

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation

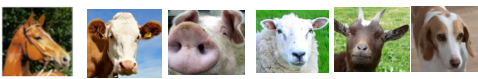
**Es geht auch ohne:
Alternativen zu Antibiotika im
konservierten Sperma**

Dagmar Waberski
Reproduktionsmedizinische Einheit der Kliniken/ Klinik für kleine Klauentiere

55. Tagung des Arbeitskreises Tiergarten 24.-26.04.2025

1

Jede Besamungsportion enthält Antibiotika.

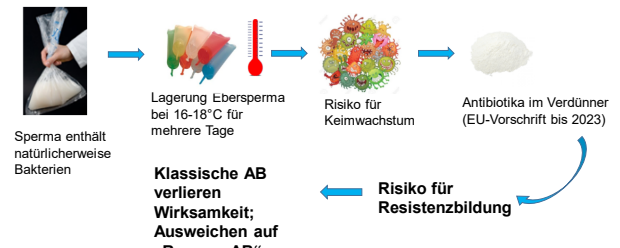
2

Antibiotika in Spermaportionen

- Relevanz in Schweine-KB
- Alternativen
 - Kältelagerung bei 5 °C
 - Photodynamische Inaktivierung von Bakterien

3

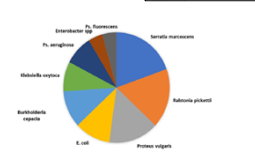
Hintergrund



4

Resistenzen in Spermaportionen

Boar Semen Contamination: Identification of Gram-Negative Bacteria and Antimicrobial Resistance Profile



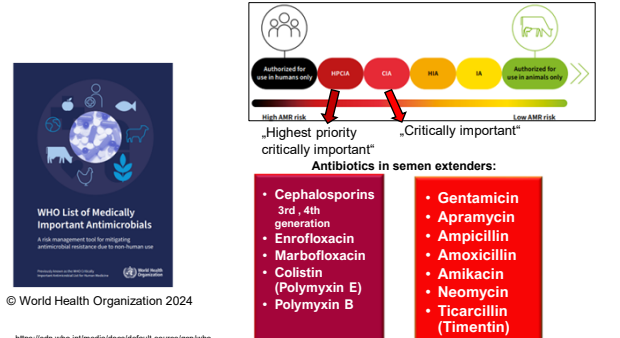
96 Spermaportionen aus 3 KB-Stationen
48 positiv für Bakterien

Antibiotikum	Resistente Keime (%)
Gentamicin	57 %
Penicillin	57 %
Neomycin	59 %
Ceftiofur	48 %
Lincomycin	48 %
Ampicillin	50 %

Costinar et al. 2021

5

WHO List of Medically Important Antimicrobials



Antibiotics in semen extenders:

- Cephalosporins 3rd, 4th generation
- Enrofloxacin
- Marbofloxacin
- Colistin (Polymyxin E)
- Polymyxin B
- Gentamicin
- Apramycin
- Ampicillin
- Amoxicillin
- Amikacin
- Neomycin
- Ticarcillin (Timentin)
- Tylosin

6

Relevanz für One Health







Nativsperma:
10³ - 10⁶ KBE/ml

Großvolumige KB-Portion
Hohe Lagerungstemperatur

Rückfluss nach KB
in die Gülle: > 80 %

Eintrag in Böden und
Gewässer

24.04.2025

7

Antibiotika in Spermaportionen: Ein Dilemma





Pro Antibiotika

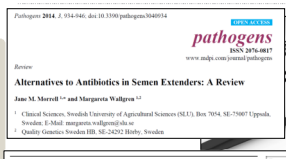
Contra Antibiotika

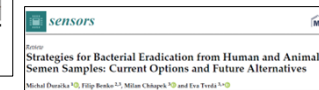
- Sperma enthält immer Bakterien
- Antibiotika sind Standard (EU-VO bis 04/2023)
- Schutz der Sau vor Infektionen
- Schutz der Spermaqualität
- Zunehmend antimikrobielle Resistenzen
- Verbot der Anwendung bestimmter Antibiotika
- Akzeptanz der industriellen Fleischproduktion
- Verantwortung gegenüber One-Health

24.04.2025

8

Alternativen ?





Alternatives to Antibiotics in Semen Extenders: A Review

Bacteria and Boar Semen Storage: Progress and Challenges

Strategies for Bacterial Eradication from Human and Animal Semen Samples: Current Options and Future Alternatives

24.04.2025

9

EU Legislation has changed!

