

УДК 579. 62 + 599.537:616.2

**МНОГОЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА ОБЩЕГО СОСТАВА И ОТДЕЛЬНЫХ
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОБНЫХ ЦЕНОЗОВ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ
ПУТЕЙ ДЕЛЬФИНОВ АФАЛИН (*TURSIOPS TRUNCATUS*),
СОДЕРЖАЩИХСЯ В СЕВАСТОПОЛЬСКОМ ОКЕАНАРИУМЕ**

Андреева Н.А.

*НИИ “Государственный Океанариум”, Севастополь, Украина
E-mail: nataliy-andreev@yandex.ru*

Приведены результаты исследования многолетней динамики состава микробных ценозов верхних дыхательных путей дельфинов, обитающих в Океанариуме. Выявлено изменение состава и доминирующих форм микроорганизмов в течение 9 лет. Определен видовой и количественный состав микробных ассоциаций, наиболее часто встречающихся в респираторном тракте дельфинов исследуемой популяции. Высказывается предположение о периодичности появления и исчезновения отдельных представителей в респираторной микрофлоре адаптированных животных. Рассмотрены значение и встречаемость в микрофлоре респираторного тракта дельфинов представителей родов *Staphylococcus* и *Proteus*.

Ключевые слова: микробные ценозы, многолетняя динамика, верхние дыхательные пути, дельфин афалина.

ВВЕДЕНИЕ

Микрофлора макроорганизма и среды его обитания представляет собой единую экологическую систему, характеристики которой могут меняться в зависимости от многих условий. Микробные ценозы формируются в течение всей жизни особи и являются относительно устойчивыми по видовому составу. Многие виды микробов не приживаются в организме надолго, так как не находят нужных для них условий питания, или встречаются с защитными системами макроорганизма и антагонистическим действием микробов других видов. При наличии динамического равновесия в экологической системе "макроорганизм–микроорганизмы" формируется аутофлора различных систем органов.

Установлено, что у дельфинов, как и у других животных, бактериальные ассоциации обладают приоритетной тропностью к респираторному тракту. Поэтому бактериальный статус дыхательных путей животных, связанный с экологическими факторами среды обитания, может являться одним из показателей их здоровья. В носовых ходах и носоглотке большинства животных обнаруживаются коринеформные бактерии, стафилококки (*S.epidermidis*), нейсерии, гемофильные бактерии, стрептококки, стафилококки, энтеробактерии, грибы, лактобактерии, псевдомонады и др. [1]. В составе микрофлоры дельфинов обычно встречаются те

же микроорганизмы, что и в окружающей среде. Однако, такие виды бактерий, как *Staphylococcus epidermidis*, *S.aureus* и *Proteus mirabilis*, являющиеся обычными представителями микробных ценозов дыхательного тракта дельфинов, в воде практически отсутствуют.

Как свидетельствуют литературные данные [2, 3], уровень микробного обсеменения и таксономическое разнообразие микрофлоры верхних дыхательных путей диких дельфинов невелики по сравнению с наземными млекопитающими и человеком. У 20 недавно отловленных дельфинов в микрофлоре, ассоциированной с дыхалом, наиболее встречаемым микроорганизмом был коагулазоположительный *Staphylococcus* (60%), кроме того встречались: α – *Streptococcus* (2,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (5%), *Pseudomonas putrifaciens* (5%), *Corynebacteria* (2,5%) и *Candida sp.* (47%). Было также показано [2], что состав микрофлоры дельфинов находится в прямой зависимости от сезона года. По предположению авторов, это может быть обусловлено годичными циклами микрофлоры окружающей среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований являлась микрофлора верхних дыхательных путей дельфинов-афалин (*Tursiops truncatus*), обитающих в условиях Океанариума.

Посев проб выдыхаемого воздуха производился на твердые питательные среды: мясопептонный агар (МПА), желточно-солевой агар (среда Чистовича), кровяной агар и среду Плоскирева в трехкратной повторности.

