

УДК 579.61: 616.316-092

АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ДОМІНУЮЧИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗУБНИХ БЛЯШОК У СОБАК ЗА ХРОНІЧНОГО КАТАРАЛЬНОГО ГІНГІВІТУ

Н. В. Семанюк, Н. М. Хомин
Nazariysemaniuk@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79050, Україна

*За колонізації ротової порожнини хвороботворними мікроорганізмами або надмірного росту окремих представників нормофлори виникає дисбіоз, що приводить до відкладання на зубах зубного нальоту (зубної бляшки, біоплівки). Основною мікрофлорою зубного нальоту є адгезовані на поверхні зуба аеробні і факультативно анаеробні мікроорганізми. Враховуючи те, що адгезія є одним із чинників вірулентності, від якої залежить патогенність і агресивність мікроорганізмів, і, відповідно, важкість гінгівіту, у роботі показано результати дослідження адгезивних властивостей домінуючих у зубному нальоті мікроорганізмів за хронічного катарального гінгівіту у собак. Для проведення дослідів було сформовано чотири групи собак, які за клінічним проявом патологічного процесу в яснах були розділені на контрольну — здорові тварини, I дослідну — з легким ступенем хронічного катарального гінгівіту, II — з середнім і III дослідну групу — з важким ступенем перебігу хронічного катарального гінгівіту. У результаті проведених досліджень встановлено, що за хронічного катарального гінгівіту у зубних бляшках собак вірогідно вищим порівняно із інтактними тваринами є середній показник адгезії *E. coli* і *Streptococcus spp.* за важкого ступеня хвороби та наростання з важкістю хвороби показника адгезії коагулазонегативних і коагулазопозитивних стафілококів. Порівняно із здоровими тваринами у собак за різної важкості хронічного катарального гінгівіту встановлено достовірне зростання коефіцієнта участі еритроцитів в адгезії *Micrococcus spp.*, незначне зростання вказаного показника у коагулазонегативних стафілококів та *E. coli*, і поступове зниження у *Streptococcus spp.* У собак з хронічним катаральним гінгівітом індекс адгезивності домінуючих форм мікроорганізмів, виділених із зубних відкладень, зріс порівняно із здоровими тваринами і лише у *Micrococcus spp.* знизився на 16,7 %.*

Ключові слова: СОБАКИ, ХРОНІЧНИЙ КАТАРАЛЬНИЙ ГІНГІВІТ, ІНДЕКС, ЗУБНА БЛЯШКА, АДГЕЗІЯ, МІКРООРГАНІЗМИ, БІОПЛІВКИ, АДГЕЗІЯ, МІКРОБІОЦЕНОЗ, ДИСБАЛАНС

ADHESIVE PROPERTIES OF DOMINANT MICROORGANISMS FOR DENTAL PLAQUES IN DOGS WITH CHRONIC CATARRHAL GINGIVITIS

N. V. Semaniuk, N. M. Khomyn
Nazariysemaniuk@gmail.com

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskij, Pekarska str., 50, Lviv, 79050, Ukraine

During the colonization of the oral cavity of disease microorganisms or overgrowth of certain members of normal flora disbiosis is occurred, leading to the postponement of plaque on the teeth (dental plaque, biofilm). The basic microorganisms of dental raid is adhesion on the surface of tooth aerobic and optionally anaerobic microorganisms. Taking into account that adhesion is one of factors of virulence, which pathogenicity and aggressiveness of microorganisms, and, accordingly, weight of gingivitis, depend on, the results of research of adhesion properties of dominant in a dental raid microorganisms are in-process shown at chronic catarrhal gingivitis for dogs. For carrying out a test 4 groups of dogs which after

the clinical display of pathological process in gums were divided on were formed control — healthy animals, first research — with mild chronic catarrhal gingivitis, second — middle and third research group — with severe degrees of chronic catarrhal gingivitis. It was established that in the chronic catarrhal gingivitis in dental plaque of dogs significantly higher compared to intact animals is an average adhesion of E. coli and Streptococcus spp. for severe disease and increase with the severity of illness index adhesion coagula negative and coagula positive staphylococci. Compared with healthy animals in dogs at varying severity chronic catarrhal gingivitis it was found a significant increase in the participation rate of erythrocyte adhesion Micrococcus spp., a slight increase in this indicator in coagula negative staphylococci and E. coli, and the gradual reduction in Streptococcus spp. Dogs with chronic catarrhal gingivitis have an index of adhesion of dominant forms of microorganisms, isolated from dental sedimentations grew by comparison to healthy animals and only in Micrococcus of spp. went down on 16.7 %.