21.3.2023 EN Official Journal of the European Union L 81/1

COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) 2023/647

of 13 January 2023

amending Delegated Regulation (EU) 2020/886 supplementing Regulation (EU) 2016/429 of the European Parliament and of the Council as regards the approval of germinal product establishments and the traceability and animal health requirements for movements within the Union of germinal products of certain kept terrestrial animals

(Text with EEA relevance)

[...] Chapter III

3. The semen used to fertilise the oocytes must be collected from animals which comply with the requirements set out in point 1.;

(3) Annex III is amended as follows:

(a) in Part 1, point 3 is replaced by the following:

3. Where necessary, antibiotics or mixtures of antibiotics may be added to semen or contained in semen diluents;

(b) in Part 1, points 4 and 5 are deleted;

http://data.europa.eu/eli/reg_del/2023/647/oj

24.04.2025

10

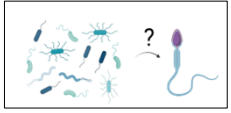
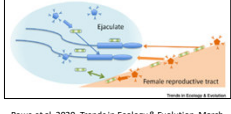
Alternativen ?

Risikoanalyse

- Welche Bakterien sind bedenklich?
- Ab welcher Keimzahl?
- Wie sind die Resistenzprofile?
- Wachstumsrate von Bakterien im konservierten Sperma?

Chancenanalyse

- Vorbeugung von Resistenzen
- Rolle des männlichen Genital-mikrobioms für die Fertilität?

Rowe et al., 2020, Trends in Ecology & Evolution, March 2020, Vol. 35, No. 3 <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.11.004>

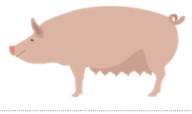
24.04.2025

11

Risikoanalyse

Harmful to the sow?

- Bakterien kommen natürlicherweise im Sperma vor
- Natursprung: 50- bis 100-fach höhere Bakterienzahl im Vergleich zu KB
- Der Uterus im Östrus hat starke Clearance-mechanismen
- Kommensale Bakterien sind harmlos für die Sau
- Spermienschädigung hängt ab von Bakterienart und -konzentration



24.04.2025

12

Bakterien im Sperma

Tradition: Bacteriospermia

- Bakterien = Pathogene

↓

Eliminierung
resultierend in:

- „Overuse“ von Antibiotika
- AMR

Neu: Samen Microbiom

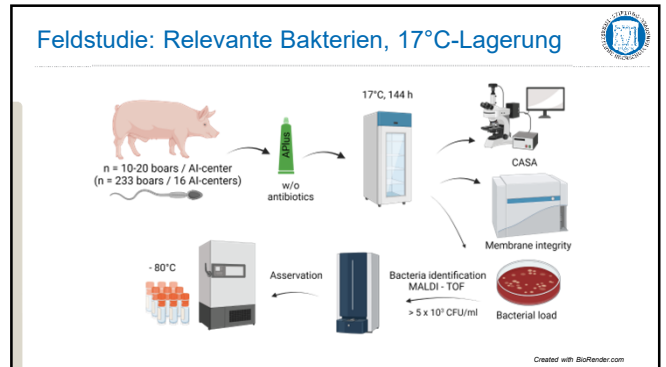
- Bakterien = natürlicher Spermabestandteil

↓

Akzeptanz
Abhängig von:

