

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

КРИВДА МАРИНА ІВАНІВНА

УДК 636.09 (477.41/42)

**БАКТЕРІАЛЬНІ УСКЛАДНЕННЯ В СТАТЕВИХ ШЛЯХАХ КОБИЛ
ЗА ЛАТЕНТНОГО ПЕРЕБІГУ РИНОПНЕВМОНІЇ**

16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія,
інфекційні хвороби та імунологія»

Автореферат на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Київ – 2017

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Житомирському національному агроекологічному університеті Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник доктор ветеринарних наук, професор
Галатюк Олександр Євстафійович,
Житомирський національний
агроекологічний університет,
завідувач кафедри мікробіології,
фармакології та епізоотології

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
Недосєков Віталій Володимирович,
Національний університет біоресурсів
і природокористування України,
завідувач кафедри епізоотології
та організації ветеринарної справи

доктор ветеринарних наук, професор
Корнієнко Леонід Євгенович,
Білоцерківський національний
аграрний університет,
завідувач кафедри епізоотології
та інфекційних хвороб

Захист відбудеться «21» червня 2017 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, кімната 301

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а

Автореферат розіслано « » травня 2017 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Н. Г. Грушанська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Забезпечення біобезпеки та епізоотичного благополуччя – пріоритетний напрям роботи як наукової спільноти, так і практичних лікарів ветеринарної медицини. Глобалізація тваринництва провокує активізацію захворювань, зокрема факторних хвороб, а також ринопневмонії коней, яка характеризується персистенцією збудника серед поголів'я лише неблагополучного господарства (Джупина І. С., 2002; Макаров В. В., 2005; Kydd J. H., 2006; Меженський А. О., 2011; Галатюк О. Є., Бегас В. Л., 2015; Gundasheva D., 2017).

Латентна форма ринопневмонії коней характеризується повільним і хронічним перебігом, що провокує зниження загальної резистентності, а також активізацію умовно-патогенної мікрофлори. Особливої уваги у цьому разі заслуговують представники родини *Enterobacteriaceae* (Кира Е. Ф., 2001; Allen G. P., Breathnach C. C. 2006; Kydd J. H. et al, 2006; Галатюк О. Є., 2015).

Вагінальний епітелій колонізований мікробами, які стають ланкою формування гомеостазу макроорганізму. Мікробний баланс – це індивідуальна хитка рівновага. Порушення цієї рівноваги у кобил може призвести до розвитку гострих та хронічних запальних процесів, неплідності, спонтанного переривання жеребності (Осипов Н. Г., 2003; Cauci S. et al, 2005; Федорич П. Ф., Корнієнко А. О., Федорич Л. Я., 2008; Marina R. S. et al, 2014).

Саме тому вивчення мікробоценозу статевих шляхів тварин, зокрема кобил за латентного перебігу ринопневмонії, становить науковий інтерес не лише в напрямі встановлення загального обсіменіння епітелію аеробними та факультативно-анаеробними мікроорганізмами, але й у вивченні морфологічних та фізіологічних особливостей конкретних представників, здатних колонізувати дану систему організму.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проведено в рамках затвердженої наукової теми «Крайова епізоотологія, розробка методів діагностики та боротьби з найбільш небезпечними хворобами тварин у Центрально-Північному регіоні України» за науковим напрямом «Забезпечення ветеринарного благополуччя технології вирощування племінних та товарних коней» (номер державної реєстрації 0111U001477, 2011–2015 рр.).

Мета та завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи – дослідити бактеріальні ускладнення статевих шляхів у кобил за латентного перебігу ринопневмонії.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- провести аналіз епізоотичної ситуації щодо ринопневмонії коней;
- дослідити морфологічні, біохімічні та серологічні показники крові кобил з виявленими порушеннями репродукції;
- виділити культури мікроорганізмів із вагінальних змивів зі значним поширенням та швидкістю росту;
- провести дослідження морфологічних та культуральних властивостей виділених бактеріальних ізолятів та довести їх резидентність;

- дослідити антигенність виділених бактерій для коней різних вікових та статевих груп;
- провести вивчення патогенності обраних бактеріальних культур для лабораторних тварин;
- розробити схеми корекції розладів репродукції у кобил з латентним перебігом ринопневмонії.

Об'єкт дослідження – латентний перебіг ринопневмонії у кобил української верхової породи.

Предмет дослідження – бактеріальні (секундарні) дисбіози статевих шляхів кобил за латентного перебігу ринопневмонії.

Методи дослідження: епізоотологічні (епізоотологічний аналіз перебігу стаціонарних, факторних інфекцій серед поголів'я на кінному заводі); мікробіологічні (виділення чистих культур із накопичуваних, встановлення їх родової та видової приналежності, вивчення культуральних властивостей мікроорганізмів у процесі тривалого культивування, а також дослідження їх біохімічних особливостей; оцінка загального мікробного обсіменіння статевих шляхів досліджених кобил); імунологічні (встановлення імуногенності виділених умовно-патогенних бактеріальних ізолятів); морфологічні (вивчення патологічних змін у печінці абортіваних плодів); статистичні (обробка цифрових показників результатів досліджень).

Наукова новизна одержаних результатів. Вивчено латентний перебіг ринопневмонії серед поголів'я кінного господарства, проаналізовано гематологічні показники кобил різних досліджуваних груп.

Вперше встановлено, що умовно-патогенні резидентні штами ентеробактерій (зокрема види *Citrobacter freundii* та *Budvicia aquatica*) є імуногенними для коней репродуктивного та дорепродуктивного віку.

Вперше встановлено, що у тварин за латентного перебігу ринопневмонії з клінічними проявами ендометриту мікробне різноманіття поступається такому у групах тварин, що не приходять в охоту, та нерезультативно запліднених: 17 ізолятів проти 21. Але загальна контамінація (загальне поживне середовище) у клінічно хворих тварин значно вища: 112 КУО/см² проти 25–42 КУО/см². У жеребих тварин мікробне різноманіття у три рази поступається такому у тварин з дисбіозами піхви (7 проти 21). У кобил після вижереблення, у порівнянні з жеребими кобилами, значно зростає кількість контамінантів епітелію піхви (в 7–15 разів) та шийки матки (в 11–22,5 раза).

Доведено, що спектр мікробних контамінантів епітелію статевих шляхів кобил залежить від статевого циклу. Мікробне різноманіття для всіх досліджених груп тварин мало спільні аспекти: переважання грамнегативних факультативно-анаеробних паличкоподібних бактерій (29–45 %) та актиноміцетів (23,5–28,5 %). У кобил з клінічними проявами ендометриту відсоток грампозитивних кокових бактерій відповідає такому у актиноміцетів, серед яких виявлено факультативно-аеробного представника. Разом з цим встановлено зниження кількості спороутворюючих паличок.

Експериментально модифіковано методику постановки та апробовано реакцію аглютинації з бактеріальними корпускулярними антигенами та

сироватками крові коней для встановлення рівня імуногенності досліджуваних ізолятів. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 107706 «Спосіб визначення титрів антитіл в сироватках крові коней до резидентної мікрофлори статевих шляхів кобил в реакції мікроаглютинації».

Отримано нові дані, що сприяють розвитку перспективного напрямку терапії та профілактики бактеріальних ускладнень статевих шляхів у кобил за латентного перебігу ринопневмонії.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновано нові схеми проведення первинних висівів нативного матеріалу вагінальних змивів, підходи до проведення біохімічної видової ідентифікації домінуючих бактеріальних культур. Представлено алгоритм отримання бактеріальних корпускулярних антигенів (неспороутворюючих безкапсульних паличок) для постановки реакції аглютинації з сироватками крові тварин.

Розроблено методичні рекомендації для працівників лабораторій ветеринарної медицини та навчання студентів вищих навчальних закладів «Діагностика дисбіозів статевої системи самок», які розглянуто та схвалено вченою радою Науково-інноваційного інституту тваринництва та ветеринарії Житомирського національного агроекологічного університету.

Розроблені схеми корекції порушень репродукції у кобил апробовано та впроваджено на Ягільницькому кінному заводі, ПРАТ «Райз-Максимко».

