

УДК 576.8:619:616.31:636.7

Семанюк Н.В., асистент ©

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

КІЛЬКІСНИЙ ТА ЯКІСНИЙ СКЛАД МЕЗОФІЛЬНИХ АЕРОБНИХ І ФАКУЛЬТАТИВНО АНАЕРОБНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ОСНОВНИХ БІОТОПІВ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ СОБАК ЗА ХРОНІЧНОГО КАТАРАЛЬНОГО ГІНГІВІТУ

Вивчено кількісний і видовий склад мезофільної аеробної і факультативно анаеробної мікрофлори ротової порожнини собак, хворих на хронічний катаральний гінгівіт.

Ключові слова: *собаки, колонізація, хронічний катаральний гінгівіт, мезофільні аеробні і факультативно анаеробні мікроорганізми*

Вступ. Відомо, що мікрофлора ротової порожнини відіграє важливу роль у збереженні здоров'я тварин. Вона підтримує на належному рівні місцеву імунну систему і забезпечує опір організму колонізації його алохтонними патогенними і потенційно патогенними мікроорганізмами [2]. За стійкого імунітету і задовільного загального стану тварин умовно патогенні мікроорганізми живуть у ротовій порожнині у відносному балансі. Вони виконують свої функції і не викликають розвитку запальних процесів. Однак, за патологічної колонізації ротової порожнини, як одного з провідних факторів розвитку у ній запальних процесів, виникає необхідність проведення постійного моніторингу за домінуючими колонізуючими агентами [1, 3]. Саме тому актуальним є вивчення якісного і кількісного складу мікрофлори ротової порожнини собак із захворюваннями ротової порожнини, зокрема за хронічного катарального гінгівіту.

Мета роботи. Вивчити особливості колонізації ротової порожнини собак, хворих на хронічний катаральний гінгівіт різної важкості мезофільними аеробними і факультативно анаеробними мікроорганізмами (МАФАНМ).

Матеріали та методи. Дослідження мікрофлори ротової порожнини проведено у 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 і III дослідну групу – з важким ступенем перебігу хронічного катарального гінгівіту. Виділення МАФАНМ проводили у атестованій та акредитованій бактеріологічній лабораторії Тернопільської регіональної державної лабораторії ветеринарної медицини. Дослідження родового та видового складу мікрофлори ротової порожнини собак проводили за наступною схемою: виділення чистої

культури і визначення її належності до кокових форм мікроорганізмів, грампозитивних паличок, грамнегативних паличок та коринібактерій методом мікроскопії. Грамнегативні палички розділяли цитохромоксидазним тестом (за Ковачем) до родини *Enterobacteriaceae* та роду *Acinetobacter* (цитохромоксидазний тест негативний). Ідентифікацію грамнегативних цитохромоксидазопозитивних паличок до родів та видів проводили згідно з дев'ятим виданням визначника бактерій Берджі. Кокову мікрофлору розділяли каталазним тестом до родини *Micrococcaceae* та *Streptococcaceae*. Родину *Micrococcaceae* розділяли на рід *Micrococcus* та *Staphylococcus* за властивістю ферментувати глюкозу. Родину *Streptococcaceae* розділяли на рід *Streptococcus* та *Enterococcus* за тестами Шермана та згідно з визначником бактерій Берджі. Виділення стафілококів і мікрококів проводили на МПА із кров'ю ВРХ (5%) і натрію хлориду (5%). Стрептококи на МПА із кров'ю ВРХ (5%) і глюкози (5%). Ентерококи на ентерококагарі. Бактерії групи кишкової палички (БГКП) на середовищі Ендо. Виділення *Pseudomonas aeruginosa* проводили на середовищі з 0,2% вмістом N-цетилпіридинію хлориду.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати дослідження нормальної колонізації мікроорганізмами порожнини рота та її порушень залежно від ступеня важкості ХКГ у собак наведено у табл. 1.

Таблиця 1

Кількість МАФАНМ у біотопах ротової порожнини собак залежно від ступеня важкості ХКГ, ($M \pm m$, $n = 10$)