При отборе проб дыхало фиксированного над водой животного после первых трех дыхательных актов (удалялась влага) обтирали стерильным ватным тампоном; на расстоянии 10 см от дыхала, перпендикулярно направлению струи воздуха размещали чашку Петри с соответствующей средой; после улавливания одного выдоха чашку закрывали. В качестве контроля открывали чашку со средой, но не подносили ее к дыхалу.

Посевы инкубировали при 37°C 24 часа, затем производили первичный учет результатов. На МПА определяли общее микробное число. Из каждого вида колоний делали мазки, окрашивали по Граму, микроскопировали, а также выделяли новые штаммы в культуру для более детальных исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В течение девяти лет с 1997 по 2007 год в Севастопольском океанариуме проводились исследования микрофлоры верхних дыхательных путей дельфинов, содержащихся в прибрежных вольерах. Определение состава микрофлоры обычно было приурочено к проведению весенней (апрель – май) или осенней (октябрь) диспансеризаций, кроме того исследования проводилось по ветеринарным показаниям в течение всего года. У исследованных особей нами не выявлено сезонных колебаний состава респираторной микрофлоры. Возможно, этот факт имеет место у диких животных, обитающих в естественных условиях. В полуискусственных экосистемах, каковыми являются прибрежные вольеры, на

микрофлору дельфина (в том числе и респираторную) могут влиять дополнительные факторы, изменяющие первоначальную картину.

Помимо сезонных колебаний микрофлора окружающей среды и животных может претерпевать значительные изменения в течение более длительного времени.

За период исследования в респираторной микрофлоре популяции дельфинов, обитающих в Севастопольском океанариуме, выявлено 14 систематических единиц микроорганизмов. Обычными были представители рода *Pseudomonas*, 2 вида стафилококков (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*), а также микроорганизмы из семейства *Enterobacteriaceae* (*Proteus mirabilis* и *Escherichia coli*). Кроме того, часто обнаруживались *Streptococcus*, коринеформные бактерии, актиномицеты, дрожжи и неидентифицированные Гр⁻ палочки. Отдельные представители микроорганизмов, населяющих верхние дыхательные пути дельфинов представлены на Рис. 1.

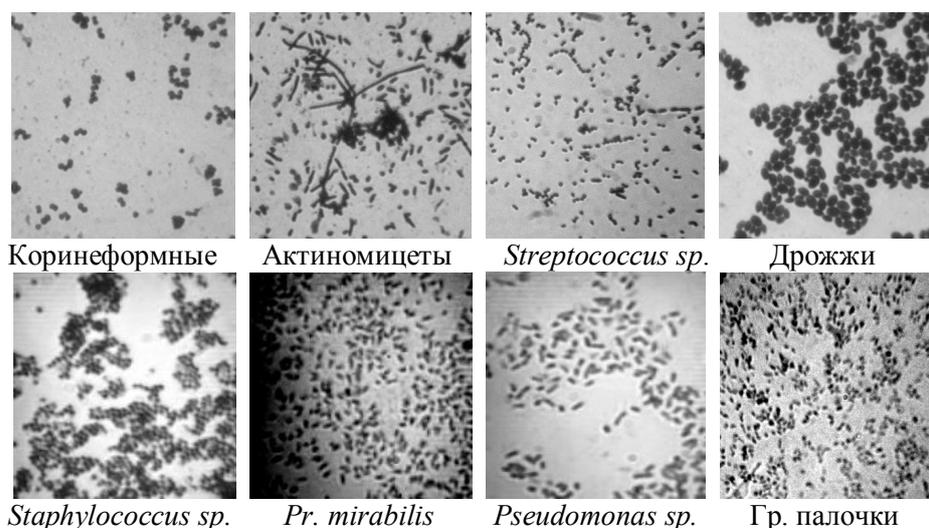


Рис.1. Представители микрофлоры респираторного тракта дельфинов, обитающих в океанариуме.

Встречаемость тех или иных групп микроорганизмов в популяции дельфинов представлена в Табл. 1.

