

MICROFLORA OF THE ORAL CAVITY WITH PERIODONTITIS IN DOGS AND ITS SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS

L. Chuprun¹

¹Zhytomyr National Agroecological University, Zhytomyr, Ukraine

E-mail: lydmilagudimenko85@gmail.com

In recent years, the population of small animals significantly increasing not only in cities but also in rural areas. In urban environments, when the dogs kept in apartments, their type of feeding change, the diet do not balance, minor attention is paid to cleaning of the oral cavity and the rules of selection and breeding does not adhere, different diseases of teeth-jaw system appear. In the case of the development and course of inflammatory periodontal diseases functional possibility of teeth-jaw system are reduced and other somatic pathological processes are induced in the body of dogs. Insufficient hygiene of the mouth the growth of normal microflora on the gums and tooth enamel increases, but bacteria, which by reducing the resistance of the organism can cause inflammation, also increases.

A study of the microflora from the oral cavity was performed in dogs with clinical examination which periodontitis and tartar were found. The cultures were made on special and differential diagnostic medium (yolk-salt agar, Endo's agar and agar of Mueller-Hinton). Sensitivity to antibiotics in microbial material from the mouth of a sick dog we explored by the disk diffusion method (DDM) on the agar of Mueller-Hinton.

We used paper discs, impregnated by antibiotics of different pharmacological groups (oxacillin, cefoxitin, erythromycin, clindamycin, chloramphenicol, gentamicin, ciprofloxacin). These products are recommended for application by the European Committee for the definition of sensitivity to antimicrobial agents (EUCAST) to influence on Staphylococcus and Enterococcus. Ideology of EUCAST acknowledges the existence of differences between laboratory and clinical sensitivity of microorganisms, therefore, the diameters of zones of growth inhibition for specific combinations of microorganisms-antibiotic are determined by statistical methods through the work of European reference laboratories and permanently available on the website of EUCAST.

On Endo's agar we are received a small number of flat, dark crimson, medium size colonies that were attributed to Enterococcus after microscopy. On the yolk-salt agar and agar of Mueller-Hinton (AMH) isolated

microorganisms are of several types: small, rounded, convex, shiny, smooth white colonies, round, flat, smooth, shiny, yellowish colonies are medium in size; a considerable amount of pale yellow small colonies (ample touches produce on salt agar and film on the AMH). Microscopy of colonies, strokes and films from visum in different media (simple staining using of gencianviolet) identified not only coccal organisms in microbial material, but a significant amount of mold hyphae and single cells of the bacillus. Only 2 drug (clindamycin and chloramphenicol) among the 7 used antibiotics on the microbial association affected effectively, that is 29% of the applied.

To individual members of penicillins, cephalosporins and fluoroquinolones of first generation microbes selected isolate was resistant. Thus, the microbial film of oxacillin did not act at all, and ceftiofur and ciprofloxacin showed only a slight bacteriostatic effect

Cid action was typical for the aminoglycoside (gentamicin) and chloramphenicol. So, the zone of growth inhibition of *Staphylococcus* for chloramphenicol exceeded the normative values at 88%, erythromycin 42%, gentamicin – 22%, clindamycin – 9%.

So, analyzing the data obtained it can be concluded that the only 2 antibiotics (chloramphenicol and clindamycin) were bactericide and the use of these antibiotics is effective in the treatment of periodontitis in dogs.

Key words: dog, oral cavity, teeth, Tartar, antibiotic-sensitivity, microorganisms, inflammation.

МІКРОФЛОРА РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ПРИ ПАРОДОНТИТІ У СОБАК ТА ЇЇ ЧУТЛИВІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ

Л. О. Чупрун¹,

¹Житомирський національний агрокологічний університет, Житомир, Україна
E-mail: lydmilagudimenko85@gmail.com

За останні роки значно зростає популяція дрібних тварин не лише в містах, але і в сільській місцевості. В умовах міст, коли собак утримують у квартирах, змінюють їх тип годівлі, не збалансовують раціон, незначну увагу приділяють очистці ротової порожнини та не дотримуються правил селекційного відбору і виникають різні захворювання зубощелепової системи. За недостатньої гігієни ротової порожнини на яснах та емалі зубів збільшується ріст не тільки нормальної мікрофлори, але і бактерій, які за зниження резистентності організму можуть викликати запальні процеси [1-7].

Ключові слова: собака, ротова порожнина, зуби, зубний камінь, антибіотикочутливість, мікроорганізми, запалення.

