



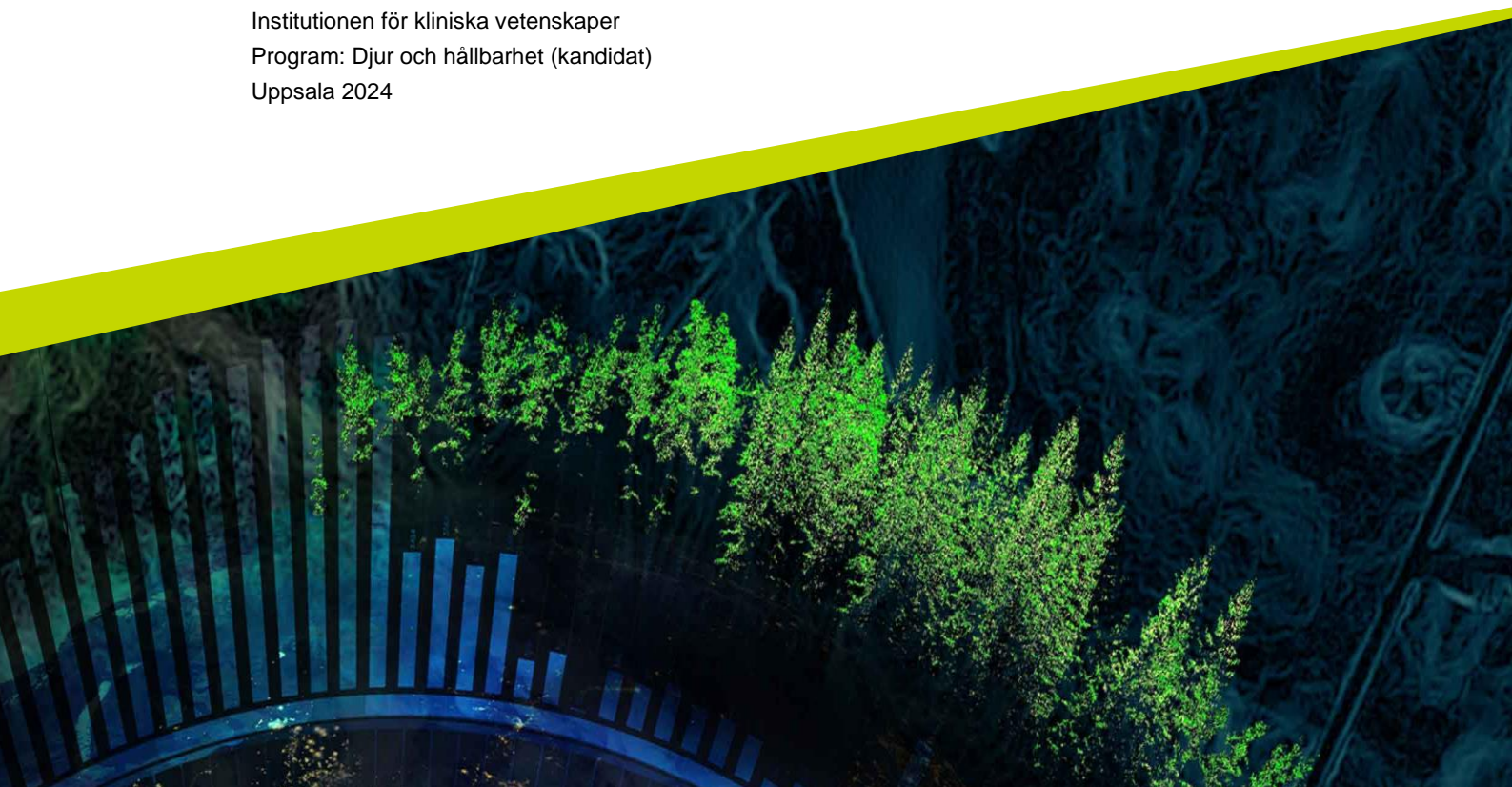
# Användning av antibiotika i semindoser för artificiell insemination hos nötkreatur

- en möjlig inkörsport för antimikrobiell resistens eller ett nödvändigt ont?

---

Hanna Johansson

Självständigt arbete • 15 hp  
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU  
Institutionen för kliniska vetenskaper  
Program: Djur och hållbarhet (kandidat)  
Uppsala 2024





# Användning av antibiotika i semindoser för artificiell insemination hos nötkreatur – en möjlig inkörsport för antimikrobiell resistens eller ett nödvändigt ont?