Как видно из Таблицы, за весь период исследования наиболее часто в респираторном тракте дельфинов встречались стафилококки (39,5%), а также *Pseudomonas sp.* (38,5%), реже всего обнаруживались *Streptococcus sp.* и актиномицеты (3,7% и 8,7% соответственно). Колебание по годам у *Staphylococcus sp.* составляло от 0 до 81,8%, а у *Pseudomonas sp.* – 0–68,0%. Стафилококки не выявлялись в составе микробных ассоциаций респираторного тракта дельфинов с 2001 по 2004 год. Встречаемость *Proteus* в 1997–2006 гг. составляла от 4,0 до 40,0%, но в 2007 году этот микроорганизм не был зарегистрирован в микрофлоре верхних дыхательных путей дельфинов. Стрептококки обнаруживались в 2000 году и в 2005–2007 годах, актиномицеты – в 2002 г., а также в 2005–2007 гг.

Средняя встречаемость различных микроорганизмов в респираторной микрофлоре дельфинов за весь период исследования представлена на Рис. 2. Было показано [4], что микрофлора дельфинов изменяется в зависимости от срока их адаптации к неволе. Как оказалось, в течение первого и второго месяца адаптации афалин преобладающими видами микроорганизмов верхних дыхательных путей являлись грамположительные кокки, а через 3–4 месяца превалировали бактерии семейства *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa*. У дельфинов, обитающих в океанариуме, по прошествии периода адаптации формируется определенный состав микрофлоры, который у здоровых животных является достаточно стабильным.

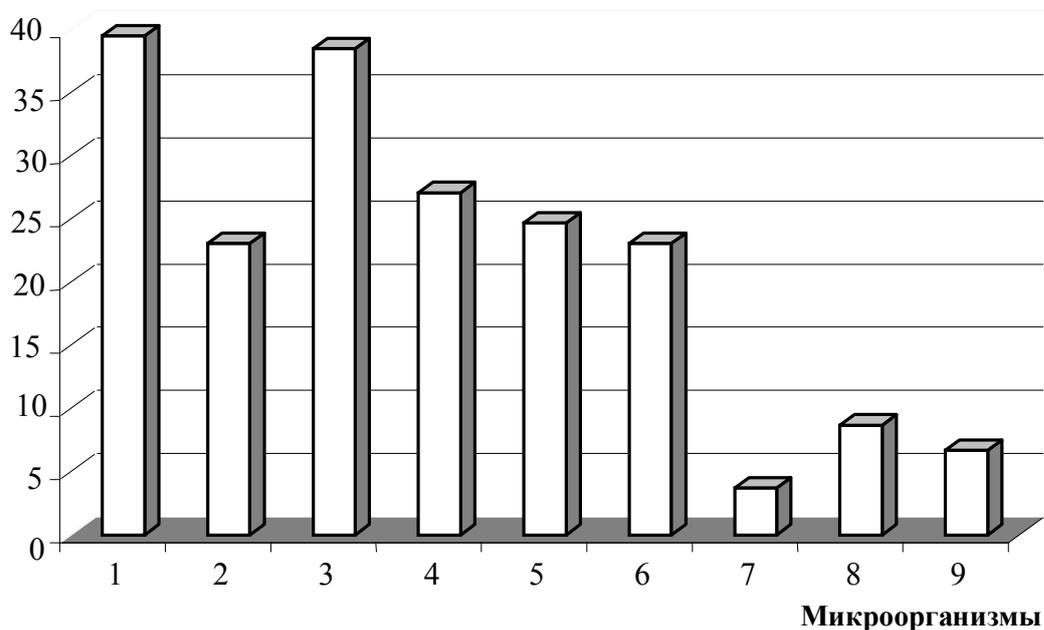
Таблица 1.
Встречаемость различных групп микроорганизмов в микрофлоре верхних дыхательных путей популяции дельфинов, обитающих в прибрежных вольерах