Keywords: DOGS, CHRONIC CATARRHAL GINGIVITIS INDEX, DENTAL PLAQUE, ADHESION, BACTERIA, BIOFILM, ADHESION, MICROBIocenosis, DISBALANCE

АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ДОМИНИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ЗУБНЫХ БЛЯШЕК У СОБАК ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ КАТАРАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ

Н. В. Семанюк, Н. М. Хомин
Nazariysemaniuk@gmail.com

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицького, ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79050, Украина

При колонизации ротовой полости болезнетворными микроорганизмами или чрезмерного роста отдельных представителей нормофлоры возникает дисбиоз, что приводит к откладыванию на зубах зубного налета (зубной бляшки, биопленки). Основной микрофлорой зубного налета являются адгезированные на поверхности зуба аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы. Учитывая то, что адгезия является одним из факторов вирулентности, от которой зависит патогенность и агрессивность микроорганизмов, и, соответственно, тяжесть гингивита, в работе показаны результаты исследования адгезивных свойств доминирующих в зубном налете микроорганизмов при хроническом катаральном гингивите у собак. Для проведения опыта были сформированы 4 группы собак, которые за клиническим проявлением патологического процесса в деснах были разделены на контрольную — здоровые животные, I опытную — с легкой степенью хронического катарального гингивита, II — со средним и III опытную группу — с тяжелой степенью хода хронического катарального гингивита. В результате проведенных исследований установлено, что при ХКГ в зубных бляшках собак достоверно выше в сравнении с интактными животными был средний показатель адгезии E. coli и Streptococcus spp. при тяжелой степени болезни и нарастания с тяжестью болезни показателя адгезии коагулазоотрицательных и коагулазоположительных стафилококков. В сравнении со здоровыми животными у собак при разной тяжести ХКГ установлен достоверный рост коэффициента участия эритроцитов в адгезии Micrococcus spp., незначительный рост указанного показателя у коагулазоотрицательных стафилококков и E. coli, и постепенное снижение в Streptococcus spp. У собак с хроническим катаральным гингивитом индекс адгезии доминирующих форм микроорганизмов, изолированных из зубных отложений вырос в сравнении со здоровыми животными и только в Micrococcus spp. снизился на 16,7 %.

Ключевые слова: СОБАКИ, ХРОНИЧЕСКИЙ КАТАРАЛЬНЫЙ ГИНГИВИТ, ИНДЕКС, ЗУБНАЯ БЛЯШКА, АДГЕЗИЯ, МИКРООРГАНИЗМЫ

Ротова порожнина, внаслідок біотопом для мікроорганізмів. Одним з наявності у ній достатньої кількості вологи чинників колонізації ротової порожнини є і поживних речовин, є сприятливим адгезія представників індигенної

мікрофлори, яка забезпечує опір організму людини і тварин колонізації алохтонними патогенними і потенційно патогенними мікроорганізмами. Вона також підтримує на належному рівні місцеву імунну систему [1, 2]. За стійкого імунітету і задовільного загального стану тварин умовно патогенні мікроорганізми живуть у ротовій порожнині у балансі і не викликають розвитку запальних процесів [3]. Деякі з бактерій нормальної флори можуть слугувати опортуністичними патогенами. За колонізації ротової порожнини хвороботворними мікроорганізмами або надмірного росту окремих представників нормофлори виникає дисбіоз і на зубах відкладається зубний наліт. Мікробні токсини нальоту травмують ясна, викликають порушення мікроциркуляції в тканинах пародонту [4], впливають на стан місцевого імунітету, що в комплексі і є основною причиною запального процесу ясен — гінгівіту.

