunnet udøve en så stærk hæmmende virkning på bakterievæksten i den fortyndede sæd. Her må det som tidligere nævnt erindres, at resistensbestemmelserne kun er foretaget på de 2-4 dominerende bakterietyper, og ikke på blandingsfloraen. Penicillin hæmmer især gram-positive bakterier, mens de fleste gram-negative, som jo er dominerende, er penicillinresistente. Resistensbestemmelserne vil derfor vise penicillinresistens. Endvidere har de dominerende gram-negative typer i råsæden (*Eschericia soli*, *Proteus*, *Klebsiella*) temperaturoptimum ved 37°C. De vil derfor have længere nølefasen ved den anvendte opbevarings- og dyrkningstemperatur, 21°C, hvor psykotrofe typer som *Pseudomonas*, *Acinetobacter* og visse *Bacillus*arter favoriseres. Formentlig er nogle af de psykotrofe bakterier, især de gram-positive, penicillinfølsomme. Endelig kan en interaktion mellem de tilstedeværende bakterier i bakteriefloraen i sig selv udøve en væksthæmmende virkning. Disse forhold kan være forklaringen på de lave kimtal i de penicillinholdige prøver.

Sammenholdes resultaterne af begge undersøgelser, resistensbestemmelse og kimtalsbestemmelse, må gentamycin anses for det mest effektive

af de undersøgte antibiotika til hæmning af bakterievæksten i fortyndet ornesæd.

Gentamycin hører til de »stærke« antibiotika, som bør forbeholdes alvorlige infektioner, hvor andre antibiotika/kemoterapeutika har vist sig virkningsløse. Da resultaterne af kimtalsbestemmelserne viser, at gentamycin ikke har større effekt end neomycin, penicillin og streptomycin, bør man derfor foretrække disse antibiotika fremfor gentamycin, og ikke anvende dette antibiotikum profylaktisk i fortyndingsvæsker med risiko for at skabe unødvendige resistenser. Tidligere undersøgelser (Meddelelse fra Statens Husdyrbrugsforsøg, 1981 nr. 392) har vist, at neomycin bør foretrakkes fremfor penicillin + streptomycin på grund af neomycins bedre holdbarhed i opløsning.

På grundlag af ovennævnte og herværende undersøgelse må neomycin, evt. i kombination med penicillin, fortsat anses for det mest velegnede af de undersøgte antibiotika til fortyndingsvæsker for ornesæd.

Skal de to in vitro metoder, kimtalsbestemmelse og resistensbestemmelse, vurderes hver for sig med henblik på at finde egnede antibiotika til ornesæd, må kimtalsbestemmelsen anses for den mest velegnede.