Нові знання впроваджено в науковій роботі та навчальному процесі кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького; кафедри епізоотології та паразитології Сумського національного аграрного університету; кафедри фізіології, біохімії та мікробіології Одеського державного аграрного університету; кафедри інфекційних та інвазійних хвороб Подільського державного аграрно-технічного університету; кафедри епізоотології та інфекційних хвороб Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету; кафедри патологічної анатомії та інфекційної патології Полтавської державної аграрної академії; кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології Житомирського національного агроекологічного університету.

Особистий внесок здобувача. Пошук та аналіз літературних джерел, пов'язаних із темою дисертації; відбір клінічного матеріалу для дослідження; визначення та оцінка гематологічних показників кобил; проведення гістоморфологічних досліджень; участь в розробленні методології проведення мікробіологічних досліджень для визначення якісної та кількісної оцінки мікробної контамінації статевих шляхів кобил; дослідження морфологічних та фізіологічних особливостей бактеріальних культур; одержання корпускулярних антигенів ентеробактерій, експериментальна модифікація реакції аглютинації та визначення титрів антитіл в сироватках крові коней здобувачем проведено самостійно. Відбір клінічного матеріалу та визначення гематологічних показників здійснено за участі старшого викладача кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології, кандидата ветеринарних наук А. А. Антонюка, мікробіологічні дослідження проведено за консультацій доцента кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології, кандидата біологічних наук

Л. О. Солодкої, морфо-гістологічний аналіз відібраних зразків виконано за консультацій завідувача кафедри анатомії і гістології Житомирського національного агроєкологічного університету, доктора ветеринарних наук, професора Л. П. Горальського. Формування мети, завдань і висновків здійснено спільно з науковим керівником, доктором ветеринарних наук, професором О. Є. Галатюком.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертації доповідались і обговорювались на: Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю від дня народження доктора ветеринарних наук, професора, завідувача кафедри епізоотології (1964–1978), засновника наукової школи з ветеринарної лейкозології Миколи Наумовича Дороніна «Актуальні проблеми інфекційної патології тварин» (м. Біла Церква, 2012 р.); Міжнародній науковій конференції, присвяченій 20-річчю набуття університетом статусу національного «Молодь в науці XXI століття» (м. Київ, 2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Заразні хвороби тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики» (м. Житомир, 2015 р.); Першій науково-практичній конференції «Молоді вчені у вирішенні проблем тваринництва та ветеринарії» (м. Житомир, 2014 р.); науково-практичних конференціях науково-педагогічного складу факультету ветеринарної медицини Житомирського національного агроєкологічного університету «Наукові читання» (м. Житомир, 2014 р., 2016 р.); науково-практичній конференції викладачів, аспірантів, магістрів та студентів (м. Житомир, 2011 р.).

Публікації. Основні положення дисертації викладено у 14 наукових працях, із яких стаття у науковому фаховому виданні України, 4 статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 2 статті у наукових виданнях іншої держави, стаття у іншому виданні, патент України на корисну модель, методичні рекомендації, тези наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Текст дисертації викладено на 168 сторінках комп'ютерного тексту, який містить вступ, огляд літературних джерел, матеріали та методи дослідження, результати власних досліджень, їх аналіз та узагальнення, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел, додатки. Робота ілюстрована 24 таблицями та 46 рисунками. Список використаних літературних джерел включає 190 найменувань, з яких 50 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Вибір напрямів дослідження, матеріал та методи виконання роботи. Дослідження за обраним напрямом проводились у мікробіологічній та вірусологічній лабораторіях кафедри мікробіології, вірусології та епізоотології, а також гісто-морфологічній лабораторії кафедри анатомії та гістології факультету ветеринарної медицини Житомирського національного агроєкологічного університету. Дослідження патогенності бактеріальних

культур проведено в регіональній Житомирській лабораторії ветеринарної медицини. Матеріал для дослідження (від коней української верхової породи) відбирали на кінному заводі.

Проведено моніторинг реєстрації герпесвірусних інфекцій серед поголів'я коней господарства за виявленням серопозитивності за результатами реакції преципітації в гелі щодо герпесвірусів першого та другого типів. В ході постановки експерименту досліджено 939 проб сироваток крові. Додатково проведено гістологічне дослідження печінки абортіваних плодів на пізніх строках жеребності. Для оцінки загального стану організму коней проведено аналіз морфологічних та біохімічних показників крові 82 кобил господарства з виявленими гінекологічними патологіями та 15 клінічно здорових кобил.

Матеріалом досліджень були змиви з епітелію піхви та шийки матки 20 кобил з розладами репродукції (кобили з перегулами та нерезультативними осіменіннями), а також запліднених кобил та після вижереблення. Для вивчення імунологічного статусу коней щодо виділених зі статевих шляхів бактерій досліджено сироватки крові 124 тварин різних вікових та статевих груп.

Відбір змивів проводили через вагінальне дзеркало шляхом змиву мікроорганізмів стерильним фізіологічним розчином натрію хлориду під тиском. Для вивчення обсіменіння епітелію піхви відбір мазків проводили через вагінальне дзеркало стерильним аплікатором транспортної пробірки, відбираючи мікробний матеріал з площі 5 см² з протилежних стінок піхви (загалом 10 см²), переносячи аплікатор у 10 см³ стерильного 0,9 % розчину натрію хлориду. Висів здійснювали на ряд загальних та елективних поживних середовищ. Облік результатів проводили на 3, 5, 7, 10 та 14 добу культивування, залежно від швидкості росту мікроорганізмів.

Сироватки крові для визначення напруженості імунітету щодо досліджуваних бактеріальних культур було відібрано від коней різних статевих та вікових груп. Дослідження проведено в динаміці (2009–2015 рр.). Було досліджено сироватки крові 124 тварин – 6 кобил дорепродуктивного віку, 98 кобил репродуктивного періоду та 20 жеребців-плідників.

У роботі використано дві культури ентеробактерій, виділених зі статевих шляхів кобил з латентним перебігом ринопневмонії. Проведено вивчення культуральних, морфологічних та біохімічних особливостей бактерій для встановлення їх видової приналежності. Вивчення патогенності досліджуваних штамів здійснено на лабораторних тваринах (миші – 45 голів, кролі – 9 голів).

Діагностикуми для реакції аглютинації отримано експериментально. Для оптимізації визначення титрів антитіл здійснено модифікацію реакції із застосуванням 96-лункових полістеролових планшетів та 7,5 % розчину натрію хлориду (патент України на корисну модель № 107706). Діско-дифузним методом на агарі Мюллер-Хінтона визначено чутливість до протимікробних препаратів як чистих культур ентеробактерій, так і мікробного конгломерату, виділеного зі статевих шляхів кобил з латентним перебігом ринопневмонії.

Узагальнення та статистичну обробку отриманих результатів проведено за допомогою редактора електронних таблиць та формул MS Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Епізоотологічне обстеження господарства. Епізоотологічний моніторинг кінного заводу показав постійну довготривалу циркуляцію збудників герпесвірусів коней першого (збуднику ринопневмонії) та другого (супресора імунної системи) типів.

Динаміка виявлення серопозитивних тварин серед поголів'я коней щодо герпесвірусів коней мала хвилеподібний характер. Так, в 2011 році спостерігали низьку кількість позитивно реагуючих тварин до герпесвірусів коней – 16 % (перший тип) та 19 % (другий тип), а в 2012 році відмічали помірне зростання до 33 та 28,5 %. Зростання кількості серопозитивних тварин до обох типів вірусу тривало і в 2014–2015 роках: 48,8 та 42 % в 2014 році проти 77 та 68 % в 2015 році. Натомість, у 2016 році спостерігається поступове зниження відсотку серопозитивних тварин у господарстві: 68,3 та 58,4 % відповідно. Але виявлено, що залишився значний відсоток тварин, в сироватках крові яких було встановлено наявність антитіл до обох типів вірусу – 53,5 % від загальної кількості досліджених коней у 2016 році.

Аналіз гематологічних показників кобил господарства з розладами репродукції, у порівнянні з тваринами контрольних груп, дозволив виділити ряд закономірностей. У кобил, що абортували або привели нежиттєздатних лошат, було встановлено достовірне зниження вмісту загального білка ($p \leq 0,01$), гемоглобіну ($p \leq 0,05$), колірного показника ($p \leq 0,05$) та кількості лейкоцитів ($p \leq 0,05$) у крові. Також вдалось опосередковано підтвердити етіологічну складову вірусу ринопневмонії у виникненні абортів та народження слабкого молодняка: відповідно 2,5 та 4,3 % від загальної кількості кобил господарства. Проведені гістологічні дослідження печінки абортованих на пізніх строках жеребності лошат дали можливість виявити патологічні зміни в структурі органу: порушення компактної структури, ознаки атрофії, гідропічної дистрофії клітин печінки, що характерно для ринопневмонії коней.