Вступ

За останні роки значно зростає популяція дрібних тварин не лише в містах, але і в сільській місцевості. В умовах міст, коли собак утримують у квартирах, змінюють їх тип годівлі, не збалансовують раціон, незначну увагу приділяють очистці ротової порожнини та не дотримуються правил селекційного відбору і виникають різні захворювання зубощелепової системи [2-5]. У разі розвитку й перебігу запальних хвороб пародонта знижуються функціональні можливості зубощелепової системи й індукуються інші соматичні патологічні процеси в організмі у собак. За недостатньої гігієни ротової порожнини на яснах та емалі зубів збільшується ріст не тільки нормальної мікрофлори, але і бактерій, які за зниження резистентності організму можуть викликати запальні процеси [1-7].

Завдання дослідження. Визначити мікрофлору ротової порожнини у собак за пародонтиту та з'ясувати її антибіотикочутливість.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження мікрофлори з ротової порожнини проводили у собак при клінічному огляді яких було встановлено, пародонтит та зубний камінь. Для вивчення складу мікробної асоціації ротової порожнини хворих собак ми відбирали мікробний матеріал (стерильними ватними тампонами у стерильні пробірки) і дослідження проводили в лабораторії факультету ветеринарної медицини ЖНАЕУ.

Висіви робили на спеціальні та диференційно-діагностичні середовища (жовтково-сольовий агар, агар Ендо та агар Мюлер-Хінтона).

Поєднання культуральних ознак колоній та штрихів з їх мікроскопічним дослідженням дозволяли віднести вирощені ізоляти до певних родів. Чутливість до антибіотиків в мікробному матеріалі із ротової порожнини хворої собаки досліджували диско-дифузійним методом (ДДМ) на агарі Мюлер-Хінтона. При проведенні ДДМ розмір зон пригнічення росту мікробів навкруги диску відображає ступінь впливу того чи іншого антибіотика.

Використовували паперові диски, просочені антибіотиками різних фармакологічних груп (оксацилін, цефокситин, еритроміцин, кліндаміцин, хлорамфенікол, гентаміцин, цiproфлоксацин). Саме ці препарати рекомендовані до застосування Європейським комітетом, щодо визначення чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST) для впливу на стафіло- та ентерококи.

Результати та їх обговорення

Науковцями було з'ясовано, що собак та їхніх господарів об'єднує не тільки емоційний зв'язок, але й спільні бактерії. Автори роботи [] вивчили бактеріологічне обмінення ротової порожнини, фекалій та шкіри як домашніх вихованців, так і їх власників. Мікробіологи з'ясували, що інтенсивність обміну бактеріями між членами сім'ї з собаками зростала в порівнянні з сім'ями, де собак не було, а у власників собак найбільш багата за своїм видовим складом мікробна асоціація, яка розвивається на шкірі рук та обличчі. Однак, у випадку з мікрофлорою кишечника і ротової порожнини такого обміну не відбувається, відзначають дослідники.

На агарі Ендо отримали невелику кількість плоских, темно-малинових, середньої величини колоній, які після мікроскопії були віднесені до

ентерококів (рис. 1). На жовтково-сольовому агарі та агарі Мюлер-Хінтона (АМХ) виділяли мікроорганізми декількох видів:

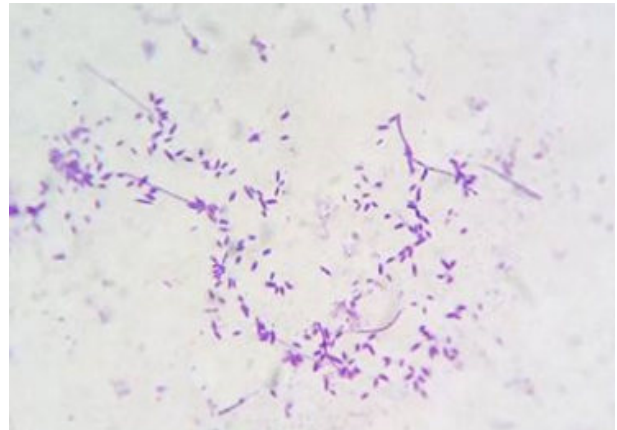


Рис. 1. Колонії на агарі Ендо (а) та вигляд мікробів культури в мікроскопічному препараті (б)

- дрібні, округлі, опуклі, блискучі, гладенькі колонії білого кольору;
- круглі, плоскі, гладенькі, блискучі жовтуваті колонії середнього розміру;
- значну кількість блідо-жовтих дрібних колоній (утворюють рясні штрихи на сольовому агарі та плівку на АМХ).