*Use of antibiotics in semen doses for artificial insemination in bovine – a possible gateway for antimicrobial resistance or a necessary evil?*

Hanna Johansson

**Handledare:** Jane Morrell, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Examinator:** Theodoros Ntallaris, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Omfattning:** 15 hp

**Nivå och fördjupning:** Grundnivå, G2E

**Kurstitel:** Självständigt arbete i husdjursvetenskap, G2E

**Kurskod:** EX0865

**Program/utbildning:** Djur och hållbarhet (kandidat)

**Kursansvarig inst.:** Institutionen för tillämpad husdjursvetenskap och välfärd

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2024

**Nyckelord:** Tjursperma, antibiotika, artificiell insemination

**Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

## Sammanfattning

Vid tillverkning av tjursperma till artificiell insemination används det idag antibiotika för att motverka bakterietillväxt i semindoser. År 2023 ändrades en EU förordning som krävde antibiotika i semindoser för tjursperma till en mer fri tolkning av föreskriften, men med ett fokus på en hållbar antibiotikaanvändning. Denna litteraturstudie undersöker varför antibiotika används i semindoser och om det finns några metoder som skulle kunna ersätta antibiotika eller leda till en minskad användning av antibiotika för att minska utvecklingen av antibiotikaresistens. Anledningen till att antibiotika används i semindoser idag, är på grund av svårigheter att undvika bakteriekontaminerad sperma från friska tjurar under tappningsmomentet. Trots att semintjurar är noggrant kontrollerade, är det svårt att undvika bakteriekontaminering i sperman. Metoderna som undersökts i denna litteraturstudie är växtbaserade substanser med antibakteriella egenskaper, enkelskiktscentrifugering och nanopartiklar. Metoderna har valts ut på grund att deras hälsofrämjande egenskaper för spermier inom olika arter och har olika för och nackdelar. Den metod som har bäst möjlighet att etablera sig på marknaden är enkelskiktscentrifugeringen även fast den inte reducerar alla bakterier i sperman. Detta beror på att metoden centrifugerar bort semin plasman från ejakulatet utan att spermerna skadas och kan på så sätt reduceras mängden bakterier i semindoser till en extrakostnad på 0,5 kr per dos i ren produktionskostnad. Det beror även på att de växtbaserade substanserna inte utesluter riskerna för antibiotikaresistens samt att vissa patogener har resistens mot nanopartiklarna.

*Nyckelord:* Tjursperma, antibiotika, artificiell insemination

## Abstract

In the production of bull semen for artificial insemination, antibiotics are currently used to counteract bacterial growth in semen doses. In 2023, an EU regulation requiring antibiotics in semen doses for bull semen was changed to a more liberal interpretation of the regulation, but with a focus on sustainable antibiotic use. This literature review examines why antibiotics are needed in semen doses and whether there are any methods that could replace antibiotics or lead to a reduction in the use of antibiotics to reduce the development of antibiotic resistance. The reason why antibiotics are used in semen doses today is because of difficulties in avoiding bacterially contaminated semen from healthy bulls during the collection process. Although semen bulls are carefully controlled, it is difficult to avoid bacterial contamination in the semen. The methods investigated in this literature review are herbal substances with antibacterial activity, single layer centrifugation and nanoparticles. The methods have been selected because of their health-promoting properties for sperm of different species and have different advantages and disadvantages. The method that had the best chance of establishing itself on the market is single layer centrifugation, although it does not reduce all bacteria in the semen. This is because the method centrifugates the semen plasma away from the ejaculate without damaging the sperm and can thus reduce the amount of bacteria in semen doses at an extra cost of 0,5 SEK per dose in pure production cost. This is also due to the fact that the herbal substances do not exclude the risk of antibiotic resistance and some of pathogens have resistance to the nanoparticles.

*Keywords:* Bull semen, antibiotics, artificial insemination



# Innehållsförteckning

<b>1. Inledning .....</b>	<b>7</b>
<b>Förkortningar .....</b>	<b>9</b>
<b>2. Litteraturlgenomgång .....</b>	<b>10</b>
2.1 Artificiell insemination .....	10
2.1.1 Orsaker till förekomst av bakterier i semindoser .....	11
2.2 Antibiotikans påverkan på bakterier i semindoser .....	12
2.3 Metoder för att ersätta antibiotika i semindoser .....	13
2.3.1 Växtbaserade substanser .....	13
2.3.2 Enkelskiktscentrifugering .....	13
2.3.3 Nanopartiklar .....	14
<b>3. Diskussion .....</b>	<b>16</b>
3.1 Slutsats .....	18
<b>Referenser .....</b>	<b>19</b>

# 1. Inledning

I dagens tillverkning av semindoser för nötkreatur har det hittills kontinuerligt använts antibiotika i spädningssvetskan. Under utvecklingen av artificiell insemination för nötkreatur som tog fart på 1940-talet (Foote 2002), användes antibiotika för att minska risken för bakterier i sperman som även förekom vid naturlig betäckning (McGowan & Murray 1999). Följder av smittspridning via naturlig betäckning hos nötkreatur kan leda till abort, reducerat dräktighetsresultat och endometrit (McGowan & Murray 1999). För att minska risken för smittspridning via naturlig betäckning kan semintjurar användas där kontrollen av tjurens hälsostatus är mer bevakad, jämfört med tjurar på gårdsnivå (SFS 2004:41).

Fram till år 2023 löd EU lagstiftningen att antibiotika skulle tillföras till sperma för att motverka risken särskilt för bakterierna campylobakter, leptospirer och mykoplasmas sprids via artificiell insemination (Kommissionens delegerande förordning (EU) 2020/686 u.å.). Förordningen ändrades därefter till att användningen av antibiotika vid tillverkning av semindoser, skulle göras till en mer fri tolkning samtidigt med ett fokus för en mer hållbar användning av antibiotika (Kommissionens delegerande förordning (EU) 2023/647 u.å.). Eftersom kravet på användningen av antibiotika ändrades år 2023 till en mer sparsam användning har detta bidragit till att inga alternativa metoder ännu kommit ut på marknaden, samt att det är ett utforskat ämne.