Постійне персистування в організмі коней різних типів герпесвірусів сприяє активізації неспецифічних, умовно-патогенних бактерій у статевих шляхах кобил у період жереблення та проведення парувальної кампанії.

Оцінка мікробного обсіменіння епітелію статевих шляхів кобил.

Оцінка мікробного обсіменіння статевих шляхів кобил проводилась у тварин з латентним перебігом ринопневмонії, які не приходили в охоту, з перегулами, а також з клінічними проявами запального процесу. До контрольних груп входили результативно запліднені кобили та кобили після вижереблення.

В ході проведення досліджень мікробні суспензії висівали на ряд поживних середовищ з різною селективністю: МПА, АМХ, агар Ендо, ССА, крохмало-аміачний агар, агар Мак Конкі, ксилозо-лізиновий дезоксихолатний агар, агар Чапека (з рН 4,5–5,0). Проведено як глибинні, так і ряд поверхневих висівів (незалежними штрихами). Глибинні посіви нативних змивів виявили неоднакову їх контамінацію мікробами, здатними рости в присутності кисню. На агарі Чапека з кислотністю, наближеною до рН піхви кобил (4,5–5,0), та ксилозо-лізиновому дезоксихолатному агарі не було виявлено жодної

поверхневої бактеріальної колонії. Натомість, ріст мікроорганізмів різної інтенсивності зафіксовано на м'ясо-пептонному агарі, агарі Мюллер-Хінтона, агарі Ендо, крохмало-аміачному та селективному сольовому агарі.

За латентного перебігу ринопневмонії, у вагінальних змивах досліджених кобил мікроорганізми ряду *Actinomycetales* склали від 23,5 до 28,5 % від загальної кількості виділених ізолятів. Але домінуючими серед різноманіття виділених мікроорганізмів були грамнегативні паличкоподібні факультативно-анаеробні бактерії (29 до 45 % від загальної кількості виділених ізолятів).

Від клінічно здорових кобил за латентного перебігу ринопневмонії без розладів репродуктивної функції не було виділено жодного виду кокових бактерій. Від кобил із перегулами та не результативними осіменіннями за прихованого перебігу ринопневмонії виділено два різновиди грампозитивних кокових бактерій (індекс частоти виявлення – 9,5 %) та стільки ж представників роду *Enterococcus*. Від кобил з клінічними проявами ендометриту виділено чотири різновиди грампозитивних коків: три штами – стрептококів та один – стафілококів: індекс частоти виявлення зрівнявся із таким у актиноміцетів (23,5 %), серед яких був наявний факультативно-анаеробний представник.

Від кобили з перегулами та нерезультативними осіменіннями за латентного перебігу ринопневмонії було виділено одноклітинні мікроскопічні гриби (індекс частоти виявлення – 33 %). Це свідчить про послаблення імунного захисту слизової оболонки та розвиток дисбіозу піхви у тварин цієї групи.

Мікробне осіменіння піхви у жеребих кобил складає 8 КУО/см² (МПА), тоді як у кобил з перегулами цей показник зростає до 34 КУО/см², а у кобил, що не приходять в охоту – 28 КУО/см². У кобил з клінічними проявами ендометриту – 16 КУО/см². Найвищу контамінацію зовнішніх статевих шляхів було виявлено у кобил після жереблення – 91,5 КУО/см² піхви.

Так, виділені в ході дослідження грамнегативні паличкоподібні бактерії є типовими домінуючими представниками мікробного консорціуму статевих шляхів. Їх переважання над мікроорганізмами інших морфологічних груп свідчить про необхідність подальшого детального їх вивчення.

Вивчення морфологічних та культуральних властивостей ентеробактерій. Під час первинного мікробіологічного дослідження вагінальних змивів кобил було виділено дві бактеріальні культури, які були характерними для всіх досліджуваних конематок, а також мали значну швидкість росту. Аналіз культуральних ознак обраних ізолятів на середовищах різної селективності (агар Ендо, вісмут-сульфіт агар, агар Мак-Конкі, ксилозо-лізиновий дезоксихолатний агар, селективний сольовий агар) довів, що культури належать до родини *Enterobacteriaceae*.

Приналежність мікроорганізмів до ентеробактерій підтвердило і фарбування за Грамом (рис. 1). Обидві культури виявились грамнегативними дрібними (2–4 мкм) прямими паличками, що розміщені поодинокі або зібрані у кластери (компактні групи) чи короткі ланцюжки (2–4 клітини); капсул і спор не утворюють. Але клітини культури № 1 дещо менші в ширину, порівняно з коротшими клітинами культури № 2. Просте фарбування засвідчило, що

мікробні клітини добре сприймають анілінові барвники (генціанвіолет, фуксин).

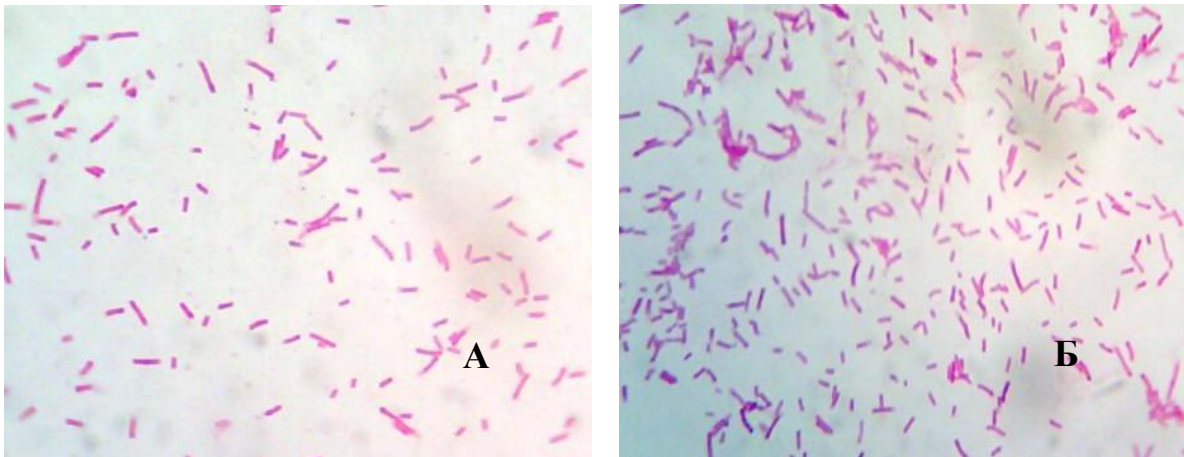


Рис. 1. Фарбування бактеріальних культур із вагінальних змивів за Грамом, $\times 1600$, імерсія: А – культура № 1; Б – культура № 2.

Було вивчено зміну культуральних ознак обох мікроорганізмів під час тривалої культивування (досліджено старіння культур). Після 30 пасажів протягом двох років культури поступово втрачали активність росту та інтенсивність пігментації на середовищі Ендо, що є наслідком втрати активності ферментів, здатних утилізувати сульфід натрію та основний фуксин.

Зміни росту ізолятів спостерігали і на селективному агарі для бактерій сальмонельної групи, що, відповідно до настанов, є цілком закономірним. Спостерігалось зниження швидкості та інтенсивності росту культур, зміна вигляду росту колоній з S-форм на R-форми (рис. 2).