За розвитку дисбіотичних порушень адгезивні властивості опортуністичної мікрофлори є чинником патогенності, оскільки вони дозволяють мікробам закріпитися на поверхні і колонізувати цей біотоп, досягаючи певного популяційного рівня. Згідно з даними американських дослідників, близько 80 % всіх мікробних інфекцій протікають з утворенням біоплівки, в яких бактерії об'єднані складними міжклітинними зв'язками, що підтримують «відчуття кворуму» [5]. У складі біоплівки мікроорганізми в 50–500 разів стійкіші до дії дезінфекторів, антибактеріальних препаратів, бактеріофагів, антитіл і фагоцитів [6].

Враховуючи те, що процес адгезії бактерій до поверхні є одним із перших етапів у формуванні біоплівки, а адгезивна здатність мікробів є одним з головних чинників, які започатковують і підтримують запалення слизової оболонки ясен, метою роботи було дослідити здатність до адгезії виділених із зубних бляшок домінуючих мікроорганізмів за хронічного катарального гінгівіту (ХКГ) у собак.

Матеріали і методи

Для визначення адгезивних властивостей використовували домінуючі мікроорганізми, які були виділені із зубних бляшок 40 дорослих безпородних домашніх собак віком 5,0–6,0 років вагою 10–30 кг, які за клінічним проявом патологічного процесу в яснах були розділені на 4 групи (по 10 тварин у кожній): контрольну — здорові тварини, I дослідну — з легким ступенем хронічного катарального гінгівіту, II — з середнім ступенем і III дослідну групу — з важким ступенем перебігу хронічного катарального гінгівіту.

Визначення адгезивної властивості бактерій проводили за методикою, запропонованою В. І. Бріліс і співавт. [7]. Для цього культури мікроорганізмів попередньо вирощували впродовж 24 годин на скошеному м'ясопептонному агарі. Суспензію мікроорганізмів готували на стерильному ізотонічному розчині натрій хлориду, концентрація клітин становила 10^9 КУО/мл. Клітинним субстратом слугували формалізовані еритроцити собак у кількості 10^8 кл/мл [8]. Еритроцити і суспензію мікроорганізмів у рівних об'ємах (по 50 мкл) змішували в пробірках і інкубували за 37 °С впродовж 1 години, регулярно струшуючи суміш. Після цього готували мазок, висушували, фіксували 96 % спиртом 15 хв і фарбували за Романовським-Гімза. Вивчення адгезії проводили під світловим мікроскопом, підрахунок вели на 50 еритроцитах. Оцінювали адгезію під імерсійним мікроскопом (x 630). Критеріями адгезивних властивостей мікроорганізмів були такі показники: середній показник адгезії (СПА) — середня кількість мікроорганізмів, що прикріпилися до одного еритроцита за підрахунку 50 еритроцитів; коефіцієнт участі еритроцитів (КУЕ) — відсоток еритроцитів, що мають на поверхні адгезовані мікроорганізми, визначали на 50 еритроцитах, проглядаючи усе предметне скло; індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ) — середня кількість мікробних клітин, адгезованих на одному

еритроциті, що беруть участь в адгезивному процесі. Адгезивність вважали нульовою за СПА від 0 до 1,0, низькою — від 1,01 до 2,0, середньою — від 2,01 до 4,0 і високою за СПА понад 4,0. Неадгезивними вважали мікроорганізм за ІАМ < 1,75, низькоадгезивними — за ІАМ від 1,76 до 2,5, середньоадгезивними — за ІАМ від 2,51 до 4,0 і високоадгезивними — за ІАМ вище 4,0 [2].

Результати й обговорення

У результаті проведених попередніх мікробіологічних досліджень зубних бляшок інтактних (здорових) і хворих на хронічний катаральний гінгівіт собак встановлено, що домінуючими мікроорганізмами є кокові форми і *E. coli*. Результати досліджень адгезивних властивостей домінуючих мікроорганізмів, виділених із зубних відкладень собак за ХКГ представлено у таблиці.