För att minska risken för antibiotikaresistensens framfart samt för att kunna bota sjuka djur och sjuka människor, är det av stor vikt att minska den icke nödvändiga användningen av antibiotika. Detta kan ske genom att arbeta förebyggande mot sjukdomar men även genom att utveckla nya metoder för att minska användningen av antibiotika. Vid artificiell inseminering av nötkreatur behövs det därför undersökas om det går att på ett säkert sätt, minska antibiotikan i semindoser om det samtidigt går att förebygga risken för bakteriekontaminering från tappningstillfället. Risken att antibiotika från semindosen ska hamna i urinen och i gödseln från våra produktionsdjur förekommer och kan leda till att resistenta bakterier sprids vidare ut i miljön (*Antimicrobial resistance* u.å.).

Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka alternativa metoder till antibiotika i semindoser för nötkreatur, utan att riskera bakteriekontaminerad sperma sprids till andra besättningar. Det ska även fortsatt hålla samma

dräktighetsresultat som dagens semindoser som innehåller antibiotika. Därav kommer frågeställningarna för detta arbete vara:

- Varför används det antibiotika i semindoser idag?
- Kan antibiotikan i semindoser bytas ut mot någon annan metod och vilken är mest trolig att använda i praktiken?
- Är antibiotika nödvändigt för semindoser till artificiell insemination?



## Förkortningar

SLC            Enkelskiktscentrifugering (*Single Layer Centrifugation*)

## 2. Litteraturgenomgång

### 2.1 Artificiell insemination

Artificiell insemination utfördes för första gången på en hund år 1784 och på hästar år 1897 inom försöksverksamhet, medan utveckling av artificiell insemination för nötkreatur skedde till stor del under 1940-talet i USA (Foote 2002). Användningen av artificiell insemination som reproduktionsteknik har en fördel för att sprida genetik över världen med en ekonomisk effektivitet (Vishwanath 2003). En annan drivkraft till utvecklingen av artificiell insemination var att minska risken för spridning av sjukdomar som kan ske vid naturlig betäckning (McGowan & Murray 1999). Tillförsel av antibakteriella medel har visat en förbättring av dräktighetsresultat jämfört med sperma som inte innehåller antimikrobiella medel. I en studie av Foot & Bratton (1950) undersöktes tillförseln av antimikrobiella medel i semindoserna. Antibiotikan som användes var sulfanilamide, penicillin, streptomycin och polymyxin. Resultatet visade att tillförseln av antimikrobiella medel, framför allt kombinationen av flera antibiotikum, gav en förbättring av dräktighetsprocenten (Foote & Bratton 1950). Det är dock avgörande vilken patogen som ska förhindras. Exempelvis kan bakterien *Campylobacter fetus* finnas kvar i prov som frysts och innehållit tre olika antibiotika (Eaglesome & Garcia 1997). Vid tillförsel av antibiotika i semindoser förekommer en risk att hondjuret utvecklar antimikrobiell resistens i både hennes livmoder men även i resten av kroppen (Morrell et al. 2024).

Studier på den vaginala mikrofloran på suggor och ston har utförts. Det visades att mikrobiotan i stoets vaginala område var olika beroende på vart i brunsten hon befann sig. Vid seminering med sperma som innehöll antibiotika visades en effekt på den vaginala mikrobiotan, som även påverkade antimikrobiella resistensen samt mängden bakterier (Morrell et al. 2024). Vid ett försök där skillnaden mellan suggor och gyltors bakterieflora i det vaginala området undersöktes påträffades skiftande nivåer av känslighet mot olika sorters antibiotika beroende på djurkategori. Det upptäcktes även bakteriell multiresistens hos båda djurslagen samt att suggor hade en mer varierande bakterieflora jämfört med gyltor (Kellerman et al. 2022). Studier på kors vaginala mikroflora saknas dock.

Syftet med användningen av antibiotika i semindoser är att hämma bakterietillväxten och för att motverka risken för produktion av reaktiva syrearter som i sin tur påverkar spermieöverlevnaden i semindoser. Även befruktningen kan påverkas av bakterier i sperman (Gloria et al. 2014). Vid framställning av semindoser tillförs spädningssväska för att tillhandahålla spermerna med näringsämnen och en bra miljö. Risken som kan uppstå med denna näring är om det finns bakterier bland spermerna, kan dessa dra nytta av samma näring och skapa sig en god miljö för bakterietillväxt (Althouse 2008).