- Bakterienart
- Bakterienkonzentration

13



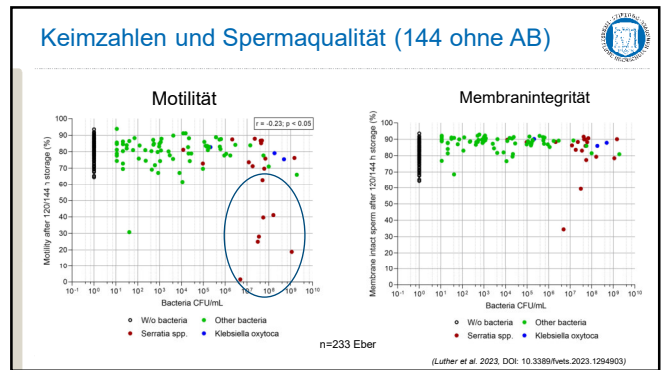
14

Bakterien >5 x 10³ KBE/mL bis 144 h Lagerung

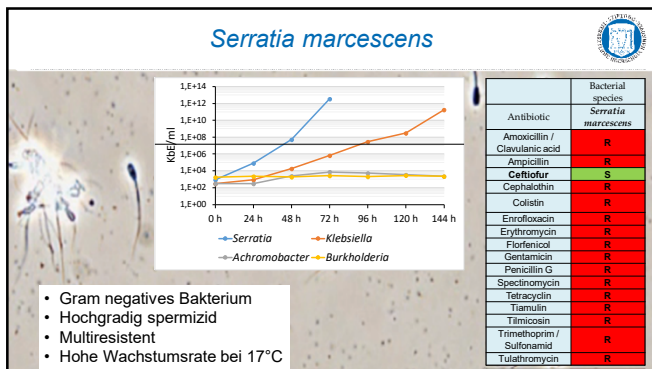
Bacteria species	Samples (n)	AI centers (n)	CFU/mL (min, max)	Low motility (n samples)	Low membrane integrity (n samples)	High agglutination (n samples)
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	1	8.0 × 10 ⁵ , 8.0 × 10 ⁵	0	0	0
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	1	2.0 × 10 ⁷ , 2.0 × 10 ⁷	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	1	1	1.5 × 10 ⁶ , 1.5 × 10 ⁶	0	0	0
<i>Kerstersia gylorum</i>	3	3	2.0 × 10 ⁶ , 4.9 × 10 ⁶	0	0	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1	4.0 × 10 ⁶ , 4.0 × 10 ⁶	0	0	0
<i>Kosakonia cowanii</i>	13	7	1.0 × 10 ⁴ , 9.6 × 10 ⁷	0	0	0
<i>Proteus hauseri/vulgaris</i>	1	1	9.0 × 10 ³ , 9.0 × 10 ³	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1	1.5 × 10 ⁴ , 1.9 × 10 ⁶	0	0	0
<i>Providencia rettgeri</i>	10	2	8.0 × 10 ³ , 1.0 × 10 ⁶	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	1.6 × 10 ⁴ , 1.6 × 10 ⁴	0	0	0
<i>Serratia marcescens/nematophilae/ureilytica</i>	19	6	1.2 × 10 ⁴ , 1.5 × 10 ⁹	7	4	8
<i>Serratia rubideae</i>	2	1	9.0 × 10 ³ , 6.3 × 10 ⁷	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1	3.0 × 10 ⁴ , 3.0 × 10 ⁴	0	0	0

(Luther et al. 2023, DOI: 10.3389/fvets.2023.1294903)

15



16



17

Anforderungen an Alternativen

- Hohe antimikrobielle Aktivität
- Keine Spermientoxizität
- Kein Einfluss auf Genital der Sau
- Umweltfreundlich
- Hohe Stabilität
- Wasserlöslichkeit
- Keine Resistenzentwicklung
- Leicht und zügig anwendbar
- Ökonomisch

