

Ostona antybakteryjna w rozcieńczalnikach do konserwacji nasienia zwierząt gospodarskich

Joanna Porankiewicz

*Studium Doktoranckie Instytutu Zootechniki PIB,
Dział Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, 32-083 Balice k. Krakowa*

Rozcieńczalniki do konserwacji nasienia spełniają szereg różnych funkcji. Ich zadaniem jest m.in. odżywanie gamet, utrzymanie właściwego pH i ciśnienia osmotycznego oraz pełnienie funkcji ochronnej przed drobnoustrojami. Za każde z tych zadań jest odpowiedzialny odrębny składnik rozcieńczalnika. Na przestrzeni wielu lat stosowania tych specjalistycznych roztworów ich składniki często zmieniały się. Powstawały coraz to nowocześniejsze media o ulepszonym składzie poprzez stosowanie zamienników, posiadających lepsze właściwości a pozbawionych negatywnego oddziaływania na nasienie (Gadea, 2003). Zadaniem każdego rozcieńczalnika jest utrzymanie plemników w jak najlepszym stanie funkcjonalnym.

Bogaty skład rozcieńczalnika dla nasienia stanowi doskonałe podłoże do rozwoju bakterii. Sprzyja temu również temperatura, zwłaszcza w przypadkach, gdy nasienie jest przechowywane w temperaturze 15–17°C (Gadea, 2003; Almond i Poolperm, 1996; Ciornei i in., 2008). Źródłem bakterii są najczęściej dawcy, a zakażeniu sprzyjają: płyn napletkowy, sierść na napletku, wiek zwierzęcia lub długi czas pobierania nasienia (Goldberg i in., 2013). Do zanieczyszczenia może dojść także podczas pobierania (personel, woda) i obróbki nasienia, w szczególności z substancji pochodzenia organicznego, będących składnikami rozcieńczalników (Wieczorek, 2009).

Zanieczyszczenia bakteryjne mogą powodować wiele zmian w funkcjonowaniu plemników, m.in. zmniejszać ich ruchliwość, powodować ich aglutynację, uszkodzenia akrosomu lub obniżać pH. Wszystkie uszkodzenia plemników powodują skrócenie czasu przydatności na-

sienia do inseminacji (Gadea, 2003). W nasieniu, zawierającym dużą liczbę bakterii, wykazano obecność leukocytów i granulocytów, co powoduje powstanie reaktywnych form tlenu (ROS), który uszkadza funkcje plemników i zmniejsza ich zdolność do zapłodnienia. Bezpośrednie działanie bakterii polega na aglutynacji z plemnikami, co uniemożliwia im poruszanie się oraz wywołanie reakcji akrosomalnej. Drobnoustroje w nasieniu mogą również być powodem poronień i wywoływać zakażenia układu rodowego samic (Andrabi, 2007). Wykazano również, że jednym z negatywnych oddziaływań bakterii na nasienie może być toksyczne działanie produktów metabolizmu obecnych drobnoustrojów (Almond i Poolperm, 1996; Andrabi, 2007).

Bakterie najczęściej występujące w nasieniu zwierząt gospodarskich to drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze – *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus suis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus spp.* (Althouse i in., 2008; Wieczorek, 2009; Andrabi, 2007). Jednak, w szczególnych warunkach, np. osłabienia odporności organizmu, mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia, a nawet życia zwierzęcia. Dlatego, najważniejsze jest monitorowanie stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia i stosowanie dodatków o działaniu antybakteryjnym. W przypadku wystąpienia zakażenia bakteryjnego powinno zostać wykonane badanie w celu określenia oporności bakterii na dany antybiotyk. Takie postępowanie z pewnością zapobiegłoby stale narastającej antybiotykooporności. Jest to jednak postępowanie kosztowne i długotrwałe. Powszechną praktyką jest stosowanie terapii o możliwie najszerszym zasięgu działania.