### 2.1.1 Orsaker till förekomst av bakterier i semindoser

Bakteriekontaminering av tjursperman kan ske på ett flertal sätt men det vanligaste tillfället är vid samlingstillfället av sperma. Detta beror på att reproduktionskanalen på semintjurar inte är en helt steril miljö och bakterier kan kontaminera sperman som samlas vid spermainsamling (Gloria et al. 2014). För att minska risken för kontaminering av bakterier finns ett flertal åtgärder som kan göras vid samlingstillfället av sperma samt vid bearbetning av ejakulatet. Förutsatt att tjuren genomgått all provtagning som krävs för att få samla sperma (SFS 2004:41), kan bakteriekontaminering trots allt ske i tjurens reproduktionskanal. Detta kan minskas genom att låta tjuren frestas av ett annat djur samt att låta tjuren påbörja, men inte avsluta ett hopp. När detta sker, kommer tjuren att stimuleras till att frisätta körtelvätska som neutraliserar urin samt spolar bort eventuella bakterier som kan finnas kvar sen senaste utlösningen. Även en skyddsduk på tjurens buk kan förhindra bakteriekontaminering vid beröring av det andra djuret (Morrell et al. 2024). Risken för bakteriekontaminering finns likaså från den personal som utför samlingen och av den personalen som bereder sperman i labbet. Det är av stor vikt att personalen har en mycket god hygien med rena kläder, tvättade händer, skyddshandskar, keps samt undvika samlingen vid luftvägsinfektion då risken för kontaminering via nysningar eller hosta är stor. Även kvalitén på vattnet kan ha betydelse för bakterietillväxt och bör vara av god kvalitet samt regelbundet kontrolleras (Althouse 2008).

Vid kontaminering av bakterier i spädningssväska, har många bakterier ett liknande tillväxtmönster. I början av kontamineringen som kan ske vid tappningstillfället, påverkas bakterien med en uppehållen tillväxt. Längden på bakteriens uppehållna tillväxt beror bland annat på vilket släkte av bakterie det rör sig om, de tillgängliga substraten och bakteriens återhämtningsbehov från dess fysiska skada från miljöbytet. När bakterien har återhämtat sig väntas en snabb tillväxtfas och därefter en stationär fas. Den stationära fasens längd beror på mängd näring som finns i miljön, fysiska begränsningar samt begränsade nivåer av metaboliter. Detta leder till att det så småningom väntas en form av avslutningsfas som avgörs av spermiepopulationen (Althouse 2008).

Bakterier har som spermier ingen möjlighet till att reglera sin temperatur och är därför beroende på rätt temperatur i sin omgivning. Skillnaden är dock att spermier är mer känsliga mot temperaturändringar jämfört med bakterier och kan på så sätt få en fördel i sin tillväxt. Detta beror på dess avsaknad från intracellulära organeller som hjälper bakterien modifiera plasmamembranet till en överlevnadsförmåga (Althouse 2008).

## 2.2 Antibiotikans påverkan på bakterier i semindoser

I semindoser som inte innehåller antibiotika har det visats en ökad bakterietillväxt efter frysning av semindoser vid användning som kontrollprov till försök. Utöver innehållet av antibiotika i semindoser visar tiningsprocessen ha en avgörande roll i de fall en bakterie är resistent mot ett antibiotikum (Gloria et al. 2014). Tiningsprocessen av semindosen ger alltså bakterier en viss fördel på grund av dess förmåga att bättre klara av lägre temperaturer än spermier (Althouse 2008). Vid olika tillfällen visades att den vanliga antimikrobiella blandningen som används i spädningssvårer inte gav effekt på bakterietillväxten i spermier, vilket kan bli problem då antibiotika inte får önskad effekt på vissa bakterier (Gloria et al. 2014). Antibiotikans effekt kan även påverkas av vilken form spädningssvårer tillhandahålls i. Spädningssvårer kan tillsättas i sperman som antingen flytande form eller som ett pulver som ska blandas med destillerat vatten. I den flytande formen av spädningssvårer har antibiotika en ändlig halveringstid vilket leder till att tillverkarna av spädningssvårer tillsätter en hög koncentration av antibiotika, för att inte mista antibiotikas effekt mot bakterier (Morrell & Wallgren 2011).

Vid tillsättning av antibiotika i semindoser är dess funktion att störa eller hämma en viktig reaktion i bakteriens celledelning. För att få god effekt av antibiotikan bör det eller de antimikrobiella ämnen som tillsätts vara i tillräcklig koncentration i semindoserna. Vid felaktig koncentration av antimikrobiella ämnen uppstår risken för antimikrobiell resistens hos bakterierna (Althouse 2008). När antibiotika i en semindos tillsätts, är den avgörande faktorn den mängd spermier och spädningssvårer som är tillsatt för att få en förbestämd mängd spermier per dos. Det innebär att mängden antibiotika kan variera i semindoser på grund av variationen på spermiekoncentrationen i olika ejakulat och att koncentrationen av antibiotika bli för koncentrerad eller för svag. Detta leder till ökad risk för antimikrobiell resistens (Morrell et al. 2024).