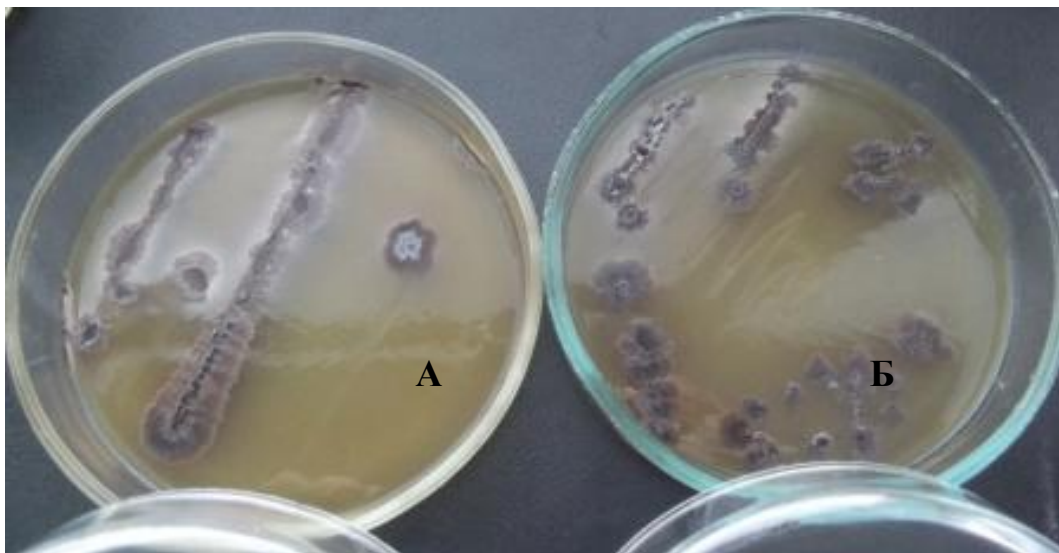


Рис. 2. Ріст ентеробактерій на вісмут-сульфіт агарі, зміна культуральних властивостей, культивування 5 діб: А – культура № 1; Б – культура № 2.

Морфологічні характеристики досліджуваних бактерій при цьому залишались сталими (рис. 3).

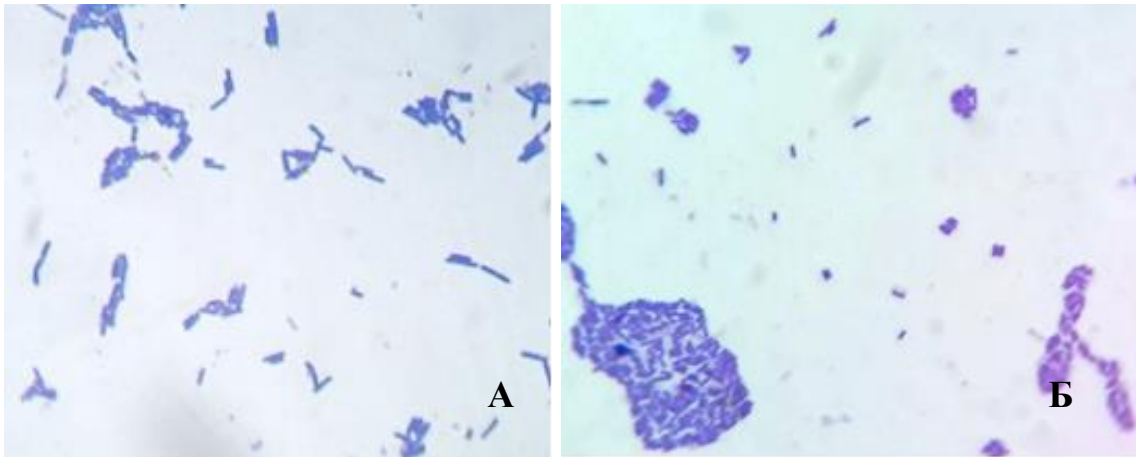


Рис. 3. Мікроскопія досліджуваних бактерій: просте фарбування, генціанвіолет; $\times 1600$, імерсія: А – культура № 1; Б – культура № 2.

Керуючись довідником «Bergey's manual of determinative bacteriology», було встановлено видову приналежність досліджуваних бактеріальних ізолятів.

Встановлення видової приналежності досліджуваних ізолятів. Видова ідентифікація виділених ентеробактерій проводилась із врахуванням культуральних особливостей ізолятів на середовищах різної елективності. Важливою їх ознакою стала відсутність росту на селективному сольовому агарі для стафілококів, агарі Мак-Конкі та ксилозо-лізиновому дезоксихолатному агарі. Також фіксували ріст останніх на вісмут-сульфіт агарі й здатність до продукування сірководню (темне забарвлення колоній) та відновлення вісмуту до вісмут-металевого (поява металевого блиску колоній на 3–5 добу).

Завдяки загальній сукупності культуральних ознак на різних середовищах було обрано 4 додаткові біохімічні тести для проведення видової ідентифікації ізолятів. Оскільки середовище Ендо диференційно-діагностичне й ілюструє утилізацію представниками ентеробактерій лактози, на ньому було встановлено лактозопозитивність ізолятів. До уваги також було взято результати посівів на середовищах – цитрат Сіммонса, агар Гісса з сахарозою – та рідких – бульйон Кларка (тест з метиловим-червоним), швидкий бульйон з L-триптофаном (визначення продукування індолу) (табл. 1).

Таблиця 1

Результати біохімічних тестів

№ з/п	Назва біохімічного тесту	Культура № 1 «К1»	Культура № 2«Р1»
1	Ріст на агарі Сіммонса	–	+
2	Ферментація сахарози	–	+
3	Тест з метиловим червоним	+	+
4	Виділення індолу	–	–
5	Ферментація лактози	+	+

За сукупністю культуральних, морфологічних та біохімічних особливостей досліджуваних ізолятів культура з шифром «Р1» належала до

роду *Citrobacter*, виду *Citrobacter freundii*. Ізолят з шифром «K1» відповідав роду *Budvicia*, вид *Budvicia aquatica*.

Визначення антибіотикочутливості чистих культур ентеробактерій. Визначення антибіотикочутливості чистих культур проведено диско-дифузним методом. Результати дослідження представлено в таблиці 2.

Таблиця 2

Дослідження антибіотикочутливості чистих культур ентеробактерій, виділених із вагінальних змивів у 2011 році

Антибіотик	Зона затримки росту під час встановлення антибіотикочутливості, діаметр, мм	
	<i>B. aquatica</i>	<i>C. freundii</i>
Бензилпеніцилін	16,00±1,50	0
Левоміцетин	23,50±2,50 ^Δ	27,32±2,58 ^Δ
Ципрофлоксацин	23,00±0,50 ^{*Δ}	24,00±1,00 ^{*Δ}
Стрептоміцин	25,31±1,23 ^{*Δ}	23,67±2,33 ^{*Δ}
Канаміцин	41,00±1,00 ^{*Δ}	26,40±2,60 ^Δ
Гентаміцин	22,00±2,00 ^{*Δ}	21,5±1,30 ^{*Δ}
Еритроміцин	30,80±1,20 ^{*Δ}	38,00±1,50 ^{*Δ}
Кларитроміцин	15,00±0,50 ^Δ	17,00±2,00 ^Δ
Поліміксин	0	13,30±4,00
Лінкоміцин	20,75±3,75	0
Тетрациклін	21,00±1,00	20,50±0,50
Фуразолідон	0	16,75±4,25
Амоксицилін	16,20±2,50	0

Примітки: *бактерицидна дія; ^Δвисока чутливість культури до дії препарату.

Результати дослідження свідчать, що з обраних антимікробних препаратів ефективними виявились майже 54 %, причому 57 % з них проявляли бактерицидну дію на ізолят *B. aquatica*. Для ізоляту *C. freundii* цей показник склав понад 71 %. Антибіотикочутливість – надзвичайно лабільний показник, тому під час повторного виділення бактеріальних ізолятів від кобил господарства було здійснено визначення антибіотикочутливості наново виділених культур до аналогічного спектру антимікробних препаратів (табл. 3).

Результати, отримані під час повторного дослідження, показали, що до деяких високоактивних препаратів за першого дослідження чисті культури ентеробактерій виявили помірну чутливість. Для інших препаратів було відмічено збільшення зони просвітлення, але мікроорганізми залишились до них малочутливими.

Так, зниження чутливості досліджуваних представників родини *Enterobacteriaceae* було виявлено до 46 % обраних антимікробних препаратів, тоді як підвищення стійкості – до 38 %. Причому серед них лише один антибіотик – левоміцетин – проявив високоефективну дію, тоді як до інших культури залишились резистентними. Один препарат (7,5 %) – еритроміцин –

втратив свою високоефективну бактерицидну дію на ізолят *B. aquatica*, тоді як для культури *C. freundii* зафіксовано підвищення чутливості із бактерицидною дією на даний мікроорганізм.