Мікроскопія колоній, штрихів та плівки із висівів на різних середовищах (просте фарбування з використанням генціанвіолету) дозволила виявити в мікробному матеріалі не лише кокові мікроорганізми, але й значну кількість гіфів

мікроскопічних грибів та поодинокі клітини бацил (рис. 2).

Належність мікробів білих та жовтих колоній до патогенних представників роду *Staphylococcus* було підтверджено біохімічними дослідженнями:

- позитивна реакція плазмокоагуляції.

Мікробну коагулазу виявляли шляхом внесення культури у пробірку з цитратною плазмою кролика (жовта культура – представники виду *S. aureus*).

- ферментація середовища з манітом.

Через певний час після висіву культур (уколом) у верхній частині пробірки середовище набуло синього кольору.

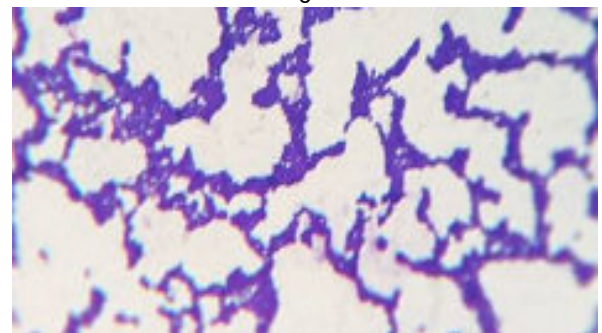
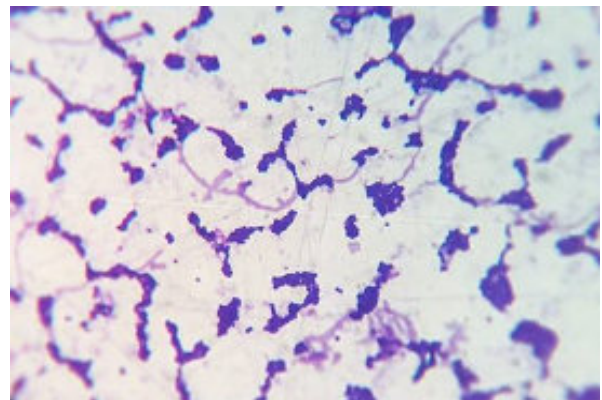


Рис. 2. Колонії стафілококів на АМХ (а, в) та вигляд мікробів із в мікроскопічних препаратах (б, г).

Чутливість до антибіотиків в мікробному матеріалі із ротової порожнини хворих собак досліджували диско-дифузійним методом (ДДМ) на агарі Мюлер-Хінтона (рис. 3). При проведенні ДДМ розмір зон пригнічення росту мікробів навкруги диску відображає ступінь впливу того чи іншого антибіотика (табл. 1).

Використовували паперові диски, просочені антибіотиками різних фармакологічних груп (оксацилін, цефокситин, еритроміцин, кліндаміцин, хлорамфенікол, гентаміцин, ципрофлоксацин). Саме ці препарати

рекомендовані до застосування Європейським комітетом, щодо визначення чутливості до антимікробних препаратів (EUCAST) для впливу на стафіло- та ентерококи. Ідеологія EUCAST визнає факт існування різниці між лабораторною та клінічною чутливістю мікроорганізмів, тому діаметри зон пригнічення росту для конкретних комбінацій мікроорганізм-антибіотик визначаються статистичними методами завдяки роботі референтних європейських лабораторій і постійно доступні на веб-сайті EUCAST.