Antybiotyki definiuje się jako substancje naturalne lub ich półsyntetyczne modyfikacje i syntetyczne analogi pochodzenia drobnoustrojowego, które hamują wzrost lub zabijają inne bakterie. Prowadzone badania wykazały, że antybiotyki – oprócz aktywności przeciwbakteryjnej – wykazują aktywność przeciwgrzybiczą, przeciwwirusową, przeciwnowotworową, immunosupresyjną i zaczęły być stosowane w terapiach tych chorób (Chmiel i Grudziński, 1988). Pierwsze rozcieńczalniki do przechowywania nasienia zawierały duże ilości penicyliny i streptomycyny (SP), które z czasem znacznie zmniejszono i zastąpiono antybiotykami z grupy aminoglikozydów: gentamycyną, neomycyną i kanamycyną (Gadea, 2003). Lepszą osłonę antibakteryjną stanowiła kombinacja GTLS (gentamycyna, tylozyna, linkospektyna), chroniąca również przed mykoplazmami i ureaplazmami (Andrabi, 2007). Obowiązujące przepisy, dotyczące nasienia knurów i buhajów, wymuszają dodatek skutecznej kombinacji przeciwbakteryjnych produktów leczniczych, w szczególności przeciwko krętkom z rodziny *Leptospira*, która musi wywołać skutek co najmniej równoważny skutkom stężenia w 1 ml nasienia: 500 IU streptomycyny i 500 IU penicyliny, 150 µg linkomycyny, 300 µg spektynomycyny (Rozporządzenie MRiRW, 2009, 2013). Taką samą mieszaninę antybiotyków można zastosować w przypadku nasienia owiec, kóz i koniowatych lub mieszaninę innych antybiotyków o aktywności przeciwbakteryjnej co najmniej równej aktywności następujących mieszanin: 250 µg gentamycyny, 50 µg tylozyny, 150 µg linkomycyny z 300 µg spektynomycyny lub 75 µg amikacyny, 25 µg dibekacyny (Rozporządzenie MRiRW, 2011).

Uboycznymi skutkami stosowania antybiotyków w leczeniu wielu chorób są awitaminozy, choroby grzybicze, a także nadwrażliwość na ich powtórne podanie (Truszczyński, 1969). Badania wykazały również, że antybiotyki nie pozostają bez wpływu na komórkę plemnika. Obecność antybiotyków powoduje negatywne zmiany w budowie plemników stwierdzane w ocenie morfologicznej (Alavi-Shoushtari i in., 2007), integralności ich błon (Akhter i in., 2008) oraz zakłóca prawidłowy ruch (Varner i in., 1998). Mechanizm działania antybiotyków polega na zaburzeniu ważnych procesów komórkowych poprzez hamowanie syntezy kwasów nu-

kleinowych (mitomycyna, aktynomycyny), hamowaniu syntezy białka (aminoglikozydy, tetracykliny, chloramfenikol), zaburzeniu funkcji błon biologicznych (polimiksyne, nystatyna), zakłócaniu syntezy składników ściany komórkowej (antybiotyki β-laktamowe, wankomycyna), zakłócaniu procesów energetycznych lub oddechowych (oligomycyna, pirymycyna) (Chmiel i Grudziński, 1988).

Negatywną konsekwencją częstego stosowania antybiotyków jest powstanie zjawiska antybiotykooporności. Pojawienie się szczepów opornych na antybiotyki może być związane zarówno z częstym i długotrwałym stosowaniem tych leków, jak również spontaniczną mutacją, a także przeniesieniem cechy oporności z jednego drobnoustroju na drugi (tzw. zakaźna antybiotykooporność, ang. *infective drug resistance*) (Truszczyński, 1969). Należy pamiętać, że wrażliwość danej bakterii na określony zbiór antybiotyków jest cechą zmienną. Lekooporność jest najczęściej związana z obecnością plazmidów, jednak geny odpowiedzialne za tę cechę mogą być też usytuowane w chromosomie. Geny oporności na różne antybiotyki często występują na plazmidach, wykazujących zdolność do transferu koniugacyjnego (Włodarczyk, 2006). Oporność na antybiotyki może być spowodowana inaktywacją antybiotyku na skutek enzymatycznej hydrolizy jego cząsteczki (np. rozkład antybiotyków β-laktamowych, tj. penicyliny, cefalosporyny, karbapenemy przez β-laktamazy) lub modyfikacji antybiotyku poprzez wprowadzenie do jego cząsteczki podstawników (np. O-fosforylacja, N-acetylowanie, O-adenylacja odpowiednich grup w cząsteczce, m.in. antybiotyków aminoglikozydowych, tj. streptomycyny, neomycyny, gentamycyny). Inny mechanizm oporności polega na usunięciu antybiotyku, który wniknął do komórki (np. u *Shigella* specyficzne białko transbłonowe TetA wypompuje tetracyklinę do przestrzeni periplazmatycznej) lub uruchomienie drogi zastępczej dla zablokowanego przez lek szlaku metabolicznego (Chmiel i Grudziński, 1988; Włodarczyk, 2006).