Вид микроорганизма	Встречаемость по годам, %											Встречаемость %
	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	
<i>Staphylococcus</i>	66,7	76,0	74,0	52,0	0	0	0	0	28,1	81,8	15,8	39,5
<i>Pr.mirabilis</i>	16,7	4,0	16,3	26,0	38,7	40,0	33,3	37,5	12,5	9,1	0	23,1
<i>Pseudomonas sp.</i>	16,7	68,0	51,2	58,0	56,5	36,0	0	12,5	28,1	45,5	10,5	38,5
Коринеформные	33,3	0	0	2,0	22,6	24,0	66,7	50,0	68,8	63,3	78,9	27,1
Дрожжи	8,3	0	0	2,0	41,9	92,3	58,3	37,5	18,8	9,1	31,6	24,7
<i>Enterobacteriaceae</i>	0	60,0	34,9	26,0	16,1	4,0	8,3	37,5	18,8	9,1	52,6	23,1
<i>Streptococcus sp.</i>	0	0	0	10,0	0	0	0	0	6,3	9,1	15,8	3,7
Актиномицеты	0	0	0	0	0	12,0	0	0	37,5	9,1	52,6	8,7
Неидентифицированные	41,7	4,0	0	2,0	6,5	0	16,7	12,5	12,5	9,1	5,3	6,7
Выборка	12	25	43	50	62	25	12	8	32	11	19	299

По нашим данным процесс микробиологической адаптации у дельфинов занимает период от 3 (у адаптированных особей при изменении условий содержания) до 12 месяцев (у диких после отлова).

Как свидетельствуют рабочие материалы исследований, проводимых в Океанариуме 20–25 лет тому назад, из респираторного тракта адаптированных афалин было изолировано около 23 групп микроорганизмов, включающих, помимо обнаруженных нами видов, также споровые формы, микрококки, тетракокки, *Alcaligenes eutrophus*, несколько видов *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Photobacterium*, *Halobacterium*, энтерококки и др. Полученные нами данные показали, что за последнее десятилетие видовой состав микрофлоры респираторного тракта дельфинов, обитающих в Севастопольском океанариуме, сократился примерно в 1,5 раза.

Встречаемость, %



- 1 – *Staphylococcus sp.*; 2 – *Proteus mirabilis*;
 3 – *Pseudomonas sp.*; 4 – коринеформные;
 5 – дрожжи; 6 – сем. *Enterobacteriaceae*; 7 – *Streptococcus sp.*;
 8 – актиномицеты; 9 – неидентифицированные микроорганизмы

Рис.2. Встречаемость различных систематических групп микроорганизмов в микрофлоре верхних дыхательных путей дельфинов, обитающих в прибрежных вольерах (средние данные 1997–2007 гг).

В результате исследований выявлено, что микроорганизмы дыхательных путей дельфинов-афалин, обитающих в Океанариуме, как правило, встречаются в виде

ассоциаций, включающих 2-4 вида, но могут присутствовать и в монокультуре (рис. 3). Полученные нами данные показали, что самыми распространенными в течение ряда лет являлись микробные ассоциации, включающие 2 вида микроорганизмов.

В воде вольеров с дельфинами помимо характерной морской микрофлоры присутствует микрофлора, привнесенная обслуживающим персоналом, тренерами и посетителями, а также флора самих дельфинов, которая постоянно выделяется в воду.

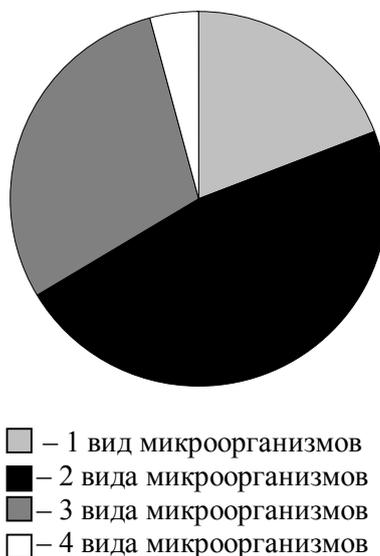


Рис. 3. Встречаемость микробных ассоциаций различного состава в респираторном тракте популяции дельфинов-афалин, содержащихся в прибрежных вольерах. Средние данные за 1997-2005 г.