Таблиця

Адгезивні властивості домінуючих мікроорганізмів, виділених із зубних відкладень собак за різного ступеня ХКГ

| Виділені мікроорганізми | Групи | | | |
|---------------------------------|------------|-------------|--------------|--------------|
| | Контрольна | Дослідні | | |
| | | I | II | III |
| Середній показник адгезії (СПА) | | | | |
| <i>Micrococcus</i> spp. | 2,61±0,18 | 2,52±0,16 | 2,46±0,16 | 2,35±0,20* |
| Коагулазонегативні стафілококи | 2,76±0,14 | 3,41±0,18* | 4,68±0,18*** | 5,06±0,21*** |
| Коагулазопозитивні стафілококи | 3,03±0,25 | 4,42±0,44** | 5,66±0,48** | 6,31±0,41*** |
| <i>Streptococcus</i> spp. | 2,10±0,08 | 2,19±0,18 | 2,29±0,14 | 2,38±0,07* |
| <i>E. coli</i> | 1,20±0,15 | 1,68±0,20 | 1,84±0,29 | 1,91±0,18* |

Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами враховували *— $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

У всіх мікроорганізмів, які були виділені із зубних відкладень інтактних собак, СПА становив від 1,20 до 3,03. Кокові форми мікроорганізмів за даним показником належали до середньоадгезивних, а *E. coli* — низькоадгезивних. Серед середньоадгезивних мікроорганізмів найнижча адгезивність була у *Streptococcus* spp., на 24,3 % вищою порівняно із стрептококами вона була у *Micrococcus* spp., на 31,4 % — у коагулазонегативних стафілококів і на 44,3 % — у коагулазопозитивних стафілококів.

У собак, хворих на ХКГ, порівняно із контрольною групою тварин СПА мікроорганізмів зростав, за винятком *Micrococcus* spp. у яких досліджуваний показник мав тенденцію до зниження за

легкого і середнього ступеня важкості хвороби і виявився вірогідно нижчим ($p < 0,05$) у собак з важким ступенем перебігу хронічного катарального гінгівіту. Виникнення патологічного процесу за ХКГ супроводжувалося вірогідним наростанням порівняно із інтактними тваринами у зубних бляшках собак СПА *E. coli* і *Streptococcus* spp. з важким ступенем хвороби ($p < 0,05$), коагулазонегативних стафілококів з легким ($p < 0,05$), середнім і важким ($p < 0,001$) і коагулазопозитивних стафілококів з легким і середнім ($p < 0,02$) та важким ступенем хвороби ($p < 0,001$). Менш агресивними порівняно із стафілококами виявилися *E. coli* і *Streptococcus* spp., СПА яких був найвищим за важкого ступеня хвороби.

Результати визначення відсотка адгезовані мікроорганізми (КУЕ) наведено на рисунку 1. еритроцитів, що мали на поверхні