Досліджуваний біотоп	Групи			
	Контрольна	Дослідні		
		I	II	III
ротова рідина, $\times 10^7$ КУО/мл	1,24 \pm 0,11	1,73 \pm 0,17	2,00 \pm 0,19**	2,62 \pm 0,23***
зубні відкладення, $\times 10^9$ КУО/г	1,12 \pm 0,10	1,52 \pm 0,11	1,88 \pm 0,17**	2,48 \pm 0,16***
зубоясенна борозна, $\times 10^4$ КУО/мл	2,54 \pm 0,18	3,44 \pm 0,21	3,66 \pm 0,29**	4,12 \pm 0,28***
слизова оболонка язика, $\times 10^5$ КУО/см ²	4,52 \pm 0,32	5,12 \pm 0,40	5,64 \pm 0,42	5,86 \pm 0,33**
слизова оболонка ясен, $\times 10^3$ КУО/см ²	1,80 \pm 0,11	2,14 \pm 0,15	2,52 \pm 0,18**	3,34 \pm 0,25***
слизова оболонка піднебіння, $\times 10^2$ КУО/см ²	2,28 \pm 0,14	2,34 \pm 0,19	2,65 \pm 0,16	2,77 \pm 0,20

Примітка: ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи: ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

Встановлено, що досліджувані біотопи порожнини рота собак за кількісним вмістом МАФАНМ розмістилися від більшого обсіювання до меншого у такому порядку: зубні відкладення – з вмістом бактерій 10^9 КУО/г, слизова оболонка язика – 10^5 КУО/см², зубоясенна борозна – 10^4 , слизова оболонка ясен – 10^3 КУО/см² і слизова оболонка піднебіння – з вмістом бактерій

10^2 КУО/см². Взаємозв'язок між усіма біотопами і організмом у цілому здійснюється ротовою рідиною, яка також є біотопом з вмістом бактерій 10^7 КУО/мл.

Із виникненням в яснах запального процесу кількість мікроорганізмів збільшується у всіх біотопах. При цьому спостерігається пряма залежність між важкістю ХКГ і кількістю МАФАНМ у біотопах, що свідчить про їх взаємозв'язок між собою. У зубних відкладеннях собак за легкого ступеня ХКГ кількість мікроорганізмів порівняно із контрольною групою збільшилась у 1,36 раза, за середнього ступеня – у 1,68 раза і за важкого – у 2,21 раза.

Кількість мікроорганізмів у зубних відкладеннях вплинула на мікробну колонізацію у зубоясенній борозні, де різниця між контрольною і дослідними групами за легкого ступеня ХКГ була більшою у 1,35 разів, середнього – у 1,44 і важкого ступеня хвороби – у 1,62 раза. На слизовій оболонці язика кількість мікроорганізмів за різної важкості ХКГ збільшилась відповідно у 1,13, 1,25 і 1,3 раза.

На слизовій оболонці запалених ясен собак кількість мікробів виявилася більшою порівняно із показником здорових тварин за легкого ступеня ХКГ у 1,19 раза, середнього – у 1,4 і важкого ступеня хвороби – у 1,86 раза.

Найменше збільшилась кількість мікроорганізмів за ХКГ на слизовій оболонці піднебіння. Так, різниця між контрольною і дослідними групами за легкого перебігу хвороби була більшою у 1,03 раза, за середнього – у 1,16 раза і за важкого ступеня – у 1,21 раза.

У ротовій рідині, яка є зв'язковою ланкою між біотопами ротової порожнини, кількість мікроорганізмів за вище вказаних форм перебігу хвороби збільшилась відповідно у 1,39 раза, 1,61 та у 2,11 раза.

Таким чином, встановлено, що важкість перебігу ХКГ у собак залежить від кількості МАФАНМ у основних біотопах ротової порожнини.

У результаті проведених мікробіологічних досліджень із зубних відкладень собак контрольної групи було ізольовано 168 штамів мікроорганізмів, за легкого ступеня ХКГ – 186, за середнього – 197 і за важкого ступеня – 190 штамів (табл. 2). Дослідження показали, що основну кількість у колонізації зубного нальоту у інтактних собак становлять кокові граммпозитивні форми, частка яких складає понад 82,1% від усіх виділених МАФАНМ, і у значно меншій кількості виявлялися паличкоподібні форми, такі як БГКП – 8,3%, *Corynebacterium* spp. – 6,6%, *Acinetobacter* spp. – 1,8% і *Pseudomonas aeruginosa* – 1,2%. За легкого перебігу ХКГ відмічено як зменшення (на 6,8%), так і перерозподіл кількості кокових форм мікроорганізмів і наростання числа грамнегативних бактерій. В основному зменшення кількості кокових форм відбувалося за рахунок *Micrococcus* spp. – на 4,3% і *Streptococcus* spp. – на 3,9%, на тлі збільшення на 1,4% кількості *Staphylococcus* spp. Кількість грамнегативних мікроорганізмів зростала за рахунок збільшення на 2,4% частки БГКП, на 0,9% *Corynebacterium* spp. і *Acinetobacter* spp. і на 2,6% *Pseudomonas aeruginosa*.