Lekarze, po kilkudziesięciu latach stosowania antybiotyków, ogłaszają kryzys. Twierdzą, że istnieje możliwość dalszego stosowania antybiotyków, jednak tylko pod warunkiem rozsądnego dawkowania tych leków, np. poprzez stosowanie chemioterapii celowanej z wykorzy-

staniem szybkich molekularnych testów diagnostycznych, restrykcyjne przestrzeganie określonych dawek i czasu stosowania terapii (Spellberg, 2011; Carlet i in., 2012; Ghafur i in., 2012). Zagrożenie bakteriami opornymi na wszystkie znane i stosowane antybiotyki stało się rzeczywistością (Ghafur i in., 2012). Superbakterie (superbugs), bo tak są nazywane, produkując enzym NDM-1 (New Delhi Metalo β -laktamazą-1) wykazują brak wrażliwości nawet na dwa nowe antybiotyki β -laktamowe: karbapenemy i monobaktamy. Alternatywna metoda leczenia chorób, wywoływanych przez superbakterie, mogłaby polegać na wykorzystaniu fagów, bakteriocyn, archeocyn, chemioterapeutyków oraz probiotyków (Gliński i Kostro, 2010).

W związku ze stale narastającą antybiotykoopornością oraz negatywnym wpływem antybiotyków na plemniki poszukuje się lepszej ochrony przeciwko bakteriom. Do szerokiej gamy substancji, działających bakteriobójczo, zaliczamy produkowane przez bakterie bakteriocyny, alkohole i kwasy organiczne. Podobną aktywnością charakteryzują się chemioterapeutyki (np. sulfonamidy, chinoliny, nitroimidazole), które są produkowane jedynie na drodze syntezy chemicznej i nie mają naturalnego pierwowzoru. Alternatywą dla antybiotyków mogą być również probiotyki, charakteryzujące się nie tylko działaniem przeciwdrobnoustrojowym, ale także poprawiającym ogólną kondycję organizmu (Chmiel i Grudziński, 1988). Badacze przedstawili obiecujące wyniki działania peptoidów na biofilmy, utworzone przez bakterie *Pseudomonas aeruginosa* (Kapoor i in., 2011).

Wykazano również specyficzne działanie nanocząstek srebra (Niemiec i in., 2013; Zhou i in., 2012; Seil i Webster, 2012; Nagy i in., 2011), złota (Zhou i in., 2012) i cynku (Seil i Webster, 2012), które dzięki swojej strukturze i zdolności wnikania do komórki bakteryjnej mogą wykazywać aktywność bakteriobójczą. Dyskutuje się również nad zastosowaniem fagów do unicestwienia konkretnych bakterii (Summers, 2012).

Udowodniono, że poszukiwane właściwości wykazuje również wiele substancji pochodzenia naturalnego, takie jak: miód (Irish i in., 2011), ekstrakt z limonki, a także kombinacja wyciągu z limonki, cebuli i imbiru (Rahman

i in., 2011), ekstrakt z liści *Ginkgo biloba* (Sati i Joshi, 2011), a także kora głowocisu (Moirangthem i in., 2012), olejek z szanty zwyczajnej (Zarai i in., 2011), glinka (Williams i in., 2011), silbinina – flawonoid pozyskiwany z *Ostropestu* plamistego (Lee i in., 2012), tymochinon – aktywny składnik czarnuszki siewnej (Chaieb i in., 2011), metabolity gąbki z rodzaju *Xestospongia* (Ankisetty i Slattery, 2012).