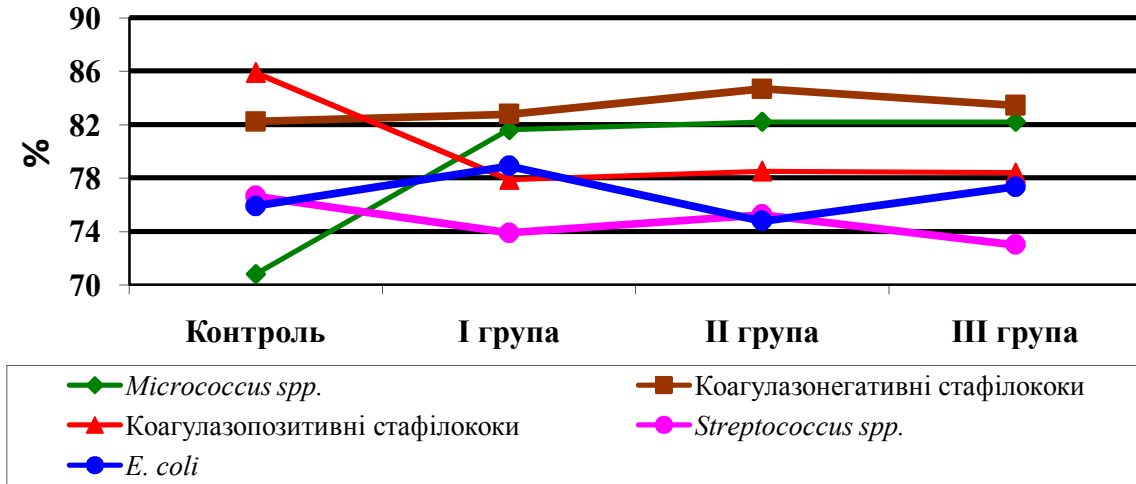


Рис. 1. Коефіцієнт участі еритроцитів, що мали на поверхні адгезовані домінуючі мікроорганізми, виділені із зубних відкладень собак, за ХКГ (КУЕ, %)

В інтактних собак КУЕ домінуючих мікроорганізмів, виділених із зубних відкладень, становив від 70,80 до 85,88 %. Найнижчим він виявився у *Micrococcus spp.* і найвищим — у коагулазопозитивних стафілококів.

За ХКГ у собак КУЕ порівняно із здоровими тваринами найбільш інтенсивно зростав у *Micrococcus spp.* за легкого ступеня хвороби на 10,8 % і за середнього та важкого — на 11,4 % ($p < 0,02$). Незначне зростання коефіцієнта адгезії встановлено у коагулазонегативних стафілококів і *E. coli*, різке зниження у *Streptococcus spp.* і

утримання приблизно на одному рівні за середнього і важкого ступеня ХКГ.

У собак з ХКГ порівняно із здоровими тваринами спостерігається достовірне ($p < 0,02$) зростання КУЕ у *Micrococcus spp.*, незначне зростання у коагулазонегативних стафілококів і *E. coli*, і поступове зниження у *Streptococcus spp.*

Розрахунок ІАМ, виділених із зубних відкладень, показав (рис. 2), що в інтактних собак усі досліджувані мікроорганізми були середньоадгезивними, за винятком *E. coli*, які були неадгезивними.

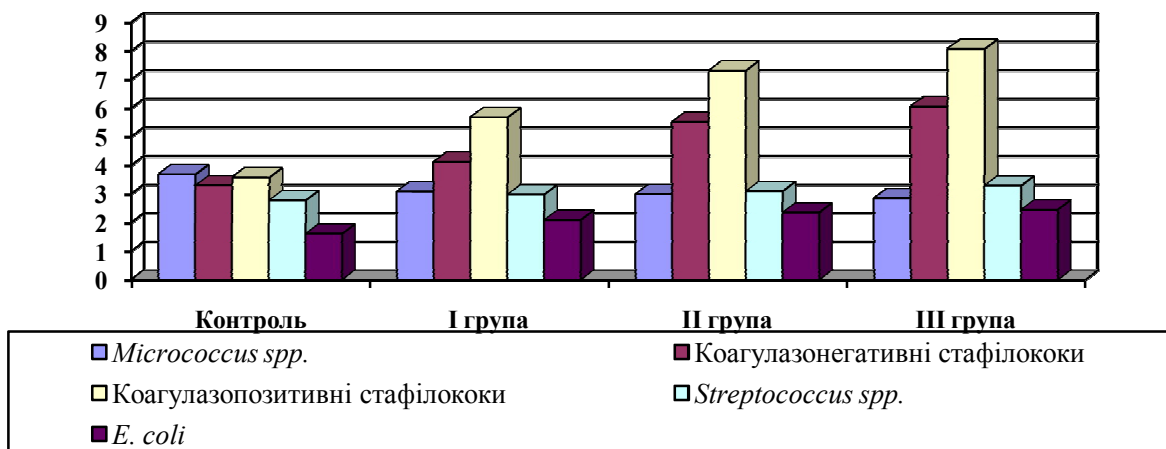


Рис. 2. Індекс адгезивності мікроорганізмів домінуючих мікроорганізмів, виділених із зубних відкладень собак, за ХКГ

У собак І групи (легка ступінь ХКГ) ІАМ із зубних відкладень зріс порівняно із здоровими тваринами і лише у *Micrococcus* spp. знизився на 16,26 %. Схожі зміни встановлено і у собак ІІ (середня ступінь ХКГ) та ІІІ (важка ступінь ХКГ) груп.