## 2.3 Metoder för att ersätta antibiotika i semindoser

### 2.3.1 Växtbaserade substanser

Växtbaserade substanser som kännetecknas av sina antimikrobiella egenskaper har diskuterats som alternativ mot antibiotika i semindoser (Cojkic et al. 2024). De problem som växtbaserade substanser har, är dess specifika påverkan på olika arters sperma samt att olika växtmaterial kan innehålla olika mängder aktiva enheter. Exempelvis kan rosmarinsyra fungera mot bakterier i galtsperma men inte för tjursperma, orsaken till detta resultat är dock inte helt fastställt (Morrell et al. 2024). Den växtbaserade substans som har visat positiv effekt för tjurspermier är curcumen. Vid 5% koncentration av curcumen visades en minskning av andelen bakterier, samtidigt som kvalitén på spermier bibehölls (Cojkic et al. 2024). Nackdelen med de växtbaserade substanserna är att dessa substanser kan utveckla mikrobiell resistens samt att de bakterier som dödas kan avge giftiga ämnen och påverka spermieöverlevnaden negativt (Morrell et al. 2024).

### 2.3.2 Enkelskiktscentrifugering

Centrifugering genom ett enkelskikt av kolloid (*Single Layer Centrifugation, SLC*) är en metod som selekterar livskraftiga spermier bort från sädesplasman och har tidigare använt för hingstsperma och galtsperma men med arts specifika kolloider (Goodla et al. 2014). Arts specifika kolloider består av preciserade formuleringar av kolloider som består av silianbelagd kiseldioxid för den arts sperma ska beredas (Morrell & Rodriguez-Martinez 2009). Metoden innebär att sperman försiktigt placeras ovanpå den arts specifika kolloiden i ett centrifugeringsrör för att sedan centrifugeras i 20 minuter. Därefter tas sädesplasman och kolloiden varsamt bort med hjälp av en pipett och motila spermier med intakta membran och kromatin finns kvar i botten av centrifugeringsröret (Morrell & Nunes 2018). Centrifugeringen leder till att spermierna rör sig till ett område i gradienten som passar sin egna densitet vilket leder till att spermierna separeras från plasman (Morrell & Rodriguez-Martinez. 2009). En modifiering på denna metod har utvecklats och innebär att med hjälp av ett plaströr placerat från locket till centrifugrörets botten, kan spermier tas bort först utan att behöva pipettera bort sädesplasman och kolloiden (Morrell et al. 2024). Metoden stimulerar den biologiska funktionen där spermierna separeras från plasman strax efter inseminering eller betäckning (Morrell & Rodriguez-Martinez. 2009).

Enkelskiktscentrifugering på tjursperma har tidigare visat att spermiers överlevnad förbättrades vid jämförelse av spermier som inte centrifugerats (Morrell & Nunes 2018). Metoden har tidigare visat en positiv effekt på bakterienivån i sperman på djur som hingstar, galtar och hundar (Cojkic et al. 2024). Vid ett försök av Morrell & Wallgren (2011) med SLC på galtsperma visade resultatet ingen

bakteriell tillväxt vid användning av metoden. Anledningen ansåg författarna vara centrifugeringen av galtsperma som innebar att sperman separerades från bakterier i ejakulatet då det setts fungera för människor men med en liknande metod.

Vid ett försök som utförts av Cojkic et al (2024) studerades just denna metod för att undersöka om SLC kunde minska andelen bakterier i tjursperma och bedöma om olika densitet på kolloiden hade någon påverkan. Sperman som analyserades hade olika antal timmar sen senaste tappningen (96 timmar, 48 timmar och 24 timmar) och kom från 20 st olika tjurar med tre ejakulat per tjur. Försöket visade att åtta bakteriearter fanns i alla ejakulat men att den totala mängden bakterier skilde mellan ejakulaten. Mängden bakterier visade sig vara högst i de första ejakulaten som hade längst tid sedan föregående tappning och lägst i ejakulatet som hade kortast tid sen föregående ejakulat. Resultatet visade även att andelen skadade spermier var lägre i proven som centrifugerades med kolloid, jämfört med kontrollprovet som inte centrifugerades. Dock visades att kolloiden med hög densitet ha bäst effekt att minska mängden bakterier (Cojkic et al. 2024).

Ur den ekonomiska synvinkeln är valet av densitet på kolloid en avgörande faktor. Detta på grund av mängden kolloid som avgör densiteten påverkar priset och ju högre densitet, desto högre blir priset på kolloiden. Resultatet från bakteriereduktionen skiljer inte mellan dessa koncentrationer av kolloiden (Morrell et al 2024). Dock så skiljer andelen motila spermier mellan hög och låg densitet på kolloiden fast både den höga och låga densiteten har bättre viabilitet än semindoser utan SLC (Cojkic et al. 2024). Vid tappning av en tjur kan varje ejakulat generera mellan 200-600st färdiga semindoser (*Yxskaftekälens Angus* u.å.) och varje tjur kan generera ett flertal ejakulat per vecka (Schenk 2018). Vid användning av SLC-metoden kan 20ml sperma centrifugeras i ett 50ml centrifugeringsrör, vilket resulterar i en minskad bakterienivå på 60-80% (Morrell et al. 2024). Extrakostnaden för metodens material beräknas enligt Morrell<sup>1</sup> bli 0,5 kr per semindos för tjursperma, vid användning av kolloid med låg densitet.