Oprócz roślin i prymitywnych organizmów, jakimi są gąbki, dobrym źródłem substancji o poszukiwanych właściwościach mogą być zwierzęta. Wykazano, że wzrost bakterii został znacznie zahamowany po poddaniu ich działaniu osocza krokodyla syjamskiego (Kommanee i in., 2012). Dużą grupą związków, charakteryzujących się aktywnością antybakteryjną, które opisano po raz pierwszy u zranionych żab i ropuch, są peptydy. Antybiotyki peptydowe, zwane też peptydami antydrobnoustrojowymi (ang. AMP), są substancjami naturalnymi, ale mogą też być syntetyzowane na wzór naturalnie występujących białek i następnie poddawane modyfikacjom (Wiechuła i in., 2006). Preparatami farmaceutycznymi, charakteryzującymi się działaniem antybakteryjnym, są produkty zawierające takie peptydy, jak: daptomycyna, nizyna, IB-367, MX-226, pexiganan, iseganan, P113, magainina, temporin A (Wiechuła i in., 2006; Hancock i Chapple, 1999; Witkowska i in., 2008; Giuliani i in., 2007; Marr i in., 2006; Hancock i Patrzykat, 2002; Giacometti i in., 2004; Canton i in., 2010; Giacometti i in., 2005). Niewątpliwą zaletą peptydów jest szerokie spektrum i szybkie działanie, zdolność immunomodulacji oraz neutralizacji toksyn (Marr i in., 2006). Do wad możemy zaliczyć dość wysoki koszt produkcji oraz niską stabilność niektórych peptydów.

Szeroki wybór substancji działających bakteriobójczo w walce z narastającą antybiotykoopornością umożliwi dobór odpowiednich farmaceutyków do konkretnych źródeł zakażeń. Niezbędne są badania nad wpływem tych substancji na organizm. Warunkiem koniecznym do zastosowania takiego substytutu antybiotyku w rozcieńczalniku do nasienia jest maksymalny efekt antybakteryjny i brak negatywnego oddziaływania dodatku na plemniki. Nie bez znaczenia jest również jego cena.