Таблиця 3

Розміри зон затримки росту при визначенні антибіотикочутливості чистих культур ентеробактерій, виділених у 2015 році

Антибіотик	Зона затримки росту під час встановлення антибіотикочутливості, діаметр, мм	
	<i>B. aquatica</i>	<i>C. freundii</i>
Бензилпеніцилін	12,00±0,25	10,00±0,50
Левоміцетин	27,00±1,93 ^Δ	30,00±4,00 ^Δ
Ципрофлоксацин	24,03±0,87 ^{*Δ}	24,05±0,90 ^Δ
Стрептоміцин	20,00±1,62 ^{*Δ}	18,50±0,47 ^{*Δ}
Канаміцин	30,10±1,90 ^{*Δ}	25,00±1,61 ^Δ
Гентаміцин	13,12±1,46	12,98±1,04
Еритроміцин	22,00±2,00	30,00±0,50 ^{*Δ}
Кларитроміцин	2,00±0,50	0
Поліміксин	10,03±2,08	15,78±2,90
Лінкоміцин	22,00±2,00	0
Тетрациклін	12,03±0,98	10,21±0,53
Фуразолідон	0	0
Амоксицилін	18,00±2,00	10,00±4,00

Примітки: *бактерицидна дія; ^Δвисока чутливість чистої культури до дії препарату.

Отримані дані свідчать, що досліджувані культури ентеробактерій протягом п'яти років залишаються в мікробоценозі статевих шляхів коней, зумовлюючи патологічні процеси в репродуктивних шляхах. Для підтвердження патогенності бактеріальних ізолятів було проведено дослідження на лабораторних тваринах.

Визначення патогенності резидентних ентеробактерій епітелію статевих шляхів кобил для організму лабораторних тварин. Зараження чотирьох груп мишей відповідною бактеріальною суспензією з концентрацією вегетативних клітин у 1 см³ 1 млрд, 750 тис., 500 тис. та 250 тис. проводилось інтраабдомінально (контрольна група тварин – введення 0,9 % розчину натрію хлориду).

Стандартизацію бактеріальних суспензій проведено за допомогою детектора мутності (Densi-La-Metr). Паралельно проведено визначення оптичної густини суспензій за допомогою фотоелектрокалориметру: довжина хвилі 400 нм, кювета 40 мм (табл. 4).

Після обрахунку отриманих результатів біопроби, проведеної на лабораторних мишах, за формулою Кербера встановили, що ЛД₅₀ культури *C. freundii* складає 500 тис. кл/см³, а культури *B. aquatica* – 700 тис. кл/см³. Для підтвердження загибелі тварин від введеного збудника у мишей у стані агонії

було відібрано кров. З сироватками крові мишей та експериментально отриманими антигенами досліджуваних культур було поставлено реакцію аглютинації. Відповідно до результатів, отриманих у реакції аглютинації, титри антитіл у сироватках крові лабораторних тварин до антигенів досліджуваних бактерій були на рівні 9,6–11,6 \log_2 .

Таблиця 4

Співвідношення одиниць Мак-Фарленда, оптичної щільності та кількості вегетативних клітин у 1 см³ суспензії

Досліджувана культура	Мутність, McF	Оптична щільність, ($\lambda=400$ нм)	Кількість клітин у 1 см ³
<i>C. freundii</i>	5,6	1,45	$1,68 \times 10^9$
	4,5	1,4	$1,35 \times 10^9$
	3,4	1,1	$1,00 \times 10^9$
	2,5	0,8	750×10^6
	1,7	0,55	500×10^6
	0,8	0,3	250×10^6
<i>B. aquatica</i>	5,5	1,6	$1,65 \times 10^9$
	4,4	1,3	$1,32 \times 10^9$
	3,4	1,0	$1,00 \times 10^9$
	2,5	0,75	750×10^6
	1,7	0,52	500×10^6
	0,8	0,2	250×10^6

Примітка. 1 McF = 3×10^8 кл/см³

Внутрішньовенне введення кролям суспензій ентеробактерій у концентрації, що відповідає ЛД₅₀, дозволило вивчити ефекти бактеріємії. Так, введення культури *C. freundii* (доза 1 см³) спричинювало загибель лабораторних тварин з ознаками застійної гіперемії у внутрішніх органах та підшкірній клітковині. Введення культури *B. aquatica* (доза 1 см³) спричинювало ряд клінічних ознак, що не призводили до загибелі тварини.

Причину загибелі лабораторних тварин та розвитку клінічних ознак у решти кролів підтверджували постановкою реакції аглютинації з сироватками крові як контрольної, так і дослідних груп тварин. На фоні нульових титрів у контрольної групи у кролів дослідних груп (введення суспензії відповідної досліджуваної культури) титри антитіл перебували на високому рівні до відповідного ізоляту. У першій групі (введення *C. Freundii*) титри до культури *C. freundii* було зафіксовано на рівні 9,6 \log_2 , до культури *B. aquatica* – 0. Натомість, титри антитіл до штаму *C. freundii* у тварин після введення культури *B. aquatica* відповідали нульовим показникам, а до культури *B. aquatica* – перебували на рівні 10,6–11,6 \log_2 .

Додатково проведено висів крові із серця загиблих тварин на тверді агарові середовища для ентеробактерій та перевірка чистоти отриманих колоній і відповідності їх досліджуваним ізолятам (рис. 4).

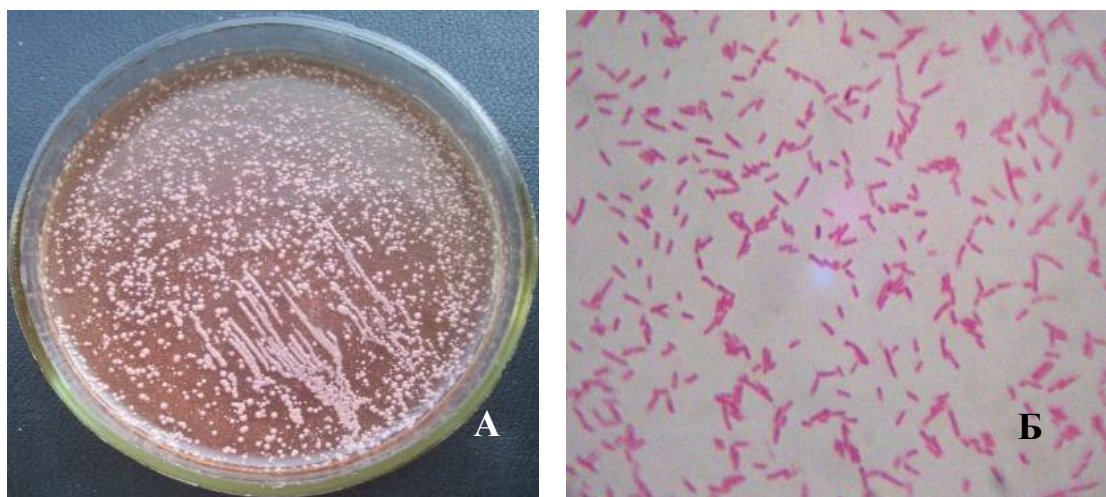


Рис. 4. Культура *C. freundii*: А – на агарі Мак Конкі (висяяна з крові загиблого лабораторного кроля); Б – фарбування її за Грамом після висіву, $\times 1600$, імерсія.

Отже, культури ентеробактерій, виділені зі статевих шляхів кобил, є патогенними для організму лабораторних тварин. Їх дію на організм коней досліджено шляхом вивчення імуногенності бактеріальних ізолятів для організму коней.

Дослідження імуногенності виділених культур резидентних ентеробактерій для організму коней різних вікових і статевих груп за латентного перебігу ринопневмонії. Здатність виділених культур ентеробактерій спричинювати імунну відповідь і створювати напруженість імунітету в організмі коней було перевірено шляхом постановки реакції аглютинації з експериментально отриманими бактеріальними антигенами та сироватками крові коней.

Для визначення спорадичності або закономірності отриманих у реакції аглютинації титрів антитіл дослідження було проведено для різновікових (кобили дорепродуктивного віку, тварини репродуктивного періоду) та різностатевих (кобили та жеребці-плідники) груп тварин у динаміці.