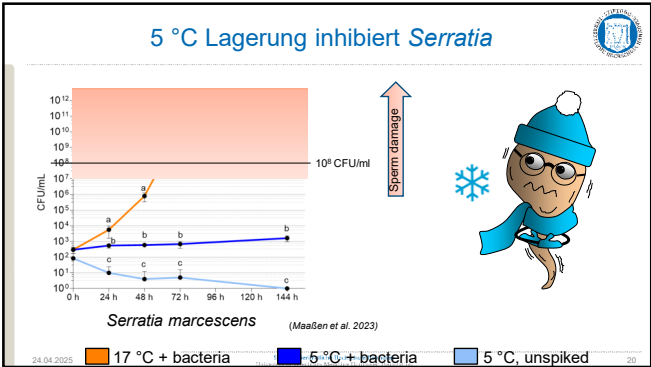
Verdünnernzusätze

Spermabehandlung

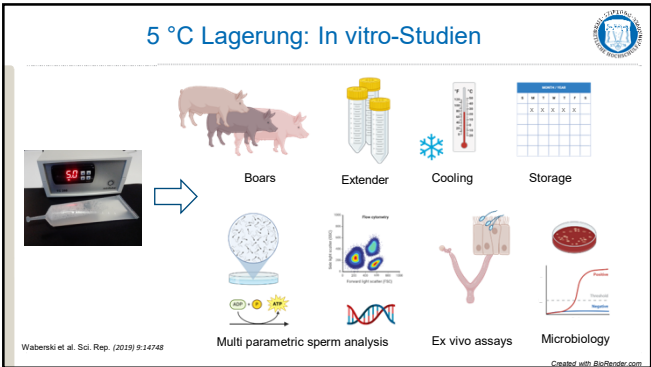
18



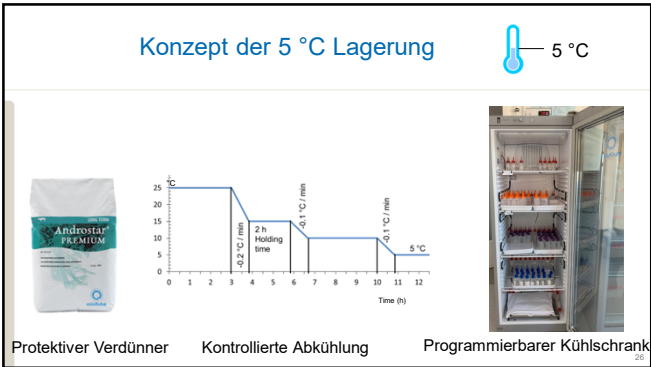
19



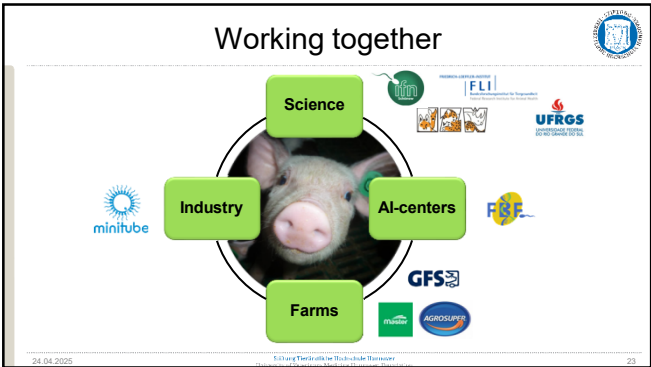
20



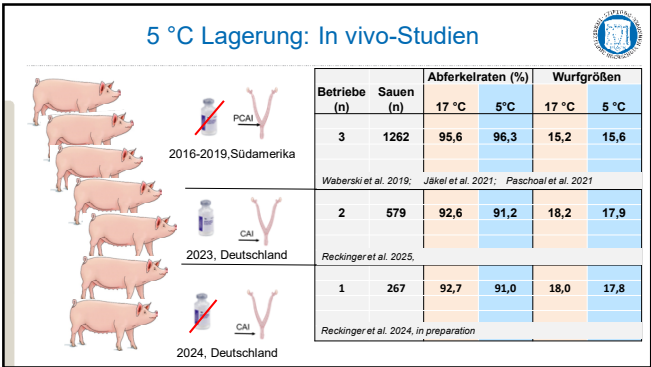
21



22



23



24

Was sagt die Praxis ?

- Spezifisch pathogene Erreger
- Spermienzahl pro Dosis
- Besamungsmanagement
- Praktikabilität
- Paradigmenwechsel

- Vorbeugung von Resistenzen
- Ad hoc-Konzept für Notfall
- Beitrag zu One-Health
- Temperaturstabilität
- Pioniergedanke

25

Photodynamische Inaktivierung (PDI)

26

Photodynamische Inaktivierung (PDI): Das Prinzip

$$\text{O}_2 \xrightarrow{\text{PS}^+ \text{ Molekül} + \text{Licht}} {}^1\text{O}_2 \rightarrow \text{inaktivierter Bakterium}$$

Molekularer Sauerstoff Singulärer Sauerstoff

- Ein photosensitives Molekül (PS) wird durch Licht angeregt.
- Bei der Energieübertragung wird singulärer Sauerstoff gebildet.
- Dieser inaktiviert Bakterien.

27

Anwendungsbereiche

28

Herausforderung der PDI

Effektivität gegen Bakterien

↑

Schutz der Spermien

29

Die PhiSperm Projektpartner

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

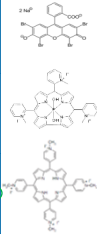
Humboldt Universität zu Berlin

minitube
Minitüb GmbH

30

Auswahl des Photosensitizers

PS	Ansammlung in Spermien	Antimikrobieller Effekt	Verfügbarkeit	Excitation Emission
Eosin Y	Ja	Beschrieben	Ja	~534 nm ~544 nm
PCor+	Nein	Beschrieben	Nein	~414 nm ~591 nm
TMPyP	Nein	Beschrieben	Ja	~421 nm ~700 nm