Literatura

- Akhter S., Ansari M.S., Andrabi S.M., Ullah N., Qayyum M. (2008). Effect of antibiotics in extender on bacterial and spermatozoal quality of cooled buffalo (*Buballus bubalis*) bull semen. *Reprod. Dom. Anim.*, 43 (3): 272–278.
- Alavi-Shoushtari S.M., Ahmadi M., Shahvarpour S., Kolahian S. (2007). Effects of tiamulin, neomycin, tetracycline, fluorophenicol, penicillin G, Linco-Spectin, erythromycin and oxytetracycline on controlling bacterial contaminations of the river buffalo (*Buballus bubalis*) semen. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10 (18): 3200–3204.
- Almond G., Poolperm P. (1996). Semen contamination and choosing antibiotics. *Proc. of the North Carolina Healthy Hogs Seminar*;
http://www.ncsu.edu/project/swine_extension/healthyhogs/book1996/book96_5htm
- Althouse G.C., Pierdon M.S., Lu K.G. (2008). Thermotemporal dynamics of contaminant bacteria and antimicrobials in extended porcine semen. *Theriogenology*, 70: 1317–1323.
- Andrabi S.M.H. (2007). Effects of antibiotics on motility, sperm morphology, membrane integrity, fertility and bacteriological quality of buffalo spermatozoa. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy; <http://eprints.hec.gov.pk/2379/1/2234.htm>
- Ankisetty S., Slattery M. (2012). Antibacterial secondary metabolites from the cave sponge *Xestospongia* sp. *Marine Drugs*, 10: 1037–1043.
- Canton R., Ruiz-Garbajosa P., Chaves R.L., Johnson A.P. (2010). A potential role for daptomycin in enterococcal infections: what is the evidence? *J. Antimicrob. Chemother.*, 65: 1126–1136.
- Carlet J., Jarlier V., Harbarth S., Voss A., Goossens H., Pittet D. (2012). Ready for a world without antibiotics? The Pensières Antibiotic Resistance Call to Action. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 1: 11.
- Chaieb K., Kouidhi B., Jrah H., Mahdouani K., Bakhrouf A. (2011). Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Compl. Alt. Med.*, 11: 29.
- Chmiel A., Grudziński S. (1988). *Biotechnologia i chemia antybiotyków*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Ciornei S.G., Runceanu L., Drugociu D., Rosca P. (2008). Research and correlation between microbiological spermogram and biological parameters value extended of boar semen. *Bull. UASVM, Vet. Med.*, 65 (2): 114–118.
- Gadea J. (2003). Semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Span. J. Agric. Res.*, 1 (2): 17–27.
- Ghafur A., Nagvekar V., Thilakavathy S., Chandra K., Gopalakrishnan R., Vidyakshmi PR. (2012). “Save antibiotics, save lives”: an Indian success story of infection control through persuasive diplomacy. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.*, 1: 29.
- Giacometti A., Ghiselli R., Cirioni O., Mocchegiani F., D’Amato G., Orlando F., Sisti V., Kamysz W., Silvestri C., Nadolski P., Łukasiak J., Saba V., Scalise G. (2004). Therapeutic efficacy of the magainin analogue MSI-78 in different intra-abdominal sepsis rat models. *J. Antimicrob. Chemother.*, 54: 654–660.
- Giacometti A., Cirioni O., Kamysz W., D’Amato G., Silvestri C., Del Prete M.S., Licci A., Łukasiak J., Scalise G. (2005). *In vitro* activity and killing effect of temporin A on nosocomial isolates of *Enterococcus faecalis* and interactions with clinically used antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.*, 55: 272–274.
- Giuliani A., Pirri G., Nicoletto S.F. (2007). Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *Centr. Eur. J. Biol.*, 2 (1): 1–33.
- Gliński Z., Kostro K. (2010). Superbakterie (NDM-1) odporne na wszystkie znane antybiotyki. *Trzoda Chlewna*, 10.
- Goldberg A.M.G., Argenti L.E., Faccin J.E., Linck L., Santi M., Bernardi M.L., Cardoso M.R.I., Wentz I., Bortolozzo F.P. (2013). Risk factors for bacterial contamination during boar semen collection. *Res. Vet. Sci.*, 95 :362–367.
- Hancock R.E.W., Chapple D.S. (1999). Peptide Antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 43, 6: 1317–1323.
- Hancock R.E.W., Patrzykat A. (2002). Clinical development of cationic antimicrobial peptides: from natural to novel antibiotics. *Current Drug Targets – Infectious Disorders*, 2: 79–83.
- Irish J., Blair S., Carter D.A. (2011). The antibacterial activity of honey derived from Australian flora. *PLOS ONE*, 6, 3, e18229.
- Kapoor R., Wadman M.W., Dohm M.T., Czyzewski A.M., Spormann A.M., Barron A.E. (2011). Antimicrobial peptoids are effective against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55, 6: 3054–3057.
- Kommanee J., Preecharram S., Daduang S., Temsiripong Y., Dhiravisit A., Yamada Y., Thammasirirak S. (2012). Antibacterial activity of plasma from crocodile (*Crocodylus siamensis*) against pathogenic bacteria. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 11: 22.
- Lee Y.-S., Jang K.-A., Cha J.-D. (2012). Synergistic antibacterial effect between silbinin and antibiotics in oral bacteria. *J. Biomed. Biotechnol.*, ID 618081.
- Marr A.K., Gooderham W.J., Hancock R.E.W. (2006). Antibacterial peptides for therapeutic use: obstacles and

