

УДК 576.8:619:616.31:636.7

Семанюк Н.В., асистент ©

Хомин Н.М., д. вет. н., професор,

Семанюк В.І., к. б. н., доцент

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

КІЛЬКІСНИЙ І 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 мікробіоти ротової порожнини собак, хворих на хронічний катаральний гінгівіт. Встановлено, що 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.*

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 собак колонізації його алохтонними патогенними і потенційно патогенними мікроорганізмами [1, 3]. 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 [4].

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 [2, 5]. 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 мікробіоти 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, І-шу дослідну – з легким ступенем хронічного катарального гінгівіту, II-гу – з

середнім і III-тю 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 коринебактерій 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 дев'ятого видання 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 визначника 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%). Молочнокислі стрептококи та лактобактерії на середовищі MRS і на середовищі з гідролізованим молоком. 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. 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 разів, за середнього ступеня – у 1,68 разів і за важкого – у 2,21 рази.

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 рази. На слизовій оболонці язика кількість мікроорганізмів за різної важкості ХКГ збільшилась відповідно у 1,13, 1,25 і 1,3 рази.

Таблиця 1

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

Досліджуваний біотоп	Групи			
	Контрольна	Дослідні		
		I	II	III
ротова рідина, x10 ⁷ КУО/мл	1,24±0,11	1,73±0,17	2,00±0,19**	2,62±0,23***
зубні відкладення, x10 ⁹ КУО/г	1,12±0,10	1,52±0,11	1,88±0,17**	2,48±0,16***
зубоясенна борозна, x10 ⁴ КУО/мл	2,54±0,18	3,44±0,21	3,66±0,29**	4,12±0,28***
слизова оболонка язика, x10 ⁹ КУО/см ²	4,52±0,32	5,12±0,40	5,64±0,42	5,86±0,33**
слизова оболонка ясен, x10 ³ КУО/см ²	1,80±0,11	2,14±0,15	2,52±0,18**	3,34±0,25***
слизова оболонка піднебіння, x10 ² КУО/см ²	2,28±0,14	2,34±0,19	2,65±0,16	2,77±0,20

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

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

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 рази, за середнього – у 1,16 разів і за важкого ступеня – у 1,21 рази.

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 рази, 1,61 та у 2,11 разів.

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, на долю яких припадає 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)
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 вагомі зміни 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, на долю яких припало 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.

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.

Таблиця 3

Видовий склад МАФАНМ, ізольованих із ясенної борозни собак за ХКГ, %

Ізольовані мікроорганізми	Групи			
	Контрольна (n=114)	Дослідні		
		I група (n=120)	II група (n=152)	III група (n=146)
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)

Видовий склад МАФАНМ, ізольованих 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 ізольовано від собак контрольної групи 226 штамів, собак з легким ступенем ХКГ – 265, середнім – 257 і важким ступенем хвороби – 250 штамів мікроорганізмів.

Таблиця 4

Видовий склад МАФАНМ ізольованих із ротової рідини собак за ХКГ, %

Ізольовані мікроорганізми	Групи			
	Контроль (n=226)	I група (n=265)	II група (n=257)	III група (n=250)
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)

Із виділених з ротової рідини штамів мікроорганізмів, крім тих, які були ізольовані 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 ізольована лише за середнього і важкого перебігу ХКГ.

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 в меншій мірі 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. Борисов Л.В. Микробиология и иммунология стоматологических заболеваний // Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник / Л.Б. Борисов, А.М. Смирнова, И.С. Фрейдлин и др.; Под ред. Л.Б. Борисова, А.И. Смирновой. — М.: Медицина, 1994. -С. 496–522.

2. Григорьян А.С. Роль и место феномена повреждения в патогенезе заболеваний пародонта // Стоматология, -1999. -№ 1. -С. 16-20.

3. Лемецкая Т. И. Заболевания тканей пародонта / Справочник по стоматологии / Под ред. В.М. Безрукова. - М.: Медицина, 1998. -С. 109-134.

4. Шмидт Д.В. Состояние местного иммунитета у больных хроническим генерализованным пародонтитом / Шмидт Д.В., Шмагель К.В., Мозговая Л.А., Беляева О.В. -Стоматология -2008;4:- С.33-38.

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

Summary

N.V. Semaniuk, N.M. Khomyn, V.I. Semaniuk

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE COMPOSITION OF MESOPHILIC AEROBIC AND FACULTATIVE ANAEROBIC MICROORGANISMS MAIN HABITAT OF THE ORAL CAVITY OF DOGS BY CHRONIC CATARRHAL GINGIVITIS

*Studied the number and species composition of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microbiota of the oral cavity of dogs who suffer from chronic catarrhal gingivitis to develop a treatment strategy. Found that for chronic catarrhal gingivitis in dental plaque and gingival sulcus of dogs content decreases *Streptococcus* spp. and *Micrococcus* spp. and the number BECG, *Acinetobacter* spp., *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp. and *Staphylococcus* spp., and in oral fluid also *Proteus* spp. and *Pasteurella multocida*, indicating the overgrowth of the oral cavity.*

Рецензент – д.вет.н., професор Слівінська Л.Г.