Таблиця 2

**Видовий склад МАФАНМ, ізолюваних із зубних відкладень
собак за ХКГ**

Ізолювані мікроорганізми	Групи							
	Контрольна (n=168)		Дослідні					
			I (n=186)		II (n=197)		III (n=190)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
БГКП	14	8,3	20	10,7	26	13,2	35	18,4
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	1,8	5	2,7	8	4,1	8	4,2
<i>Corynebacterium</i> spp.	11	6,6	14	7,5	17	8,6	16	8,4
<i>Enterococcus</i> spp.	8	4,8	9	4,8	12	6,1	14	7,4
<i>Micrococcus</i> spp.	37	22,0	33	17,7	28	14,2	22	11,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1,2	7	3,8	10	5,1	11	5,8
<i>Staphylococcus</i> spp.	14	8,3	18	9,7	23	11,7	28	14,7
<i>Streptococcus</i> spp.	79	47,0	80	43,1	73	37,0	56	29,5

За середнього ступеня важкості ХКГ у зубних відкладеннях собак відмічено ще більше зменшення загальної кількості грампозитивних бактерій і наростання числа грамнегативних мікроорганізмів.

Найбільш вагомими змінами кількості ізолюваних мікроорганізмів у зубному нальоті відносно контрольної групи встановлено за важкого ступеня ХКГ. Так, нами відмічено збільшення кількості БГКП на 10,1%, *Acinetobacter* spp. – на 2,4%, *Corynebacterium* spp. – на 1,8%, *Enterococcus* spp. – на 2,6%, *Pseudomonas aeruginosa* – на 4,6% і *Staphylococcus* spp. – на 6,4% і зменшення кількості *Micrococcus* spp. – на 10,4% і *Streptococcus* spp. – на 17,5%.

Схожі групи мікроорганізмів, які виділялися із зубного нальоту, були ізолювані і з ясенної борозни, проте на штамовому рівні їх кількість була меншою, що, ймовірно, пов'язано з природним захисним бар'єром останньої. Зокрема, у собак контрольній групі виділено 114 штамів, I-ої групи – 120, II-ої – 152 і III-ої групи – 146 штамів (табл. 3). Основними мікроорганізмами ясенної борозни собак контрольної групи були кокові грампозитивні форми, які становили понад 89,4% від усіх виділених МАФАНМ, і грамнегативні паличкоподібні форми, частка яких становила 10,6%. За ХКГ відбувається зменшення порівняно із здоровими собаками кількості *Streptococcus* spp. і *Micrococcus* spp. та збільшення кількості грамнегативних бактерій. За легкого ступеня ХКГ це зменшення становило відповідно 8,6 і 3,5%, за середнього – 17,6 і 5,9% і за важкого ступеня – 25,6 і 8,7%. Збільшення кількості грамнегативних бактерій залежало від ступеня важкості ХКГ і досягало найвищих різниць відносно здорових собак за важкого ступеня ХКГ. Так, кількість БГКП збільшилась на 11,8%, *Acinetobacter* spp. – на 4,8%, *Corynebacterium* spp. – на 3,6% і *Pseudomonas aeruginosa* – на 6,2%. Разом із грамнегативними бактеріями за важкого ступеня ХКГ збільшилась на 4%

кількість *Enterococcus* spp. і на 3,9% *Staphylococcus* spp., які належать до грампозитивних мікроорганізмів.

Таблиця 3

Видовий склад МАФАНМ, ізолюваних із ясенної борозни собак за ХКГ

Ізолювані мікроорганізми	Групи							
	Контрольна (n=114)		Дослідні					
			I група (n=120)		II група (n=152)		III група (n=146)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
БГКП	6	5,3	10	8,3	19	12,5	25	17,1
<i>Acinetobacter</i> spp.	0	0	3	2,5	7	4,6	7	4,8
<i>Corynebacterium</i> spp.	6	5,3	9	7,5	13	8,6	13	8,9
<i>Enterococcus</i> spp.	4	3,5	6	5,0	10	6,6	11	7,5
<i>Micrococcus</i> spp.	24	21,0	21	17,5	23	15,1	18	12,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	4	3,3	8	5,3	9	6,2
<i>Staphylococcus</i> spp.	12	10,5	12	10,0	16	10,5	21	14,4
<i>Streptococcus</i> spp.	62	54,4	55	45,8	56	36,8	42	28,8

Таким чином, одержані дані переконливо показують, що ясенна борозна здорових собак віком 5,0-6,0 років і вагою 10-30 кг є біотопом для *Streptococcus* spp. і *Micrococcus* spp., через що вони не викликають запальних процесів у яснах. За хронічного катарального гінгівіту у біотопі виявляли БГКП, *Acinetobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp. і *Staphylococcus* spp.

