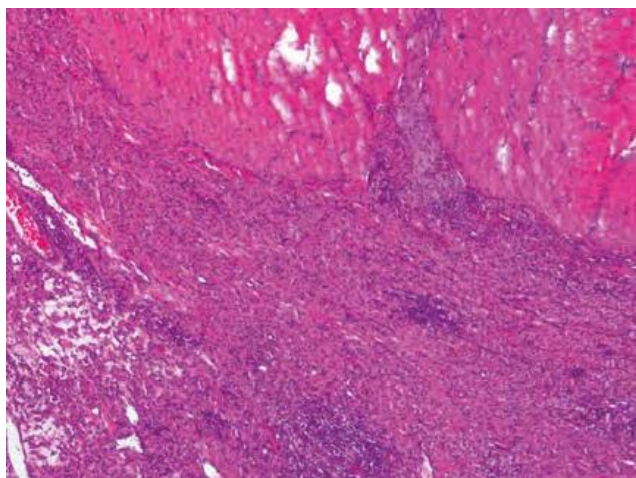


## Chronické hnačky, flatulencie a recidivujúce parazitózy – poruchy mikrobiómu u psa a mačky

Telo cicavcov je osídlené nespočetnými mikroorganizmami ako sú baktérie, huby, protozoa a vírusy. Ku kolonizovaným oblastiam patria ústna a nosná dutina, povrch kože, ako aj sliznice urogenitálneho a gastrointestinálneho traktu. Jedince, ktoré vytvárajú tento kolektív, sa označujú ako mikrobiota, zhromaždené genetické informácie každého jednotlivého mikróbu ako mikrobióm. Hlavným miestom kolonizácie mikrobiotou je s  $10^{11}$  -  $10^{12}$  baktérií na gram trusu hrubé črevo. Z týchto baktérií 99% rastie striktno anaeróbne a tvoria tak hlavnú časť črevnej flóry.

Až do konca deväťdesiatych rokov mali vedci na skúmanie zloženia tohto spoločenstva k dispozícii len mikrobiologicko – kultivačné postupy. Týmto spôsobom sa síce dajú dokázať kultivovateľné črevné baktérie, avšak so svojim podielom menej ako 1% tvoria len veľmi malú časť všetkých mikróbov čreva. Oveľa väčší podiel nekultivovateľných baktérií tak zostal nepozorovaný. Až rozvoj nových vyšetrovacích metód na molekulárne biologickej báze (napr. next generation sekvenovanie) umožnil zachytiť aj mikrobiologicky nekultivovateľné baktérie.



Obr.1: Výrazná chronická histiocytárna až zmiešanobunková kolitída u boxera (farbenie hematoxylín-eozín, 4x)  
Zdroj: Dr. Ulrike Schwittlick, Laboklin GmbH & Co. KG