При неблагоприятных условиях существования животных, таких как голодание, стрессовые ситуации, физические перегрузки и, особенно, неблагоприятная экологическая обстановка среды обитания, могут произойти изменения в составе нормальной микрофлоры организма. В этих случаях загрязнение морской среды наряду с прочими негативными последствиями увеличивает вероятность учащения инфекционных заболеваний морских животных, иногда приобретающими характер эпизоотий [5]. Это особенно актуально, так как бактериальные заболевания (респираторного тракта в том числе) являются основной причиной гибели морских животных в условиях неволи [6].

Большое значение в патогенезе малых китообразных имеет *Staphylococcus aureus*. Этот микроорганизм наряду со *S. epidermidis* может входить в состав нормальной микрофлоры здорового животного. На основании проведенных идентификационных тестов нами был определен процент выявления двух видов стафилококков в микрофлоре верхних дыхательных путей дельфинов, обитающих в океанариуме в течение 1997–2005 годов. Результаты представлены на Рис.4

Как показывают наши данные, наибольший процент встречаемости стафилококков в микрофлоре верхних дыхательных путей дельфинов был зарегистрирован в 1997 году. В дальнейшем стафилококки обнаруживались все реже (в 2001 году всего 14,6%), а в течение последующих трех лет (с 2002 по 2004 гг.) они полностью отсутствовали в микрофлоре. Вновь эти микроорганизмы появились в микрофлоре респираторного тракта животных лишь в 2005 году (встречаемость 22,2%).

Встречаемость, %

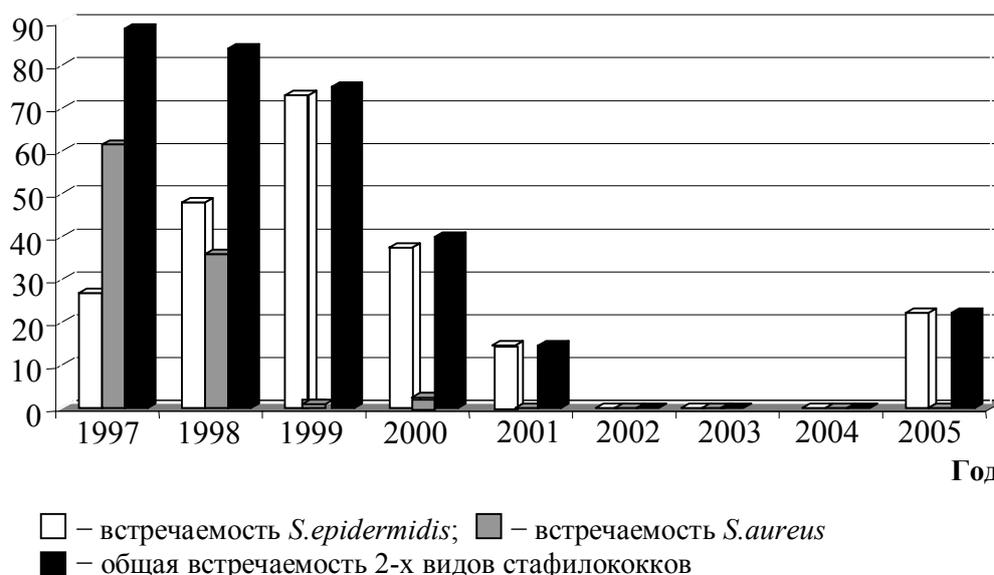


Рис.4. Встречаемость *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. aureus* и общая) в составе микрофлоры верхних дыхательных путей дельфинов

За этот же период изменилась и частота встречаемости каждого из двух видов стафилококков. Так, если в 1997 году *S. aureus* встречался примерно в 2 раза чаще, чем *S. epidermidis*, то уже в 2000 году *S. aureus* обнаруживался в 2,5% случаев, тогда как *S. epidermidis* – в 37,5% случаев. С 2001 года золотистый стафилококк в микрофлоре дыхательного тракта дельфинов не регистрировался.