Такі зміни адгезивної активності домінуючих представників мікробіоценозів зубної бляшки можуть свідчити в певній мірі про дисбаланс у мікробній екосистемі, який наростає зі збільшенням ступеня тяжкості хвороби.

Висновки

1. За ХКГ у собак встановлено вірогідне наростання порівняно із інтактними тваринами у зубних бляшках собак середнього показника адгезії *E. coli* і *Streptococcus* spp. за важкого ступеня хвороби ($p < 0,05$), коагулазонегативних стафілококів за легкого ($p < 0,05$), середнього і важкого ($p < 0,001$) і коагулазопозитивних стафілококів за легкого і середнього ($p < 0,02$) та важкого ступеня хвороби ($p < 0,001$).

2. У собак з ХКГ порівняно із здоровими тваринами спостерігається достовірне ($p < 0,02$) зростання коефіцієнта участі еритроцитів у *Micrococcus* spp., незначне зростання у коагулазонегативних стафілококів і *E. coli*, і поступове зниження у *Streptococcus* spp.

3. У собак з ХКГ індекс адгезивності домінуючих форм мікроорганізмів, виділених із зубних відкладень, зріс порівняно із здоровими тваринами і лише у *Micrococcus* spp. знизився на 16,7 %.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть присвячені вивченню чутливості домінуючих форм мікроорганізмів за

важкого ступеня ХКГ у собак до хіміотерапевтичних препаратів.

1. Kuznik B. I., Tsyibikov N. N. Vzaimosvyaz of mezhdru immunogenezom i sistemoy gemostaza: edinaya sistema zaschityi organizma [of The of relationship between hemostatic system and immunogenesis single defense system]. *Uspehi sovremennoy biologii — Successes of modern biology*, 1981, T. 2 (5), № 92, S. 243–260 (in of Russian).

2. Buharin O. V. Infektsiya — modelnaya sistema assotsiativnogo simbioza [Infection — a model system of associative symbiosis]. *Zhurn. mikrobiologiya, epidemiologiya i immunobiologiya — Journal of microbiology, to epidemiology and immunobiology*, 2009, № 1, S. 83–86 (in Russian).

3. Hall-Stoodley L., Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol.*, 2009; 11 (7) : 1034–1043.

4. Krechina E. K., Kozlov V. I., Maslova V. V. Mikrotsirkulyatsiya v tkanyah desnyi parodonta [Microcirculation in the gingival tissues of periodontal]. M., GOETAR-Media, 2007. 80 s. (In Russian).

5. Parsek M. R., Greenberg E. P. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.*, 2005, vol. 13, № 1, P. 27–33.

6. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2003, № 2, P. 114–122.

7. Brilis V. I., Brilene T. A., Lentsner H. P., Lentsner A. A. Metodika izucheniya adgezivnogo protsessa mikroorganizmov [Method for studying the adhesive process of microorganisms]. *Lab. delo — Laboratory business*, 1986, № 4, S. 210–212 (in Russian).

8. Peleno R. A., Semanyuk V. I., Semanyuk N. V. ta in. Rezultaty of porivnyalnoho analizu vykorystannya erytrotytiv sobak i svyney dlya vyznachennya adhezyvnoyi aktyvnosti mikroorhanizmiv [of The of results of the comparative analysis of the use of red blood cells of dogs and pigs to determine the adhesive activity of microorganisms]. *Silskyi hospodar — Rural owner*, 2013, № 12, S. 12–15 (in Ukrainian).