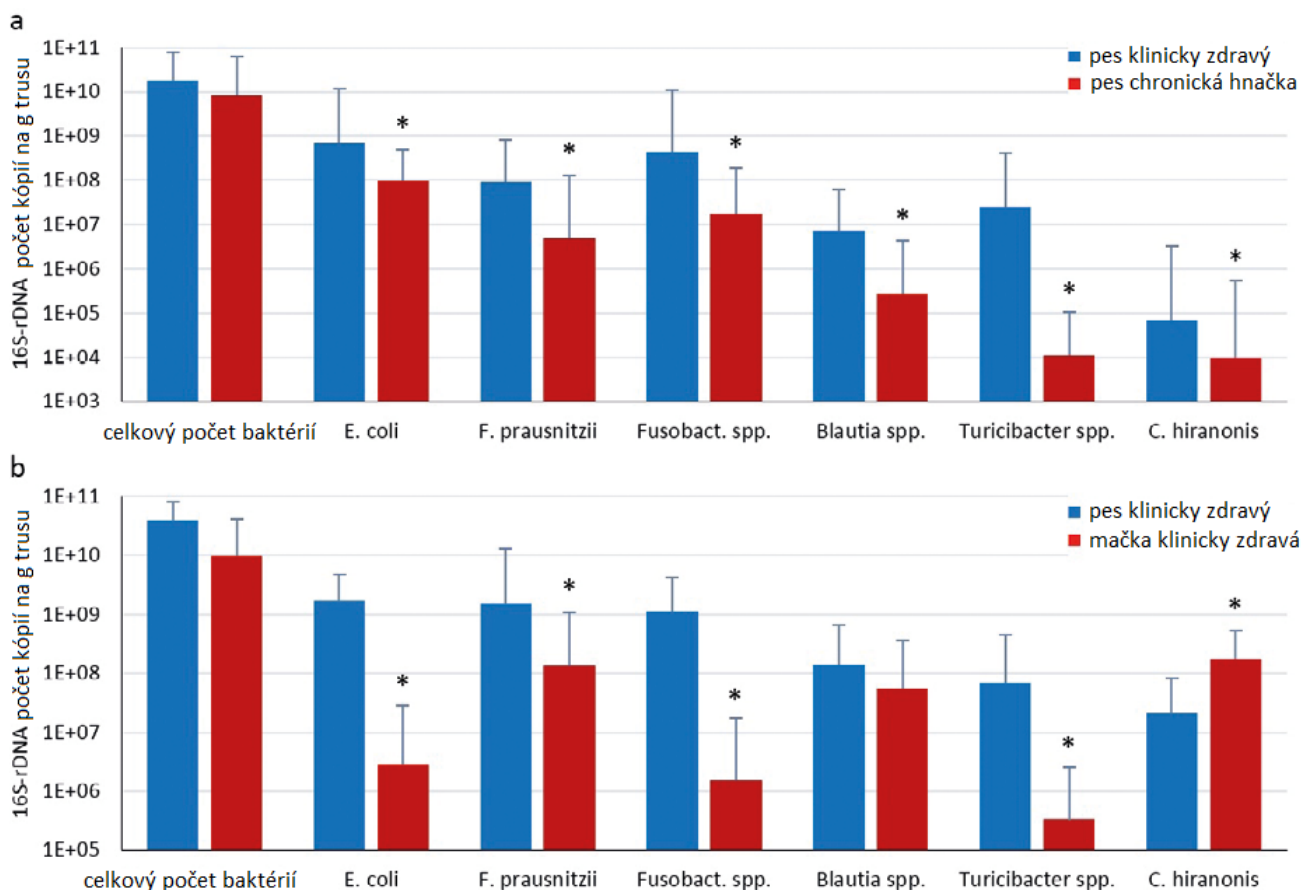
Týmto spôsobom mohol byť črevný mikrobióm prvýkrát vyšetrený v celej svojej komplexnosti, čo vyvolalo skutočný boom mikrobiómu vo vede. Početné štúdie medzitým nespochybniteľne potvrdili prínos mikróbov čreva pre zdravie ľudského hostiteľa.

K najdôležitejším úlohám črevnej flóry patria: využitie a trávenie potravy, syntéza základných mikroživín (napr. vitamín B12), udržiavanie intestinálnej slizničnej bariéry, regulácia imunitného systému asociovaného s črevom, obrana proti patogénom a oportunistom, ako aj motilita čreva.

### Intestinálny mikrobióm psa a mačky

V porovnaní s ľudským črevným mikrobiómom je mikrobióm psov a mačiek pomerne zriedkavým cieľom vedeckého výskumu. Pritom sú patomechanizmy, ktoré sú iniciované alebo podporované dysbiózou črevnej flóry, do značnej miery rovnaké. Stále častejšie vidíme vo veterinárnych praxiach ochorenia ako chronická hnačka, IBD, alergie na krmivo, metabolické problémy a atopie (obr.1).

V skutočnosti ukazujú štúdie istej americkej výskumnej skupiny, že rozdiely medzi mikrobiómom človeka a psa sú oveľa menšie, ako sa doteraz predpokladalo. Genetické informácie všetkých črevných baktérií sa u psa a človeka zhodujú v 63%. (U myší alebo ošípaných je podobnosť s 20% resp. 33% naproti tomu výrazne menšia). Často uvádzaným dôvodom je úzke sociálne puto, ktoré si majitelia k svojim domácim miláčikom vytvoria. K tomu pripočítajme priestorovú blízkosť, podobné stravovanie (napr. kŕmenie od stola), čo pravdepodobnosť horizontálneho prenosu baktérií významne zvyšuje. Ďalším dôkazom tejto tézy je, že podobnosť črevného



Obr.2: (a) Zloženie mikrofóry u psov s chronickou hnačkou v porovnaní s klinicky zdravou kontrolnou skupinou ( $n=30$ ,  $*p<0,05$ , Wilcoxon-Mann-Whitney-test). (b) Zloženie mikrofóry u klinicky zdravých psov v porovnaní s klinicky zdravými mačkami ( $n=27$ ,  $p<0,05$ , Wilcoxon-Mann-Whitney-test).