### 2.3.3 Nanopartiklar

Nanopartiklar består av naturliga föreningar som med sparsam påverkan sätts ihop och är därför ett nedbrytbart ämne. Vid användning av nanostruktur resulterar det i en rening av spermier genom dess ytmarkörer som följs av nanopartikelbundna antikroppar. En metallisk nanopartikel resulterar istället på både positiva och negativa laddade bakteriecellväggar och förstör dem. Denna metod undviker att introducera antibiotikaresistens till mikroberna men har vissa hinder. Vissa av nanopartiklarna, exempelvis nanopartiklar av zinkoxid och titanoxid är toxiska mot sperman (Hill & Li 2017).

---

<sup>1</sup> Jane Morrell, Professor på SLU, mailkonversation 8 maj 2024

Silverbaserade ämnen har tidigare använts inom andra områden som ett antimikrobiellt medel och visat god effektivitet. Silvernanopartiklar har en toxisk effekt på mikroorganismer och är därför effektiva mot opportunistiska patogener som kan bilda antimikrobiell resistens. För att tillverka silver-kol nanopartiklar utförs en pyrolys av silvernitrattillsammans med en kolkälla. Kol användes tillsammans med silver på grund av dess antimikrobiella förmåga då det antas att kontakt mellan bakterieceller och nanopartiklar av kol leder till celledöd. Vid användning av silver-kol nanopartiklar i ett försök visade det att koncentrationen nog ska kontrolleras på grund av att felaktiga koncentrationer kan ge negativa resultat för spermernas välmående. Detta resulterade att många av spermerna hade böjda svansar medan tidpunkten för exponeringen av silver-kol nanopartiklar inte påverkades spermernas livskraft. Samma försök visade att olika bakterier var olika mottagliga mot nanopartiklarna samt att vissa patogener var resistenta mot silvernanopartiklar (Yousef et al. 2021).

### 3. Diskussion

Användningen av antibiotika i semindoser för nötkreatur har fram till 2023 varit den enda metoden som varit tillåten vid produktion av semindosen inom EU (Kommissionens delegerande förordning (EU) 2020/686 u.å.) och har därav inte haft någon motiverande betydelse för utvecklingen av metoder för att minska den förebyggande användningen av antibiotika inom animalieproduktionen. Anledningen till att antibiotika i första hand började användas i semindoser till om det är ett nödvändigt ont för framställningen av semindoser, har varit fokus för denna litteraturstudie samt om det finns några alternativa metoder som kan byta ut antibiotikan i semindoser.

Anledningen till att antibiotika förekommer i semindoser sker på grund av svårigheten med att undvika bakteriekontaminering i semindoser. Detta trots att tjuren genomgår noggranna undersökningar före insamling av sperma. Sjukdomar som kontrolleras och skall ha negativa resultat är tuberkulos, brucellos, enzootisk bovin leukos, infektiös bovin rhinotracheit/infektiös pustulär vulvovaginit och bovin virus diarré samt genomgår en isoleringsperiod på 4 veckor innan tjuren får vistas i samma byggnad som andra semintjurar (SFS 2004:41). Även hygien på tappningsstationen av djur, personal, utrustning och beredning av sperman är avgörande arbetsmoment som genererar stora risker för bakteriekontaminering (Althouse 2008). Att genomföra en tappning av en tjur på sperma utan något innehåll av bakterier kan diskuteras om det är genomförbart eftersom det är svårt i rena miljöer som tappningsstationer har, jämförbart med tjurar som används för naturlig betäckning (McGowan & Murray 1999; Cojkic et al. 2024). I och med att bakterierna är hårdigare än spermier vid förändrad miljö och att viss varsamhet behövs vid frysning och tining av spermier, leder det till att bakterierna kan få ett visst försprång av den spädningssvetska som tillsatts sperman för att ge spermier näring och en gynnsam miljö. Detta kan även ske av bakterier som utbildat resistens mot antibiotika (Althouse 2008; Gloria et al. 2014).

Av den forskning som finns inom alternativa metoder till antibiotika i semindoser för nötkreatur är det metoderna om växtbaserade substansen, SLC och nanoparitklar som diskuteras mest. För att undersöka spermernas fertilitet är dräktighetsresultaten det bästa sättet att mäta fertiliteten på och av dessa tre metoder är det ingen som undersökt detta på grund av den tidigare föreskriften (Kommissionens delegerande förordning (EU) 2020/686 u.å.). Vid forskning som



utförts för växtbaserade substanser visar att olika växtbaserade substanser passar olika arters spermier väl. Risken för antimikrobiell resistens finns fortsatt kvar vid användning av växtbaserade substanser samt att vid felaktigt val av substans, kan bakterier fortsatt vara opåverkade (Cojkic et al. 2024).