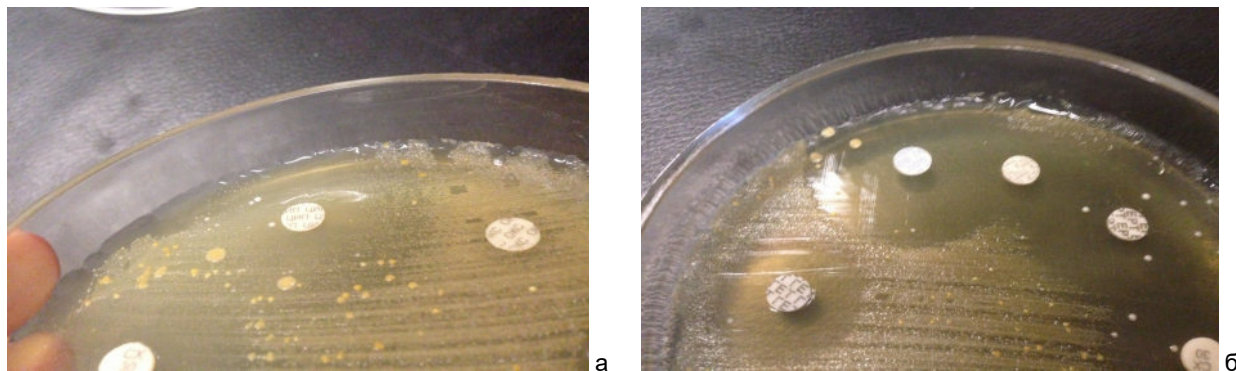


Рис. 3. Антибіотики з цидною (а) та статичною (б) дією по відношенню до мікроорганізмів зразка.

Плівка, вирощена в ДДМ на агарі Мюлер-Хінтона, містила максимальну кількість ентерококів, значну кількість клітин *S. aureus* та мінімальну – стафілококів іншого виду. Мікроскопія плівки довела, що в ній також знаходились окремі паличковидні бактерії великого розміру та гіфи грибів (рис. 4). Але їх кількість була незначною в порівнянні із кулястими бактеріями, тому індивідуальних колоній вони не утворювали.

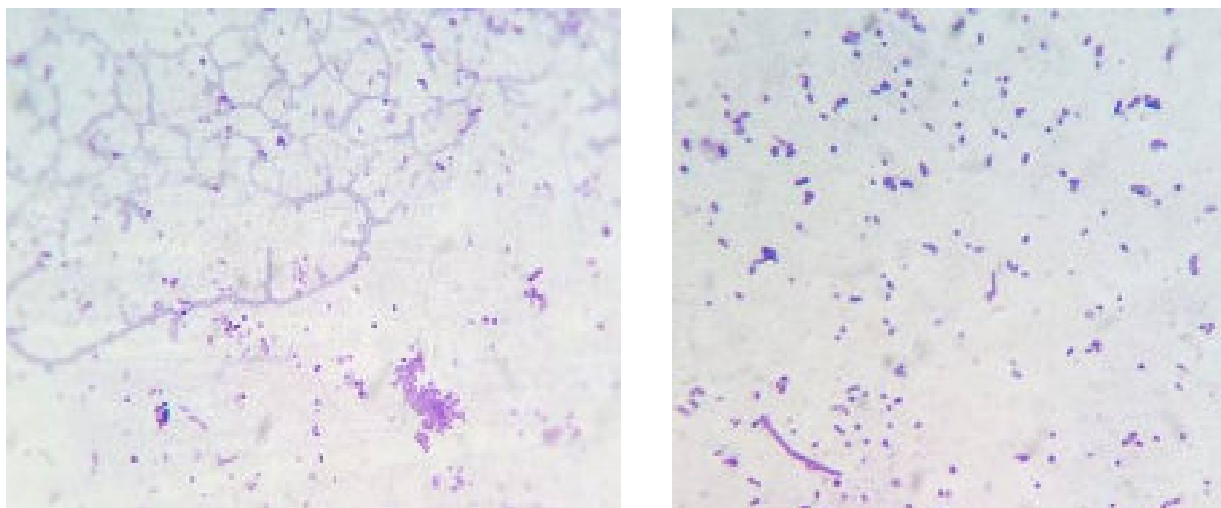


Рис. 4. Коки, паличковидна бактерія та гіфи грибів в мікроскопічних препаратах, зроблених із матеріалу плівки в диско-дифузійному методі.

Таблиця 1

Антибіотикочутливість кулястих бактерій з ротової порожнини собаки

№ п/п	Антибіотики	Мікроби, наявні в зразках	Д зони затримки росту в досліді (мм)	
			хвора собака	норматив. Д зони затримки
1	Оксацилін	стафілококи	0	≥ 18
2	Цефокситин		(20±2)	≥ 25
3	Еритроміцин		(30±2) ентерококи (14±2) білі стафілококи	≥ 21
4	Кліндаміцин		(24±1) 2 культури стафілококів	≥ 22
5	Хлорамфенікол		(34±3) ентерококи (28 ±2) жовті стафілококи	≥ 18

6	Гентаміцин	стафіло-, ентерококи	(22±1) ентерококи (16±1) білі стафілококи	≥ 8 ≥ 18
7	Ципрофлоксацин		(17±2) ентерококи (12±1) білі стафілококи	≥ 12 ≥ 20

Серед 7-ми використаних антибіотиків на мікробну асоціацію ефективно діяли лише 2 препарати (кліндаміцин та хлорамфенікол), тобто 29 % від застосованих.