mikrobiómu je signifikantne vyššia medzi majiteľom psa a jeho vlastným zvieratím ako medzi majiteľom a cudzím psom z inej domácnosti. Naďalej nejasné je, či je taká podobnosť črevného mikrobiómu aj u psov a mačiek. Má črevná flóra u mačky s dysbiózou podobné zloženie ako u psa s dysbiózou? A pokiaľ nie, ako sa odlišuje dysbiotický stav u psa a u mačky?

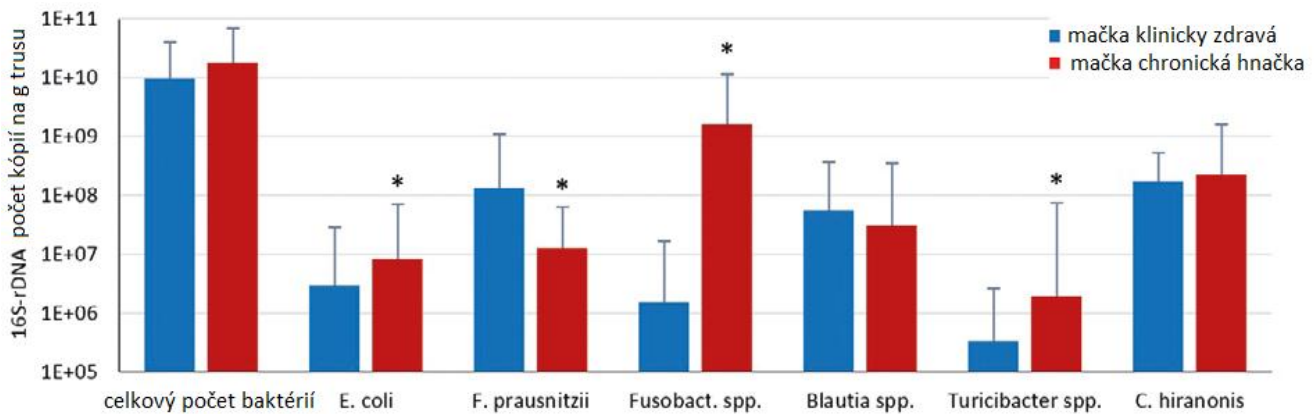
### Črevné dysbiózy u psov

Niektoré štúdie pomocou kvantitatívnej realtime PCR porovnávali počty kópií dôležitých anaeróbných markerových druhov pri dysbiózach u psov s chronickou hnačkou a klinicky zdravou kontrolnou skupinou. Ukázali sa významné rozdiely (obr.2), obzvlášť nápadná je signifikantná redukcia anaeróbov, črevnej flóry tráviacej uhľohydráty, sacharolytov (*Feacalibacterium prausnitzii*, *Blautia spp.*, *Turicibacter spp.*). Dôležitou funkciou týchto skupín baktérií je metabolizmus ťažko

stráviteľných vlákninových zložiek v krmive na masné kyseliny s krátkym reťazcom ako acetát, propionát a butyrát. Tieto slúžia ako hlavný zdroj energie pre enterocyty v kolone a sú esenciálne pre udržiavanie slizničnej bariéry. Psy sú povahou svojho stravovania všežravce. Ich tráviaci systém a metabolizmus je preto adaptovaný na vysoký obsah uhľohydrátov vo výžive. Z tohto dôvodu je posun v črevnej flóre smerom k proteolytickým druhom (napr. klostrídie, proteus, klebsielly) a zníženie počtov sacharolytických organizmov nefyziologický stav a znak dysbiózy v čreve.