Изменение частоты встречаемости стафилококков, по-видимому, является следствием цикличности некоторых факторов среды, воздействующих на микрофлору животных.

Представители рода *Proteus* (*P. vulgaris* и *P. mirabilis*) также играют важную роль в патологии животных как возбудители гнойно-воспалительных заболеваний и пищевых токсикоинфекций. Кроме того, в значительных количествах они встречаются в разлагающихся материалах животного происхождения [7, 8]. У дельфинов наличие в составе микрофлоры верхних дыхательных путей *P. mirabilis* в большинстве случаев указывает на снижение иммунореактивности организма.

Как показали наши исследования, в микробных ценозах верхних дыхательных путей дельфинов в основном присутствовал *P.mirabilis*. Результаты представлены на Рис. 5.

Как видно из рисунка, встречаемость *Proteus* в микрофлоре верхних дыхательных путей дельфинов в течение девяти лет составляла от 6,9 до 44,4% (в среднем 27,9%). Реже всего протей обнаруживался в 1998 году, а чаще всего – в 2001 и 2002 годах. Данные, полученные нами, показали, что у большинства животных в эти годы численность микроорганизмов в микрофлоре верхних дыхательных путей превышала норму (450 кол./чаш.), в некоторых случаях достигая 2000 кол./чаш. В 2001 г. отмечено наибольшее количество случаев гибели дельфинов за весь период исследования.

Встречаемость,%

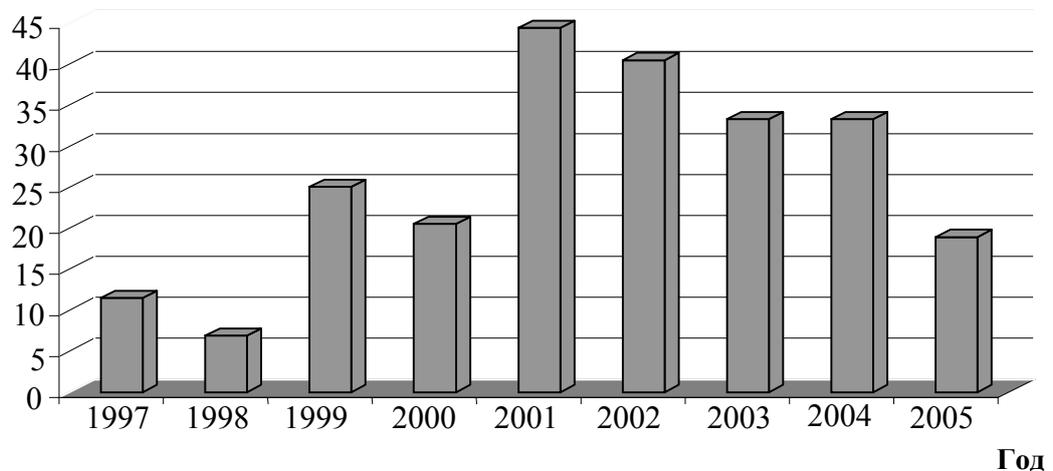


Рис.5. Встречаемость *Proteus* в составе микрофлоры верхних дыхательных путей дельфинов, обитающих в океанариуме (1997-2005 гг).

ВЫВОДЫ

1. В результате исследования выявлено изменение состава и доминирующих форм микроорганизмов в микробных ценозах верхних дыхательных путей дельфинов, содержащихся в океанариуме.
2. У животных, содержащихся в условиях океанариума, не наблюдалось сезонных колебаний состава респираторной микрофлоры. В среднем, наиболее часто встречаемыми в популяции дельфинов являлись стафилококки (39,5%) и *Pseudomonas sp.* (38,5%). Самыми распространенными в течение ряда лет являлись микробные ассоциации, включающие 2 вида микроорганизмов.
3. Выявлена периодичность появления и исчезновения отдельных представителей в респираторной микрофлоре адаптированных животных. За последнее десятилетие было отмечено сокращение в 1,5 раза видового состава микрофлоры респираторного тракта дельфинов, обитающих в Севастопольском океанариуме.