31

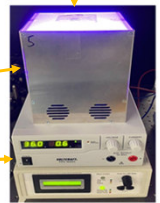
Illumination setup

Dose - Response	
PS - concentration	0.5 µM– 10 µM
Illumination time	30 s – 360 s
Illumination intensity	1.0 mW/cm² – 9.5 mW/cm²

Sample bag (8 ml; 2 µM TMPyP)

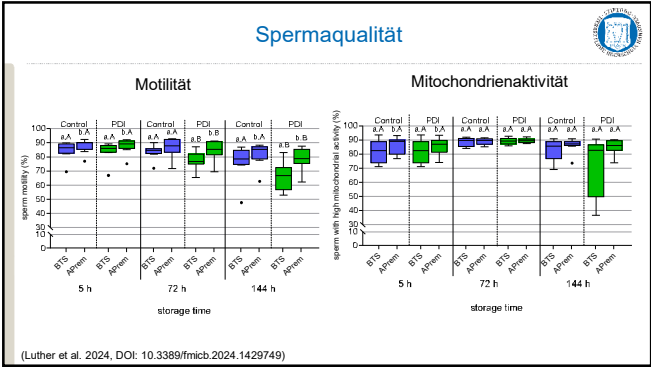
Light source (LED: 420 - 800 nm)

Control unit (5 mW/cm²; 90 s)



(Luther et al. 2024, DOI: 10.3389/fmicb.2024.1429749)

32



33

Spermaqualität

Chromatinintegrität				
TMPyP (µM)	0	2	2	2
Light	-	-	4.5 mW/cm², 90 s	9.5 mW/cm², 30 min
DFI (%)	0.2	5.4	6.8	4.8

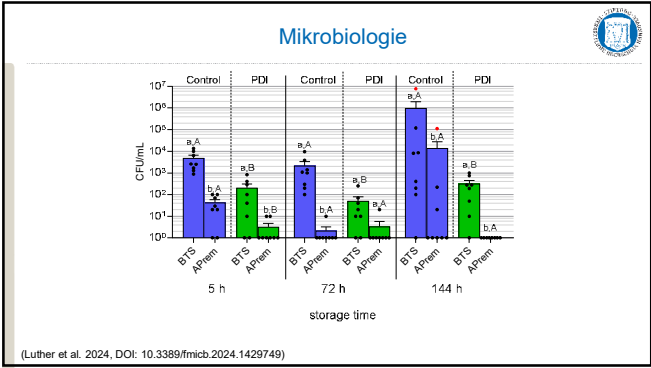


(Luther et al. 2024, DOI: 10.3389/fmicb.2024.1429749)

34



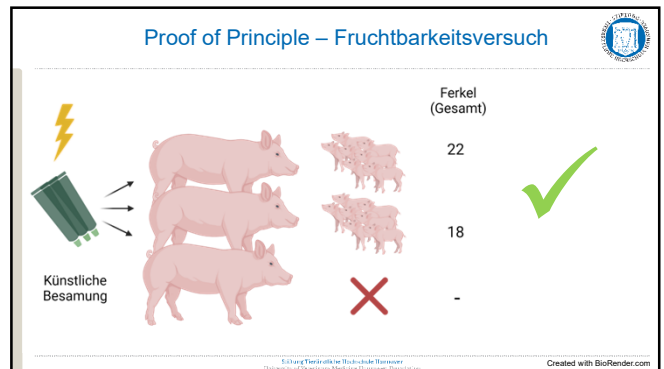
35



36



37



38

Fazit

Besamung ohne Antibiotika ist keine Utopie mehr.
Sie kann eine Notwendigkeit werden.

- Kältelagerung ist ad hoc in Praxis transferierbar
- Photodynamische Inaktivierung ist noch in F&E Stadium

39

Acknowledgment

Anne-Marie Luther
Helen Jäkel
Benita Grünter
Christina Beckermann
Isabel Maaßen
Aline Paschoal
Florian Reckinger
Quynh Thu Nguyen
K.F. Weitzte
Jutta Verspohl
Charlotte Vogel

Heiko Henning
Martin Schulze
Anja Riesenbeck

Fernando Bortolozzo
Kristin Mühlendorfer
Michael Jarek
Beate Röder †
Steffen Hackbarth

With support from:
Federal Ministry of Food and Agriculture
by decision of the German Bundestag

Project manager:
Federal Office for Agriculture and Food

rentenbank
ptble
DAAD
CAPES

40