### ...a u mačiek

Aj keď na základe anatomických podobností gastrointestinálneho traktu by sme predpokladali niečo iné, je zloženie črevnej mikrobioty u psov a mačiek veľmi rozdielne. Obrázok 2b ukazuje porovnanie črevného mikrobiómu klinicky zdravých psov a mačiek. Nápadným je signifikantne nízky výskyt sacharolytických



Obr. 3: Zloženie mikróflóry u mačiek s chronickými hnačkami v porovnaní s klinicky zdravou kontrolnou skupinou (n=27, \*p<0,05, Wilcoxon-Mann-Whitney-test)

črevných baktérií u mačky (*E.coli*, *Fusobacterium spp.*, *Turicibacter spp.*). Tak ako u psa je dôvodom pravdepodobne spôsob výživy. Domestikované mačky sú obligátne mäsožravce a na pokrytie svojich výživových potrieb potrebujú živočíšne tkanivá bohaté na proteíny. Ich tráviaci systém je usposobený na vyšší obsah bielkovín a nižší obsah uhľohydrátov v krmive. Výsledná ponuka živín v čreve predstavuje obrovskú selekčnú výhodu pre proteolytické druhy a nevýhodu pre sacharolytické organizmy. Eubiotický stav mikrobiómu v zdravom čreve mačky je teda charakterizovaný nízkym počtom sacharolytov a vysokým obsahom proteolytov.

### Poruchy črevnej flóry u mačiek

Ako u psa, aj u mačiek existujú dokázateľné rozdiely v zložení črevného mikrobiómu u klinicky zdravých zvierat a u zvierat s chronickou hnačkou. Porovnanie mikrobiálnych markerov dysbiózy oboch skupín ukazuje, že počet sacharolytických druhov u mačiek s chronickou hnačkou je v porovnaní so zdravými mačkami výrazne vyšší. To by mohlo znamenať, že mačky sú menej odkázané na mikrobiálne fermentačné produkty sacharolytov ako psy. Posun bakteriálnej rovnováhy smerom k sacharolytickým druhom je teda skôr charakteristický pre dysbiotickú situáciu v čreve.

### Spoločné znaky a rozdiely

Napriek rozdielom medzi psami a mačkami ohľadne spôsobu výživy a črevnej mikrobioty sa zdá, že určité druhy baktérií sú u oboch druhov nevyhnutné pre udržiavanie hemostázy čreva. Príkladom je *Faecalibacterium prausnitzii*. Ide o striktno anaeróbnou grampozitívnu baktériu s dôležitými protizápalovými a protektívnymi účinkami na sliznicu čreva. Znížené počty kópií tohto druhu u psov aj mačiek významne poukazujú na dysbiózu v čreve.

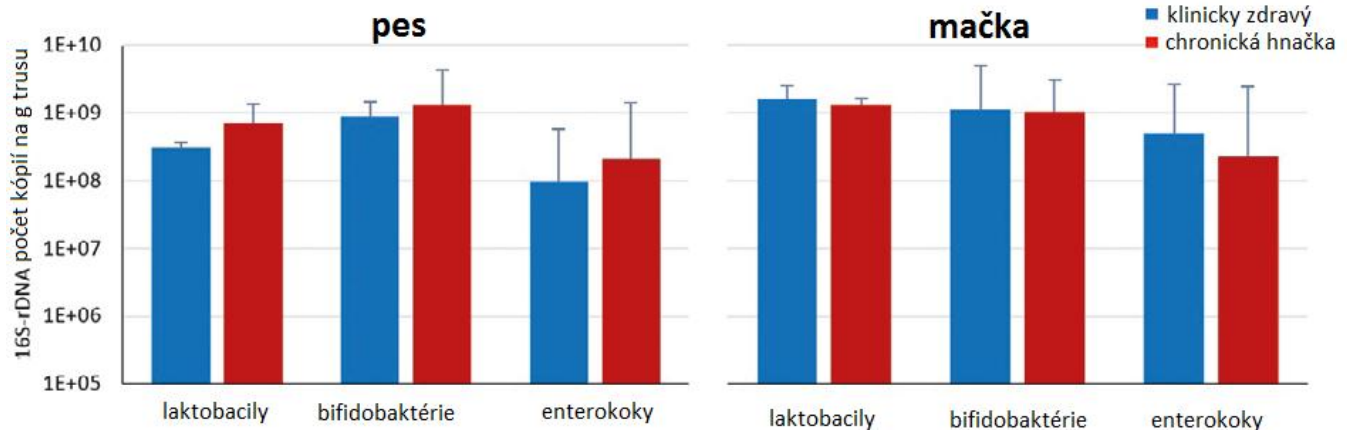
Zdá sa, že opak platí o baktériách druhov *Fusobacterium*. Zatiaľ čo u psov sú počty baktérií *Fusobacterium spp.* v klinicky zdravej kontrolnej skupine podstatne vyššie ako u zvierat s chronickou hnačkou, u mačiek je to tak len v chorom kolektíve (obr.2). Nejasné je, či ide pritom o rôzne počty jedného alebo viacerých druhov baktérií. Je možné, že podmienky prostredia v dysbiotickom čreve mačky podporujú rast fusobaktérií s proinflatórnym potenciálom, čo by mohlo zvyšovať pravdepodobnosť výskytu klinických ťažkostí.