Визначення концентрації антитіл в сироватках крові коней з латентною персистенцією серед поголів'я вірусу ринопневмонії засвідчило, що титри антитіл у всіх груп досліджених коней господарства в цей період були на рівні від 6,6 до 9,6 \log_2 . Такі концентрації антитіл у сироватках крові виключають належність досліджуваних бактеріальних ізолятів до транзитних або корисних бактерій репродуктивного тракту, імуногенність яких не перевищувала б показника 5,6 \log_2 (1:50). Отримані концентрації антитіл в сироватках крові коней свідчать про активне функціонування імунної системи організму коней та формування імунної відповіді, спрямованої на стримування досліджуваних резидентних культур ентеробактерій як в організмі репродуктивного, господарсько-зрілого поголів'я (конематки, жеребці-плідники), так і в організмі кобил дорепродуктивного віку.

Виявлення антитіл до досліджуваних культур протягом трьох років свідчить, що імунна система коней не здатна елімінувати дані бактеріальні

культури повністю, але здатна ефективно їх стримувати. Про це свідчить відсутність клінічних ознак запалення в статевій системі кобил, у яких було відібрано вагінальні змиви.

Після повторного виділення у 2015 році досліджуваних бактеріальних штамів із вагінальних змивів було проведено порівняння імуногенності нововиділених та культур, що довготривало зберігались у лабораторії. Результати, отримані під час паралельної постановки реакції аглютинації, виявили антигенну тотожність «старих» та нововиділених бактеріальних ізолятів. Результати реакції аглютинації в сукупності з порівнянням культуральних та морфологічних ознак досліджуваних мікроорганізмів засвідчують тотожність виділених зі статевого тракту кобил ізолятів у різні роки дослідження. Отримані титри антитіл свідчать про резидентність цих представників родини *Enterobacteriaceae*, а також підтверджують їх імуногенність для організму досліджених коней за латентного перебігу ринопневмонії.

Дослідження антибіотикочутливості мікробного конгломерату вагінальних змивів. Практичні лікарі ветеринарної медицини в організмі тварин стикаються не з чистими культурами, а з мікробними біоплівками, представники яких, взаємодіючи один з одним, можуть підвищувати свою стійкість до несприятливих факторів, зокрема дії антимікробних препаратів.

Для проведення аналізу було обрано препарати, що проявили високоефективну дію на чисті культури ентеробактерій. Також було залишено (для контролю) два препарати, до яких чисті культури виявили низьку чутливість. Результати дослідження чутливості мікробної сукупності вагінальних змивів ілюструють різницю стійкості сукупності мікроорганізмів та окремих чистих культур. Чутливість чистих культур була вищою, порівняно з чутливістю бактеріальної сукупності.

Високу чутливість мікробні сукупності проявили до трьох з дев'яти обраних препаратів (33 %) – стрептоміцину, неоміцину та ванкоміцину. Чутливість до стрептоміцину, порівнюючи з чистими культурами, частково знизилась: зони просвітлення від 14,25 до 18,5 мм для консорціуму та відповідно 20 і 18,5 для *B. aquatica* та *C. freundii*. До того ж бактерицидна дія стрептоміцину для чистих культур у 50 % випадків змінилась на бактериостатичну для суспензій. Неоміцин проявляв високоефективну бактерицидну дію на мікробні суспензії в 50 % зразків.

Левоміцетин та канаміцин у 66,7 % виявляли високоефективну дію. До дії левоміцетину 17 % досліджених зразків були помірно чутливими і 17 % нечутливими. До канаміцину помірно чутливими були 33,4 % зразків. Ципрофлоксацин мав високу інгібуючу дію на чисті культури, діючи бактерицидно на *B. aquatica* та бактериостатично – на *C. freundii*. У випадку мікробних сукупностей дія препарату виявилась менш ефективною: помірна чутливість і лише для 41,7 % суспензій – висока. Подібна картина була типовою для еритроміцину. Найбільшу ефективність показав трициклічний глікопептидний антибіотик ванкоміцин. Дія його була для всіх зразків бактерицидною, а зони просвітлення значно більшими за мінімально допустимі.

Важливим етапом стало визначення антибіотикочутливості мікробів, виділених від кобил з клінічним проявом запального процесу в матці. З цією метою спектр антимікробних препаратів було розширено.

Так, високоефективну дію проявили 4 з 11 протимікробних препаратів (36,4 %). При цьому бактерицидну дію проявили представник глікопептидів – ванкоміцин – та цефалоспоринів першого (цефазолін) і третього покоління (цефтазидим).

Зважаючи на чутливість мікробного консорціуму до дії антибіотиків, для системної терапії кобил без клінічних ознак запалення, в разі виявлення дисбіозу, може використовуватись стрептоміцин або неоміцин. Поєднання цих антибіотиків не рекомендовано. Використання ванкоміцину можливе лише місцево. Для лікування клінічно виражених запальних процесів у матці кобил рекомендовано для системної терапії антибіотик ряду цефалоспоринів першого покоління – цефазолін. Використання ванкоміцину можливо місцево. Для системного використання цей препарат застосовується тільки у вигляді повільних інфузій (через прояв подразнюючої дії на навколишні тканини).

Схеми терапії кобил для раціонального проведення репродуктивної кампанії. За латентного перебігу ринопневмонії для корекції або усунення патологій репродукції, підхід до терапії повинен бути комплексним. Так, запропоновано поєднання неспецифічної стимуляції організму (в тому числі гормональної), усунення мікробного дисбалансу, підвищення м'язового тонуусу матки. Обов'язковою умовою стала профілактика ринопневмонії в господарстві: комплекс господарських заходів у поєднанні із застосуванням препаратів для неспецифічної стимуляції імунного захисту коней.

Для кобил з перегулами застосовували вітамінотерапію («Тривітамін», «Інтравіт»), що дозволяє нормалізувати роботу статевої системи, поліпшити овогенез, синтез статевих гормонів, а також поліпшити запліднення (дія комплексу вітамінів А та Е).

Неспецифічна імуностимуляція за допомогою аутогемотерапії, що поліпшує загальний стан всього організму тварини. Стимуляція центральних холінергічних процесів, загального м'язового тонуусу, зокрема тонуусу матки (препарати «Аміридин» або «Прозерин»).

Для корекції дисбіотичних станів піхви проводили антибіотикотерапію. Застосовували специфічну стимулюючу (гормональну) терапію, спрямовану на настання овуляції та результативне осіменіння кобил (препарат «Сурфагон»).

Для тварин, що не приходили в охоту, терапія дещо відрізнялась. Лікування спрямовувалась, в першу чергу, на стимулювання овуляції. Хоча ключові етапи залишились сталими: неспецифічне стимулювання організму – вітамінотерапія, підвищення м'язового тонуусу та покращення нервової діяльності, адекватна антибіотикотерапія.

Максимальної уваги потребували тварини з виявленими ендометритами. Лікування в цьому разі спрямовувалась, насамперед, на усунення причини запалення – патогенної (умовно-патогенної) мікрофлори, евакуації ексудату з промиванням порожнини матки (за допомогою кружки Есмарха). Щоденно протягом трьох діб для очищення слизової оболонки матки від продуктів

гнильно-фібринного запалення проводять промивання порожнини матки (3–5 л 0,9 % розчину натрію хлориду).

Представлені схем терапії розроблено з урахуванням комплексного підходу: специфічна терапія виявлених патологій відтворення поєднується із загальною стимуляцією організму та, безперечно, з профілактичними заходами щодо проявів ринопневмонії. Це дозволяє у більшості кобил усунути виявлені патології репродукції з метою отримання здорового поголів'я та підвищення рентабельності господарства.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі доведено стаціонарність та ензоотичність ринопневмонії у кінному господарстві (за результатами реакції дифузної преципітації в гелі). Виявлено порушення репродуктивної функції у кобил за латентного перебігу ринопневмонії, досліджено цитологічні та біохімічні зміни у крові кобил. Вивчено контамінацію епітелію статевих шляхів кобил аеробними та факультативно-анаеробними мікроорганізмами. Проведено ідентифікацію окремих резидентних умовно-патогенних ентеробактерій з вивченням змін їх фізіологічних особливостей під час тривалого культивування. Досліджено патогенність та імуногенність виділених штамів. Розроблено рекомендації щодо діагностики дисбіозів статевої системи самок, а також схеми оздоровлення кобил з розладами репродуктивної функції.

1. Встановлено персистенція у формі ензоотії збудників герпесвірусної інфекції коней першого та другого типів (реакція дифузної преципітації в гелі). Носійство герпесвірусів з характеристиками їх персистенції та формування латентної інфекції у коней зумовлює зниження імунітету та спричинює активізацію умовно-патогенної мікрофлори в репродуктивних шляхах кобил.