Enkelskiktscentrifugering är en metod som tidigare används för att undersöka spermiers motilitet för sperma från hingstar, galtar och tjurar (Morrell & Rodriguez-Martinez 2009; Morrell & Nunes 2018; Cojkic et al. 2024) samt vid bakteriereducering för galt- och tjursperma (Morrell & Wallgren 2011; Cojkic et al. 2024). Forskningen visar att vid användning av hög densitets kolloid försvann mer bakterier än vid användningen av lågdensitets kolloiden, men att det var dyrare med högdensitetskolloiden samt att båda densiteterna på kolloiden ansågs som effektiva metoder för eliminering av bakterier (Cojkic et al. 2024; Morrell et al. 2024). Materialkostnaden för SLC producerade semindoser med en lågdensitets kolloid är enligt Morrell<sup>2</sup> 0,5 kr mer vid jämförelse av semindoser innehållande antibiotika men där SLC är även en metod som med enkel arbetsbelastning och lite extrainsatser kan vara en framtida metod för att eliminera användningen av antibiotika. Dock så tas inte alla bakterier bort men mängden bakterier är betydligt mindre vid jämförelse av naturlig betäckning på grund av den strikta hygien som förekommer på seminestationer (Althouse 2008; Morrell et al. 2024). Det som ska vara i åtanke är kons reproduktionskanal har inbyggda skyddsmekanismer för att minska risken av bakteriekontaminering. Bäst skyddsfunktion innehavs vid naturlig betäckning då sperman placeras utanför livmoderhalsen men eftersom det finns flera skyddsmekanismer kan kons reproduktionskanal fortsatt klara av en mindre mängd bakterier (Morrell & Rodriguez-Martinez 2009). Likväl bör fortsatt forskning eftersträvas för att se vad som är en rimlig nivå av bakterier i kons vaginala miljö, utan att riskera spridning av oönskade sjukdomar eller minskad fertilitet.

Att använda nanopartiklar inom spermaproduktionen kan både utföras med och utan antibiotika, då silvernanopartiklar kan förbättra antibiotikans effekt (Yousef et al. 2021). Nanopartiklarna består av naturliga föreningar och kan därav brytas ner på naturligt vis och i kombination med silvernanopartiklar kan bakteriernas cellväggar lyseras samtidigt som spermerna renas (Hill & Li 2017). Det bör dock noteras att vissa föreningar är väldigt toxiska och noggrannheten på koncentration är stor då det annars får negativa effekter på spermernas motilitet. Det kan i samband med vetskapen om att vissa patogener har resistens mot nanopartiklar, ifrågasättas om denna metod ska användas separat eller i samband med antibiotika för att förstärkas effekten av antibiotikans verkan (Yousef et al. 2021). Det bör dock noteras att det finns begränsat med forskning inom växtbaserade substanser och nanopartiklar till sperma från nötkreatur.

---

<sup>2</sup> Jane Morrell, Professor på SLU, mailkonversation 8 maj 2024

Att sperman fryses till  $-196^{\circ}\text{C}$  hjälper till att reducera bakterienivån och motverkar viss överlevnad av bakterier som kan överleva i kyld sperma med antibiotika (Eaglesome & Garcia 1997; Foote 2002). Det är vid tiningsprocessen som antibiotikan hjälper till att reducera de bakterier som fortsatt finns kvar och skyddar näringen i spädningssvätskan till sperman (Althouse 2008; Gloria et al. 2014). Det finns därför ett behov att använda antibiotika för att motverka bakterietillväxten i sperman, om antibiotika har en positiv verkan på bakterier och inte bidrar till antimikrobiell resistens. Dock bör det tilläggas att om det går att reducera bakterienivån i sperman, bör behovet av antibiotikum upphöra. Vilket ändringen i EU förordningen bör främja utvecklingen av alternativa metoder (Kommissionens delegerade förordning (EU) 2023/647 u.å.).

### 3.1 Slutsats

Utvecklingen av alternativa metoder till antibiotika i semindoser är i en utvecklingsfas och har stor framåtskridande potential. Vikten av att hitta metoder som inte äventyrar biosäkerheten på gårdsnivå får inte ignoreras och visar betydelsen av att inte stressa fram metoder som leder till en försämrad biosäkerhet. Att helt undvika kontaminering av bakterier i sperma vid insamlingen kommer vara svårt men är ett arbetsmoment som har stor betydelse för nivån av bakterier i sperman. Att hitta metoder som kan ersätta antibiotika behövs men kan vara svårt när vissa metoder även kan leda till antibiotikaresistens eller inte fungerar mot alla bakterier, virus och parasiter som kan kontaminera sperman. Den optimala metoden för att minska behovet av antibiotika i semindoser för nötkreatur är svår att bestämma, dock visar forskningen betydelsen att minska andelen bakterier i sperman. Detta leder till slutsatsen att metoden med enkelskiktscentrifugering kombinerat med ett gediget förebyggande arbete för minskad bakteriekontaminering, kan vara en metod som kan ersätta antibiotika fram över. Därför bör vikten av fortsatt forskning om alternativa metoder till antibiotika i semindoser betonas samt behovet av mer forskning om hur dessa metoder fungerar specifikt mot mykoplasma, leptospira samt campylobakter uppmuntras.