- realistic outlook. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 6: 468–472.
- Moirangthem D.S., Talukdar N.C., Kasoju N., Bora U. (2012). Antioxidant, antibacterial, cytotoxic, and apoptotic activity of stem bark extracts of *Cephalotaxus griffithii* Hook. f. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 30.
- Nagy A., Harrison A., Sabbani S., Munson R.S. Jr., Dutta P.K., Waldman W.J. (2011). Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *Int. J. Nanomedicine*, 6: 1833–1852.
- Niemiec T., Szmidt M., Sawosz E., Grodzik M., Łozicki A., Strużyński W. (2013). Od komórki do produkcji zwierzęcej – badania i perspektywy zastosowania nanocząstek srebra. *Prz. Hod.*, 6: 7–10.
- Rahman S., Parvez A.K., Islam R., Khan M.H. (2011). Antibacterial activity of natural spices on multiple drug resistant *Escherichia coli* isolated from drinking water, Bangladesh. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 10: 10.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 maja 2009 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła. *Dziennik Ustaw z 2009, nr 87, poz. 726 z późniejszymi zmianami.*
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 marca 2011 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia owiec, kóz i koniowatych oraz komórek jajowych i zarodków owiec, kóz, koniowatych i świń. *Dziennik Ustaw z 2011, nr 63, poz. 330.*
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 5 sierpnia 2013 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia świń. *Dziennik Ustaw z 2013, poz. 1016.*
- Sati S.C., Joshi S. (2011). Antibacterial activities of *Ginkgo biloba* L. leaf extracts. *Sci. World J.*, 11: 2237–2242.
- Seil J.T., Webster T.J. (2012). Antimicrobial applications of nanotechnology: methods and literature. *Int. J. Nanomedicine*, 7: 2767–2781.
- Spellberg B. (2011). The antibiotic crisis: Can we reverse 65 years of failed stewardship? *Arch. Intern. Med.*, 171 (12): 1080–1081.
- Summers W.C. (2012). The strange history of phage therapy. *Bacteriophage*, 2, 2: 130–133.
- Truszczyński M. (1969). *Bakteriologia weterynaryjna. Podręcznik dla studentów wydziałów weterynaryjnych.* PWRiL, Warszawa.
- Varner D.D., Scanlan C.M., Thompson J.A., Brumbaugh G.W., Blanchard T.J., Carlton C.M., Johnson L. (1998). Bacteriology of preserved stallion semen and antibiotics in semen extender. *Theriogenology*, 50 (4): 559–573.
- Wiechuła B.E., Tustanowski J.P., Martirosian G. (2006). *Wiad. Lek.*, LIX, 7–8: 542–546.
- Wieczorek J. (2009). Ochrona sanitarna materiału genetycznego przeznaczonego do długotrwałego przechowywania. *Wiad. Zoot.*, XLVII, 1: 11–24.
- Williams L.B., Metge D.W., Eberl D.D., Harvey R.W., Turner A.G., Prapajpong P., Poret-Peterson A.T. (2011). What makes a natural clay antibacterial? *Environ. Sci. Technol.*, 45 (8): 3768–3773.
- Witkowska D., Bartyś A., Gamian A. (2008). Defensyny i katelicydyny jako naturalne antybiotyki peptydowe. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 62: 694–707.
- Włodarczyk M. (2006). *Plazmidy bakteryjne.* W: *Biologia molekularna bakterii.* Baj J., Markiewicz Z. (red.). Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Zarai Z., Kadri A., Chobba I.B., Manosur R.B., Bekir A., Mejdoub H., Gharsallah N. (2011). The *in-vitro* evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in Health Disease*, 10: 161.
- Zhou Y., Kong Y., Kundu S., Cirillo J.D., Liang H. (2012). Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and bacillus Calmette-Guérin. *J. Nanobiotech.*, 10: 19.

ANTIBACTERIAL AGENTS IN EXTENDERS FOR SEMEN CRYOPRESERVATION OF FARM ANIMALS

Summary

Semen extenders are multifunctional. They nourish sperm, regulate pH and osmotic pressure and protect sperm against microorganisms. The predominant source of bacteria in semen are the donors, yet laboratory staff, water and organic ingredients of semen extenders may also contribute to the bacterial contamination. The presence of bacteria adversely affects the sperm function. The most common bacteria found in semen of livestock are: *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus suis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Micrococcus spp.* Thus, the common strategy is to utilize an antibiotic therapy exhibiting the broadest possible spectrum. The long-term use of conventional antibiotics results in the development of resistant strains, decrease in sperm motility, longevity and changes in semen morphology. Considering the growth in bacterial resistance and the negative influence of antibiotics on semen, there is a rising necessity to develop better antimicrobial strategies. The group of potentially useful antimicrobials include plant, animal and microbiological derivatives, metal nanoparticles and many others, yet in order to use any antibiotic substitute, it needs to be both effective and lacking negative influence on sperm cells.