### Indikácie pre analýzu dysbiózy

Aj keď existujú významné rozdiely v gastrointestinálnom trakte psov a mačiek, indikácie pre mikrobiologické vyšetrenie črevného mikrobiómu sú u oboch druhov rovnaké. Patria sem:

- gastrointestinálne ťažkosti nešpecifickej genézy, napr. chronické hnačky a flatulencie

Obr.



Obr. 4: Počet kópií laktobacilov, bifidobaktérií a enterokokov u klinicky zdravých a chronicky hnačkujúcich psov a mačiek (n=25, žiadne významné rozdiely)

- poruchy trávenia, exokrinná pankreatická insuficiencia
- recidivujúce parazitózy (napr. giardie)
- neznášanlivosť krmiva a alergie
- kontrola stavu po antibiotickej terapii

Mikroekologická analýza črevnej flóry môže pomôcť pri diferenciálnej diagnostike a poskytnúť nové prístupy k terapii. Často sa za týmto účelom používajú len mikrobiologicko-kultivačné postupy, ako je stanovenie počtu baktérií enterokokov, bifidobaktérií alebo laktobacilov. Tie sú z rôznych dôvodov pre stanovenie diagnózy nedostačujúce. Na jednej strane, s menej ako 1% sa zachytí len veľmi malá časť všetkých črevných baktérií, na druhej strane, porovnanie počtu kópií týchto baktérií u psov aj u mačiek nevykazuje významné rozdiely (obr.4). Rovnako je to aj pri porovnaní klinicky zdravých zvierat a zvierat s chronickou hnačkou.

Naproti tomu, pri analýze dysbiózy založenej na molekulárne biologických metódach, nezávislých na kultivácii, sú analyzované a kvantifikované esenciálne, nekultivovateľné markerové druhy črevných dysbakterií. Pri prispôbených referenčných hodnotách, ktoré zohľadňujú rozdiely v normálnej flóre medzi psami a mačkami, môžu byť črevné dysbiózy dokázané rýchlo a spoľahlivo.

### Terapia črevnej dysbiózy

Zmena krmiva na vysoko stráviteľné krmivo chudobné na tuky s ohľadom na individuálne

výživové potreby je najdôležitejší krok pri riešení porúch črevnej flóry. Riziko zápalových reakcií a intolerancií sa môže znížiť vynechaním surového krmiva a vysoko alergénnych zložiek. Pri akútnej hnačke môžu od ťažkostí efektívne uľaviť trus formujúce, toxíny viažuce substancie ako aluminosilikáty alebo humínové kyseliny.

Mleté psyllium šupky pridávané do krmiva pôsobia prebioticky a prirodzeným spôsobom podporujú rast protektívnej flóry. Navyše v spojení s vodou uvoľňujú slizy, ktoré pri hnačke spomaľujú črevnú pasáž a pri obstipácii uľahčujú defekáciu.

Použitie mikrobiologických terapeutík je indikované až po odznení akútnych symptómov. Pritom je potrebné venovať pozornosť správne výberu probiotík – vhodnej formy (kapsuly alebo tablety rezistentné voči žalúdočným kyselinám, mikroenkapsulovaný prášok), s vysokým počtom mikroorganizmov (> 10<sup>9</sup> CFU per dosis) a s vysokou diverzitou použitých bakteriálnych druhov.

Pri všetkých gastrointestinálnych ťažkostiach, spojených s chronickou hnačkou, je vhodnou terapiou aj orálna imunoterapia autovakcínou. Vďaka zvýšenej produkcii špecifických protilátok a suplementácii metabolitmi vyživujúcimi sliznicu sa podporuje slizničná bariéra a posilňuje jej obranyschopnosť. Jej použitie sa odporúča tak v akútnom stave, ako aj na prevenciu recidív.

## Literatúra

MK AlShawaqfeh, B Wajid et al.: A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. FEMS Microbiology Ecology 2017;11:136

L Coelho, J Kultima et al.: Similarity of the dog and human gut microbiomes in gene content and response to diet. Microbiome 2018; volume 6, 72