4. Рассмотрены значение и встречаемость в микрофлоре респираторного тракта дельфинов в течение девяти лет представителей родов *Staphylococcus* и *Proteus*.

Список литературы

1. Интизаров М.М. Микрофлора тела животных / Интизаров М.М. // Ветеринарная медицина. – 2007. www.allvet.ru
2. Бактерии респираторного тракта черноморских дельфинов / А.А.Биркун, Н.А. Милосердова, Н.К. Онуфриева [и др.] // Микробиол.журн. – 1988. – Т.50, №1. – С. 80–83.
3. A study of Bacterial Flora Associated with the Spiracle of Captive Dolphin. From Aquatic Animal Medicine / J. Spotts, B. Emmett, J. Wayne [et al.] // A State of the Art.Proceedings of a conference held April 25, 1979 at Whitney Hall. – Marineland of Florida, 1979. – P. 111.
4. Денисенко Т.Е. Микрофлора Черноморской афалины (*Tursiops truncatus*) в различные периоды адаптации к условиям неволи: автореф.дис. на соискание степени канд.биол.наук: спец. 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с миксотоксикологией и иммунологией» / Т.Е. Денисенко. – М., 2003. – 20 с.
5. Журид Б.А. Мы понимаем друг друга / Б.А. Журид, С.А. Верижникова. – Севастополь, 1997. – С. 81–122.
6. Cordes D.O. Diseases of captive marine mammals / D.O. Cordes, P.J. O'Hara // N.Z.–Vet.J. – 1979. – 27(7). – P. 147–150.
7. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. – С.-П.: СпецЛит, 2000. – 591 с.
8. Стейниер Р. Мир микробов. Т.3 / Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Ингрэм. – М.: Мир, 1976. – С. 283–285.

Андреева Н.О. Багаторічна динаміка загального складу й окремих представників мікробних ценозів верхніх дихальних шляхів дельфінів афалін (*Tursiops truncatus*), що утримуються в Севастопольському океанаріумі / Н.О. Андреева // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2010. – Т. 23 (62), № 4. – С. 25-33.

Наведені результати дослідження багаторічної динаміки складу мікробних ценозів верхніх дихальних шляхів дельфінів, що живуть в Океанаріумі. Виявлено зміну складу і домінуючих форм мікроорганізмів протягом 9 років. Визначено видовий та кількісний склад мікробних асоціацій, що найбільш часто зустрічаються в респираторному тракті дельфінів досліджуваної популяції. Висловлюється припущення про періодичність появи й зникнення окремих представників у респираторній мікрофлорі адаптованих тварин. Розглянуті значення і зустрічальність у мікрофлорі респираторного тракту дельфінів представників родів *Staphylococcus* і *Proteus*.

Ключові слова: мікробні ценози, багаторічна динаміка, верхні дихальні шляхи, дельфін-афаліна.

Andreeva N.A. Long-term dynamics of general composition and individual agents of upper airways microbial cenoses in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*), kept in Sevastopol Oceanarium / N.A. Andreeva // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – Vol.23 (62), No 4. – P. 25-33.

Results of research in long-term dynamics of upper airways microbial cenoses in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) kept in Sevastopol Oceanarium are presented. Change in composition and dominant forms of microorganisms within 9 years has been revealed. Species and quantitative composition of bacterial associations that most frequently found in a respiratory tract of dolphins of the investigated population has been specified. It is suggested that there is a periodicity of occurrence and disappearance of individual agents in respiratory microflora of adapted animals. Value and occurrence of *Staphylococcus* and *Proteus* representatives in microflora of a respiratory tract of dolphins are examined.

Keywords: microbial cenoses, long-term evolution, upper airways, bottlenose dolphin.

Поступила в редакцію 21.11.2010 г.