## Referenser

- Althouse, G. (2008). Sanitary procedures for the production of extended semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 43 (s2), 374–378. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01187.x>
- Antimicrobial resistance (u.å.). WOAHA - World Organisation for Animal Health. <https://www.woah.org/en/what-we-do/global-initiatives/antimicrobial-resistance/> [2024-03-28]
- Cojkić, A., Hansson, I., Johannisson, A., Axner, E. & Morrell, J.M. (2024). Single layer centrifugation as a method for bacterial reduction in bull semen for assisted reproduction. *Veterinary Research Communications*, 48 (1), 39–48. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10178-y>
- Eaglesome, M.D. & Garcia, M.M. (1997). Disease risks to animal health from artificial insemination with bovine semen. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 16 (1), 215–225. <https://doi.org/10.20506/rst.16.1.1017>
- Foote, R.H. (2002). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science*, 80 (E-suppl\_2), 1–10. [https://doi.org/10.2527/animalsci2002.80E-Suppl\\_21a](https://doi.org/10.2527/animalsci2002.80E-Suppl_21a)
- Foote, R.H. & Bratton, R.W. (1950). The fertility of bovine semen in extenders containing sulfanilamide, penicillin, streptomycin and polymyxin. *Journal of Dairy Science*, 33 (8), 544–547. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(50\)91935-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(50)91935-7)
- Gloria, A., Contri, A., Wegher, L., Vignola, G., Dellamaria, D. & Carluccio, A. (2014). The effects of antibiotic additions to extenders on fresh and frozen-thawed bull semen. *Animal reproduction science*, 150 (1–2), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.08.012>
- Goodla, L., Morrell, J.M., Yusnizar, Y., Stålhammar, H. & Johannisson, A. (2014). Quality of bull spermatozoa after preparation by single-layer centrifugation. *Journal of Dairy Science*, 97 (4), 2204–2212. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7607>
- Hill, E.K. & Li, J. (2017). Current and future prospects for nanotechnology in animal production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, 26. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0157-5>
- Kellerman, C., Malaluang, P., Hansson, I., Eliasson Selling, L. & Morrell, J.M. (2022). Antibiotic resistance patterns in cervical microbes of gilts and sows. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 12 (1), 117. <https://doi.org/10.3390/ani12010117>
- Kommissionens delegerande förordning (EU) 2020/686 (u.å.). *Kommissionens delegerade förordning (EU) 2020/686 av den 17 december 2019 om komplettering av Europaparlamentets och rådets förordning (EU) 2016/429 vad gäller godkännande av anläggningar för avelsmaterial och spårbarhets- och djurhälsokrav för förflyttning av avelsmaterial från vissa hållna landlevande djur inom unionen.* (EUT L 174/1, 3.6.2020). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/PDF/?uri=CELEX:32020R0686>
- Kommissionens delegerande förordning (EU) 2023/647 (u.å.). *Kommissionens delegerade förordning (EU) 2023/647 av den 13 januari 2023 om ändring*

- av delegerad förordning (EU) 2020/686 om komplettering av Europaparlamentets och rådets förordning (EU) 2016/429 vad gäller godkännande av anläggningar för avelsmaterial och spårbarhets- och djurhälsokrav för förflyttning av avelsmaterial från vissa hållna landlevande djur inom unionen. (EUT L 81/1, 21.3.2023). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A32023R0647> [2024-04-03]
- McGowan, A.C. & Murray, R.D. (1999). Health status of bulls used for natural breeding on farms in south west scotland. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 46 (5), 311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1999.tb01236.x>
- Morrell, J.M., Cojkic, A., Malaluang, P., Ntallaris, T., Lindahl, J. & Hansson, I. (2024). Antibiotics in semen extenders - a multiplicity of paradoxes. *Reproduction fertility and development*, 36. <https://doi.org/10.1071/RD23218>
- Morrell, J.M. & Nunes, M.M. (2018). Practical guide to single layer centrifugation of stallion semen. *Equine Veterinary Education*, 30 (7), 392–398. <https://doi.org/10.1111/eve.12658>
- Morrell, J.M. & Rodriguez-Martinez, H. (2009). Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: A review. *The Open Andrology Journal*,
- Morrell, J.M. & Wallgren, M. (2011). Removal of bacteria from boar ejaculates by Single Layer Centrifugation can reduce the use of antibiotics in semen extenders. *Animal Reproduction Science*, 123 (1), 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.11.005>
- Schenk, J.L. (2018). Review: Principles of maximizing bull semen production at genetic centers. *Animal*, 12, s142–s147. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000472>
- Vishwanath, R. (2003). Artificial insemination: The state of the art. *Theriogenology*, 59 (2), 571–584. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01241-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01241-4)
- Yousef, M.S., Abdelhamid, H.N., Hidalgo, M., Fathy, R., Gómez-Gascón, L. & Dorado, J. (2021). Antimicrobial activity of silver-carbon nanoparticles on the bacterial flora of bull semen. *Theriogenology*, 161, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.12.006>
- Yxskaftekälens Angus (u.å.). <https://www.yxskaftekalensangus.se/tjurstation> [2024-04-16]
- SFS 2004:41. Föreskrifter om seminverksamhet med nötkreatur. Statens jordbruksverk. [https://jvdoc.sharepoint.com/sites/sjvfs/Shared%20Documents/2004\\_41/2004-041.pdf?ga=1](https://jvdoc.sharepoint.com/sites/sjvfs/Shared%20Documents/2004_41/2004-041.pdf?ga=1)

## Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. Som student äger du upphovsrätten till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Du hittar en länk till SLU:s publiceringsavtal på den här sidan:

- <https://libanswers.slu.se/sv/faq/228316>.

JA, jag/vi ger härmed min/vår tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.