До окремих представники пеніцилінів, цефалоспоринів та фторхінолонів першого покоління мікроби виділеного ізоляту були резистентними. При цьому, на мікробну плівку оксацилін не діяв взагалі, а цефокситин та ципрофлоксацин виявляли лише незначну бактеріостатичну дію.

Цидна дія була характерна для представників аміноглікозидів (гентаміцин) та хлорамфеніколу. Так, зона пригнічення росту стафілококів для хлорамфеніколу перевищувала нормативні значення на 88%, для еритроміцину – на 42%, для гентаміцину – на 22%, для кліндаміцину – на 9%.

Як відомо з літературних даних [1-70] чутливості до антибіотиків, то понад 70% штамів бактерій, виділених у хірургічних хворих, резистентні принаймні до одного антибіотика, а третина стійкі до всіх чи майже всіх препаратів. Високий рівень – мультирезистентності демонструють *S. aureus* (31,4%), *E. faecalis* (37,5%), *E. coli* (34,9%), *Enterobacter spp.* (47,3%), *P. aeruginosa* (67,8%). До лінкозамідів нечутливі 41% штамів збудників післяопераційних інфекцій, до тетрациклінів – 40,4%, макролідів – 39,4%, хлорамфеніколу – 35,4%, бета-лактамів – 34,5%, рифампіцину – 32,8%, аміноглікозидів – 31,5%, фторхінолонів – 24,2%, глікопептидів – 21,2%, лінезоліду – 11,3%. Отже, вибір антибіотика для лікування післяопераційних інфекцій є доволі складним завданням.

Такий антибіотик, як оксацилін взагалі не діяв на мікроби тому його застосування не дасть жодних позитивних результатів для лікування тварин з пародонтитом. Ципрофлоксацин статично діяв на виділені мікроорганізми, що характеризувалося затримкою росту і розмноженням бактерій, тобто спричинював бактеріостаз. Порівняно з бактерицидною дією загибелі бактерій при цьому не спостерігається. Бактеріостатичний ефект пов'язують із певним механізмом дії на бактеріальну клітину, що супроводжується зворотними змінами у структурі та обміні речовин і енергії бактеріальної клітини. Тобто, то застосування даного антибіотика також не є ефективним при лікуванні захворювань пародонту.

Отже, аналізуючи отримані нами данні можна зробити висновок, що бактеріоцидно діяли лише 2 антибіотика (хлорамфенікол та кліндаміцин) і застосування даних антибіотиків є ефективним під час лікування пародонтиту у собак.

Висновок

Серед 7-ми використаних антибіотиків на мікробну асоціацію ефективно діяли лише 2 препарати (кліндаміцин та хлорамфенікол), тобто 29 % від застосованих. До окремих представники пеніцилінів, цефалоспоринів та фторхінолонів першого покоління мікроби виділеного ізоляту були резистентними. При цьому, на мікробну плівку оксацилін не діяв взагалі, а цефокситин та ципрофлоксацин виявляли лише незначну бактеріостатичну дію.

References

1. Ільніцький М. Г. Поширеність хвороб пародонта у собак / М. Г. Ільніцький, Д. В. Арсеєнко // Вісник Білоцерківського держ. аграрного університету. – Біла Церква, 2006. – Вип. 41. – С. 55–61.
2. Киричко Б. П. Біохімічні показники крові та ротової рідини за лікування хронічного генералізованого пародонту у свійських котів / Б. П. Киричко, Т. В. Звенігорська / Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2013. - № 4. – С. 81–84.
1. Гавора Є. Сучасна класифікація захворювань ротової порожнини у собак / Є. Гавора // Ветеринарна практика. – 2014. – № 12 (98). – С. 8–12.
3. Портянко Т. В. Хвороби пародонту в котів / Т. В. Портянко // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2011. – № 2. – С. 191–194.
4. Петренко О. Ф. До питання про хвороби зубів у собак і котів / О. Ф. Петренко // Ветеринарна медицина України. – 1998. – №10. – С. 16–18.
5. Стоматология собак / [В. В. Фролов, О. В. Бейдик, А. А. Волков и др.] ; за редакцией В. В. Фролова. – Москва : Аквариум, 2006. – 209 с.
6. Васильева М. Б. Воспалительные заболевания пародонта у собак : дис. ... канд. вет. наук : 16.00.05 / М. Б. Васильева. – Санкт-Петербург, 2009. – С. 71-101.