2. Виявлено, що кобили із розладами репродуктивної функції у 83,58 % випадків були серопозитивними щодо ринопневмонії, що свідчить про субклінічний перебіг цієї інфекції в господарстві. Аналіз гематологічних показників кобил, що абортували або привели нежиттєздатних лошат, засвідчив достовірне зниження вмісту загального білка ($p \leq 0,01$), гемоглобіну ($p \leq 0,05$), колірного показника ($p \leq 0,05$) та кількості лейкоцитів ($p \leq 0,05$).

3. Встановлено, що спектр мікробних контамінантів епітелію статевих шляхів кобил залежить від фази статевого циклу. У всіх досліджених груп переважали грамнегативні факультативно-анаеробні паличкоподібні бактерії (29–45 %) та актиноміцети (23,5–28,5 %).

Кількість виділених мікроорганізмів у кобил у період після жереблення значно перевищує кількість у жеребих кобил (87–74 проти 12–5 КУО на 1 см²). Від тварин з клінічними проявами ендометриту виділено 17 ізолятів, від кобил з перегулами та нерезультативними осіменіннями – по 21, а від успішно запліднених тварин – 7 ізолятів.

4. Серед мікробного різноманіття епітелію статевих шляхів кобил виділено два ізоляти – *Citrobacter freundii* та *Budvicia aquatica*. Тривале культивування ізолятів призводить до змін їх фізіологічних ознак із

збереженням морфології мікроорганізмів. Виділення досліджуваних штамів від кобил господарства повторно впродовж тривалого часу доводить їх резидентність для тварин господарства.

5. Встановлено, що досліджувані бактеріальні ізоляти є імуногенними для організму коней репродуктивного та дорепродуктивного віку. Концентрація виявлених антитіл в сироватках крові коней (від 6,6 до 9,6 \log_2 – кобили; від 6,6 до 8,6 \log_2 – жеребці) виключає належність досліджуваних бактерій до корисних або транзитних мікробів.

6. З'ясовано, що досліджувані ентеробактерії патогенні для лабораторних тварин: ЛД₅₀ – 500 тис. кл/см³ (*C. freundii*) та 700 тис. кл/см³ (*B. aquatica*). Після внутрішньовенного введення в організм кролів культури *C. freundii* (500 тис. кл/см³) фіксували загибель тварин з ознаками гіперемії підшкірної клітковини та внутрішніх органів, геморагіями в нирках, печінці, легенях. Введення суспензії *B. aquatica* (750 тис. кл/см³) спричиняло короточасну гіперемію вушних раковин, кон'юнктиви; порушення роботи шлунково-кишкового тракту.

7. Встановлено, що сукупність мікроорганізмів статевих шляхів кобил з розладами репродуктивних функцій за латентного перебігу ринопневмонії високочутлива до стрептоміцину, неоміцину та ванкоміцину. Для лікування ендометриту у кобил вискоефективними є цефазоліни першого та третього покоління, а також ванкоміцин.

Для прохлостілих кобил поряд із неспецифічною стимуляцією (вітамінотерапія, аутогемотерапія), рекомендовано застосування стрептоміцину (неоміцину), а також прозерину, сургафону та комбіферону. Для кобил, що не приходять в охоту, – вітамінотерапія, комбіферон, стрептоміцин, прозерин та сургафон. За клінічних проявів ендометриту разом із системним застосуванням цефазоліну доцільними є вітамінотерапія, комбіферон, прозерин та сургагон.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Під час встановлення етіології абортів, нерезультативних осіменінь, перегулів включати в схему діагностики дослідження на специфічні інфекції (ринопневмонія, лептоспіроз), враховувати спектр факторних інфекцій, що спричинюються умовно-патогенними збудниками, які циркулюють у господарстві. Доцільно проводити моніторинг стаціонарних інфекцій у кінних господарствах щорічно завчасно перед початком парувальної кампанії.

2. Методичні рекомендації «Діагностика дисбіозів статевої системи самок» схвалено вченою радою Науково-інноваційного інституту тваринництва та ветеринарії Житомирського національного агроєкологічного університету (протокол № 2 від 18.11.14 р.) та затверджено Головним управлінням ветеринарної медицини в Житомирській області. Методичні рекомендації пройшли рецензування та подано на затвердження до науково-технічної ради Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Стаття у науковому фаховому виданні України

1. **Кривда М. І.**, Галатюк О. Є., Солодка Л. О. Проблеми ідентифікації Ентеробактерій при дослідженні клінічного матеріалу // Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2014. № 1 (39). Т. 1. С. 125–130. *(Здобувач брала участь у проведенні висівів на селективні середовища, аналізі отриманих результатів, формулюванні поставленої проблеми та формуванні тексту статті).*

Статті у наукових фахових виданнях України,

включених до міжнародних наукометричних баз даних:

2. **Завадська М. І (Кривда М. І.)**, Галатюк О. Є., Солодка Л. О. Мікрофлора статевих шляхів кобил як індикатор отримання здорових лошат // Науковий вісник ветеринарної медицини. 2012. № 9 (92). С. 44–48. *(Здобувач брала участь у проведенні первинних висівів, виділенні чистих культур, дослідженні їх морфології та фізіології; написанні тексту статті).*

3. **Кривда М. І.** Розрахунки економічної доцільності мікробіологічної перевірки кобил перед осіменінням // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва». 2014. Вип. 201. С. 88–91.

4. **Кривда М.**, Галатюк О., Солодка Л. Оптимізація оцінки мікробного складу статевої системи самиць // Тваринництво України. 2014. № 12. С. 19–21. *(Здобувач брала участь у зборі даних та опрацюванні результатів, формулюванні висновків та написання тексту статті).*

5. **Кривда М. І.**, Галатюк О. Є., Солодка Л. О. Дослідження мікрофлори статевої системи кобил // Біологія тварин. 2015. № 3. Т. 17. С. 57–62. *(Здобувач брала участь у проведенні первинних висівів, аналізі отриманих результатів та формуванні висновків, написанні тексту статті).*

Статті у наукових виданнях інших держав:

6. **Кривда М. И.**, Галатюк А. Е. Принципы выделения и идентификации энтеробактерий при диагностике дисбиозов половой системы кобыл // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы. 2014. С. 152–157. *(Здобувач брала участь у розробленні схеми досліджень, збиранні та аналізі експериментальних даних).*

7. **Кривда М. И.**, Антонюк А. А. Исследование микробного обсеменения половой системы кобыл // Учёные записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». 2015. Т. 51 (2). С. 49–52. *(Здобувач провела дослідження сироваток крові коней, здійснила аналіз та опрацювання експериментальних даних, брала участь у формуванні висновків та написанні тексту статті).*

Стаття в іншому виданні

8. Кривда М. І. Мікробні консорціуми статевих шляхів кобил та визначення імуногенності окремих колонізаторів епітелію репродуктивного тракту // Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2015. № 1 (49). Т. 3. С. 79–82.

Патент України на корисну модель

9. Патент на корисну модель UA⁽¹⁹⁾ 107706⁽¹¹⁾ U⁽¹³⁾ Україна, МПК⁽⁵¹⁾ G 01 N 33/48 (2006.01), G 01 N 33/536 (2006.01). Спосіб визначення титрів антитіл в сироватках крові коней до резидентної мікрофлори статевих шляхів кобил в реакції мікроаглютинації / Галатюк О. Є., **Кривда М. І.**; винахідники та власники патенту. № u 201511052; заявлено 12.11.2015; опубліковано 24.06.2016, Бюл. № 12 2 с. *(Здобувач провела аналіз обліку реакції аглютинації з сироватками крові коней та бактеріальними корпускулярними антигенами із застосуванням розчину натрію хлориду різної концентрації, брала участь у виведення формули оптимізації постановки діагностичної реакції аглютинації, у підготовці документації для отриманні патенту України на корисну модель).*

Методичні рекомендації

10. Кривда М. І., Галатюк О. Є., Солодка Л. О. Діагностика дисбіозів статевої системи самок: методичні рекомендації. Житомир, 2015. 14 с. *(Здобувач здійснила експериментальні дослідження, брала участь в аналізі отриманих результатів та формуванні тексту методичних рекомендацій).*

Тези наукових доповідей:

11. **Завадська М. І. (Кривда М. І.)**, Галатюк О. Є., Солодка Л. О. Вибір оптимальної антибіотикотерапії для впливу на умовно-патогенні мікроорганізми статевих шляхів кобил // Матеріали науково-практичної конференції викладачів, аспірантів, магістрів та студентів, м. Житомир, 9 червня 2011 року: тези доповіді. Житомир, 2011. С. 43–45. *(Здобувач дослідила дію антибіотиків на чисті культури бактерій, брала участь в аналізі результатів та формуванні тексту тез).*

12. Кривда М. І. Мікрофлора статевих шляхів кобил // Наукові читання–2014, м. Житомир, 2014 рік: тези доповіді. Житомир, 2014. Т. I. С. 15–16.