Видовий склад МАФАНМ, ізолюваних із ротової рідини собак за ХКГ (табл. 4), показав, що пейзаж цього біотопу містив більше розмаїття штамів мікроорганізмів, ніж зубний наліт і ясенна борозна. З неї було ізолювано від собак контрольної групи 226 штамів, собак з легким ступенем ХКГ – 265, середнім – 257 і важким ступенем хвороби – 250 штамів мікроорганізмів. Із виділених з ротової рідини штамів мікроорганізмів, крім тих, які були ізолювані із зубних відкладань і ясенної борозни собак (БГКП, *Acinetobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp. і *Streptococcus* spp.), виділялися також *Proteus* spp. і *Pasteurella multocida*. При цьому, *Proteus* spp. було виділено як від здорових собак, так і хворих на ХКГ, а *Pasteurella multocida* була ізолювана лише за середнього і важкого перебігу ХКГ.

Таблиця 4

Видовий склад МАФАНМ ізольованих із ротової рідини собак за ХКГ

Ізольовані мікроорганізмів	Групи							
	Контроль (n=226)		І група (n=265)		ІІ група (n=257)		ІІІ група (n=250)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
БГКП	27	11,9	37	14,0	42	16,3	46	18,4
<i>Acinetobacter</i> spp.	5	2,2	8	3,0	10	3,8	15	6,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	14	6,2	17	6,4	18	7,0	21	8,4
<i>Enterococcus</i> spp.	11	4,9	12	4,5	10	3,9	13	5,2
<i>Micrococcus</i> spp.	50	22,1	36	13,6	33	12,8	16	6,4
<i>Pasteurella multocida</i>	0	0	0	0	1	0,4	2	0,8
<i>Proteus</i> spp.	2	0,9	9	3,4	8	3,1	8	3,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	0,9	12	4,5	10	3,9	12	4,7
<i>Staphylococcus</i> spp.	18	7,9	39	14,7	39	15,2	49	19,5
<i>Streptococcus</i> spp.	113	50,0	95	35,9	86	33,6	68	27,2

Отже, збільшення у ротовій рідині собак за ХКГ БГКП на 6,5%, *Acinetobacter* spp. – на 3,8%, *Corynebacterium* spp. – на 2,2%, *Proteus* spp. – на 2,3%, *Pseudomonas aeruginosa*– на 3,8% і *Staphylococcus* spp. – на 11,6% свідчить про погіршення екології ротової порожнини, а сама рідина є резервуаром потенційно патогенних бактерій.

Висновки.

1. Ротова порожнина здорових собак віком 5-6 років і вагою 10-30 кг є біотопом в основному для *Streptococcus* spp. і *Micrococcus* spp. і меншою мірою для *Staphylococcus* spp.

2. Хронічний катаральний гінгівіт характеризується збільшенням мікробного числа в основних біотопах ротової порожнини.

3. За хронічного катарального гінгівіту у зубних відкладеннях і ясенній борозні собак зменшується вміст *Streptococcus* spp. і *Micrococcus* spp. і збільшується кількість БГКП, *Acinetobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp. і *Staphylococcus* spp., а у ротовій рідині ще й *Proteus* spp. і *Pasteurella multocida*, що вказує на дисбактеріоз ротової порожнини.

Література

1. Бондаренко В.М. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры / В. М. Бондаренко, В. Г. Петровская // Вестник РАМН, 1997.-№3.-С. 7-10.

2. Готьє О. Бактериємія, що виникає при обробці ротової порожнини і ліченні зубів (клінічне дослідження у собак) / О. Готьє, А. Баро, А. Наварро, Ж. Л. Пеллера // Ветеринар. – 2005. – №4. – С. 27-36.

3. Paster V. J. Bacterial diversity in human subgingival plaque / V. J. Paster, S. K. Bosches, J. L. Galvin et al. // - J. Bacteriol. – 2001; 183: 3770-3783.

Summary

Semaniuk N.V.

*Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named after
S.Z. Gzhytskyj*

**QUANTITATIVE AND QUALITATIVE CONTENT OF MESOFIL AEROBIC
AND FACULTATIVELY ANAEROBIC MICROORGANISMS OF GENERAL
BIOTOPES OF ORAL CAVITY OF DOGS WITH CHRONICAL CATARAL
GINGIVITIS**

*It was studied quantitative and specific content of mesofil aerobic and
facultatively anaerobic microflora of dogs oral cavity with have chronical catarrhal
gingivitis.*

Рецензент – к.вет.н., доцент Олексюк І.І.