13. Кривда М. І. Вивчення імуногенності культур резидентних умовно-патогенних бактерій, виділених із статевих шляхів кобил // Молоді вчені у вирішенні проблем тваринництва та ветеринарії: перша науково-практична конференція, м. Житомир, 18 листопада 2014 року: тези доповіді. Житомир, 2014. С. 53–55.

14. Кривда М. І. Особливості прихованого перебігу ринопневмонії коней // Наукові читання – 2015, м. Житомир, 2016 рік: тези доповіді. Житомир, 2016. С. 111–114.

АНОТАЦІЯ

Кривда М. І. Бактеріальні ускладнення в статевих шляхах кобил за латентного перебігу ринопневмонії. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук зі спеціальності 16.00.03 «Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія». – Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ, 2017.

Дисертацію присвячено вивченню контамінації епітелію статевих шляхів кобил аеробними та факультативно-анаеробними мікроорганізмами в умовах латентного перебігу ринопневмонії, зокрема, дослідженню резидентних умовно-патогенних факультативно-анаеробних ентеробактерій, виділених із піхви кобил (їх культуральних, морфологічних, біохімічних особливостей), а також встановленню імунної відповіді організму коней щодо досліджуваних бактеріальних штамів.

У ході проведення дослідження проведено епізоотичний моніторинг кінного господарства щодо ринопневмонії. Проаналізовано гематологічні, серологічні та біохімічні показники крові кобил із виявленими різного роду порушеннями репродуктивної функції. Від кобил дослідного господарства виділено дві культури ентеробактерій, проведено вивчення зміни їх культуральних властивостей у процесі тривалого зберігання та пересівів, доведено приналежність бактеріальних штамів до родини *Enterobacteriaceae*, а також здійснено їх видову ідентифікацію.

Доведено патогенність досліджуваних ізолятів для організму лабораторних тварин та імуногенність для організму коней різних вікових та статевих груп. Досліджено мікробний спектр вагінальних змивів кобил. Виявлено спільні та відмінні ознаки серед мікробного спектру контамінантів епітелію статевих шляхів у кобил досліджених груп. Встановлено залежність мікробної контамінації від фізіологічного стану кобил.

Проведене співставлення антибіотикочутливості мікробних сукупностей статевих шляхів та окремих чистих бактеріальних культур – їх складових, – засвідчило, що стійкість мікробного конгломерату перевищує чутливість окремих чистих культур.

Розроблено схеми оздоровлення кобил з виявленими порушеннями репродуктивної функції з метою одержання здорового молодняка.

Ключові слова: ринопневмонія, кобили, мікробне обсіменіння, ентеробактерії, антибіотикочутливість.

АННОТАЦИЯ

Кривда М. И. Бактериальные осложнения в половых путях кобыл при латентном течении ринопневмонии. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, эпизоотология, инфекционные болезни и иммунология». – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, 2017.

Диссертация посвящена изучению контаминации половых путей кобыл аэробными и факультативно-анаэробными микроорганизмами при латентном течении ринопневмонии, а в частности, изучению выделенных из половых путей кобыл резидентных условно-патогенных факультативно-анаэробных энтеробактерий (их культуральных, морфологических и биохимических особенностей), а также исследованию иммунного ответа организма лошадей относительно исследуемых бактериальных культур.

В процессе исследования проведен эпизоотический мониторинг конного хозяйства относительно герпесвирусов лошадей первого и второго типов. Гистологическое исследование показало наличие патологических изменений в структуре печени абортированных на поздних сроках жеребости жеребят. Проанализированы гематологические, биохимические и серологические показатели кобыл, у которых были зафиксированы нарушения репродуктивной функции. Определено, что кобылы с нарушениями репродуктивной функции в 83,58 % случаев были сероположительными относительно возбудителей ринопневмонии без клинических проявлений, что говорит о субклиническом течении инфекции в хозяйстве. Анализ гематологических показателей кобыл, абортировавших на поздних стадиях жеребости, или кобыл, родивших нежизнеспособных жеребят, показал достоверное снижение содержания белка в сыворотке крови ($p \leq 0,01$), гемоглобина ($p \leq 0,05$), цветного показателя ($p \leq 0,05$) и количества лейкоцитов ($p \leq 0,05$) в крови.

От кобыл исследуемого конного хозяйства выделено две культуры энтеробактерий, проведено изучение изменения их культуральных признаков в процессе длительного сохранения и постоянных пересевов, доказано принадлежность исследуемых изолятов к семейству *Enterobacteriaceae*, а также проведено их видовую идентификацию. Доказана патогенность исследуемых изолятов для организма лабораторных животных и их иммуногенность для организма лошадей разных возрастных и половых групп в условиях латентного течения ринопневмонии. Концентрация антител в сыворотке крови лошадей определялась путём постановки модифицированной реакции агглютинации с экспериментально полученными антигенами энтеробактерий. Титры антител у исследованных лошадей находились на уровне 6,6–9,6 \log_2 , что свидетельствует об активной работе иммунной системы, направленной на сдерживание развития энтеробактерий. Высокие титры антител к исследуемым агентам исключают их принадлежность к транзитным или автохтонным микробам.

Определён спектр факультативно-анаэробных и аэробных контаминантов эпителия половых путей кобыл на фоне латентного течения ринопневмонии. Обнаружены закономерности микробной контаминации половых путей в зависимости от фазы полового цикла.

Экспериментально сопоставлена чувствительность к антибиотикам микробных конгломератов и отдельных чистых бактериальных культур – их составляющих. Полученные результаты показали, что стойкость чистых культур значительно уступает стойкости совокупности микробов вагинальных смывов. Выбор антимикробных препаратов для терапии должен иметь индивидуальный подход для каждого животного (группы животных).

Разработаны схемы коррекции патологий репродуктивной функции кобыл с целью получения здорового потомства.

Ключевые слова: ринопневмония, кобылы, микробное обсеменение, энтеробактерии, антибиотикочувствительность.

ANNOTATION

Kryvda M. I. Bacterial complications in genital tract of mares with latent clinical course of rinopneumonia. – The Manuscript.

The dissertation on the degree of candidate of veterinary sciences on a specialty 16.00.03 Veterinary Microbiology, Epizootiology, Infectious Diseases and Immunology. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2017.

Dissertation is devoted to the study of contamination by an aerobe and facultative anaerobe microorganisms in genital tract of mares in latent clinical course of rinopneumonia, in special, to the study of resident opportunistic facultative anaerobe enterobacterias isolated from genital tract (their culture, morphological, biochemical characteristics), and to the determination of immune response of the horses against the tested bacteria.

In the course of research was conducted monitoring epizootic of the Stud Farm in case stationary diseases. Analysed blood indexes of the mares with different reproductive pathologies and latent clinical course of equine herpesvirus infection. From the mares of the horse farm allocated two enterobacterias cultures, studied changes in their culture traits in the process of long-term preservation and passages, proved that they belong to the *Enterobacteriaceae* family, and held their specie identification. Was proved the pathogenicity of the studied isolates for the laboratory animals and their immunogenicity for the horses of different age and sex groups in conditions of latent clinical course of equine herpesvirus infection.

Was investigated a microbial spectrum of mare's vagina: healthy ones and mares with different genital pathologies. It's a fact, veterinarian in real if correction a bacterial dysbiosis is necessary faces with the microbial biofilms. Was conducted comparing antibiotic sensitivity conglomerates microorganisms and some single pure bacterial cultures – their constituents. Microbial conglomerates are more durable to antibiotics then some individual bacteria. The treatment schemes for the mares were elaborated to get healthy foals in future.

Key words: rinopneumonia, mares, microbial contamination, enterobacteria, antibiotic sensitivity.