

## Střevní mikrobiom a intestinální dysbióza u koně



*Zdroj: Envato Elements*

Klinický obraz gastrointestinálních obtíží u koně je různorodý. Patří mezi ně například kolika, průjem, zácpa nebo flatulence. Velký význam v etiologii přitom mají bakteriální infekce, virové infekce a parazité. Často se ale také může jednat o neinfekční příčiny jako je způsob chovu a krmení. Nyní se i u koní dostává do popředí analýza mikrobiomu pro zjištění intestinální dysbiózy. Dysbióza je stav mikrobiálního osídlení střeva patogenními bakteriemi. Vedle gastrointestinálních obtíží jsou s intestinální dysbiózou u koně spojovány i jiné klinické nálezy.

### Střevní mikrobiom

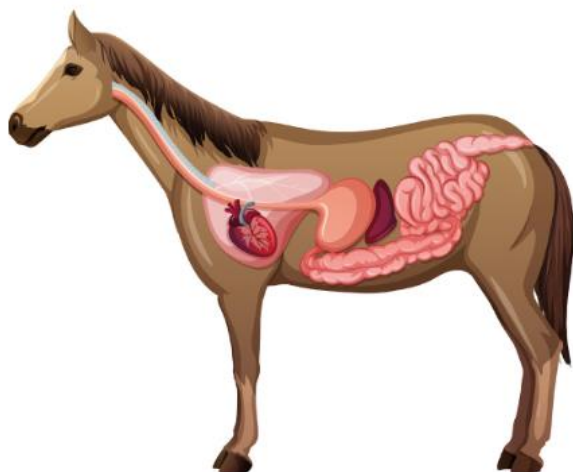
Střevní mikrobiom tvoří největší tělní povrch a představuje tak největší kontaktní plochu s prostředím. Intestinální mikrobiota je tvořena bakteriemi, houbami a protozoy. Dále jsou v něm přítomny i viry a Archae.

Pod pojmem **střevní mikrobiom** rozumíme ekologickou komunitu **intestinálních mikrobiot**. V **tlustém střevě** se **nachází až  $10^{12}$  bakterií na gram**

**trusu.** Střevo je tak nehuštěji osídlený ekosystém na zemi.

Intestinální mikrobiota má různé úkoly. V první řadě má obrannou funkci. Střevo má totiž přijímat živiny ze stravy, ale zároveň má chránit organismus před vniknutím škodlivých látek.

Vytváří slizniční bariéru, která je mimo jiné udržována bakteriemi. Mikrobiota má také vliv na imunitní systém střeva. Ten zajišťuje neustálou rovnováhu mezi tolerancí vůči komensálům a obrannou proti patogenním faktorům.



**Obrázek 1: zaživací trakt koně; zdroj: Shutterstock**

Střevní bakterie se významně podílejí na metabolických procesech. V přední části zaživacího traktu dochází k enzymatickému trávení tuků, bílkovin a uhlohydrátů a natrávená zažítina je během několika málo hodin pasážována dál. Sacharidy a části vlákniny jako celulóza a hemicelulóza, které nemohou být stráveny v tenkém střevě, jsou pasážovány nenatrávené do tlustého střeva.

V tlustém střevě dochází k mikrobiální fermentaci částí vlákniny a následně vznikají mastné kyseliny

s krátkým řetězcem jako butyrát, propionát a acetylát. MK s krátkým řetězcem jsou především zdroj energie. U koně tvoří až 65 % celkové potřeby energie a proto je pro koně intaktní střevní mikrobiota tak důležitá. Trávicí proces může trvat dle typu potravy až 50 hodin. Strava, resp. natrávená zažítina prochází horním zaživacím traktem (počínaje dutinou ústní, dále jícnem, žaludkem a tenkým střevem) během několika málo hodin (ca. 2-4 hodiny). S přechodem do tlustého střeva, které se skládá z céka a z kolonu začíná mikrobiální fermentace. V této části trávicího traktu může natrávená zažítina strávit až 48 hodin.



**Obrázek 2: koňský trus; zdroj: Shutterstock**

### **Mikrobiologické vyšetření trusu**

Trus je zajímavým vzorkem. Snadno se získává a může být zdrojem mnoha informací. Bakteriální kultivace je dlouho etablované vyšetření. Slouží k průkazu živých mikroorganismů se schopností se množit a je vhodná k průkazu obligátních patogenických bakterií, jako např. salmonel. Sérotypizace a testování rezistence je možné pouze po bakteriální kultivaci. Mimo to mohou být izoláty bakterií z kultivace podkladem pro výrobu autovakcíny.

Avšak v zásadě je možné vypěstovat pouze ty bakterie, které rostou za aerobních podmínek na běžně používaných kultivačních půdách. V jednotlivých případech je možné prokázat i některé anaeroby, je to však kultivačně náročné, zdlouhavé a podaří se to jen u mála druhů bakterií. Intestinální mikrobiom se skládá skoro ze 100 % z anaerobně rostoucích kultur a proto není možné většinu z nich možné kultivačně prokázat.

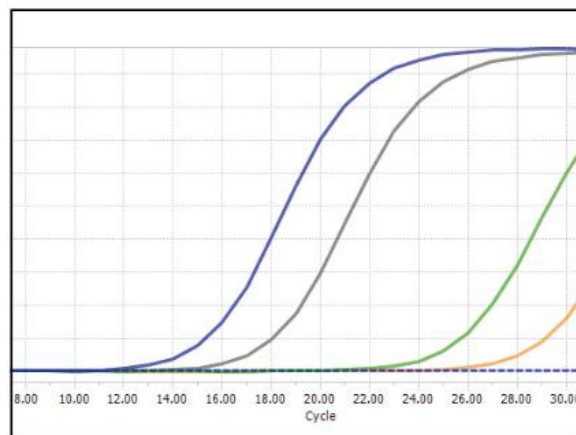
Analýza dysbiózy probíhá za pomoci real time PCR, kvantitativního PCR (qPCR), u kterého je vyšetřován počet kopií 16s-rDNA určitých skupin markerových bakteriálních kmenů (obrázek 3). PCR vyšetření je nezávislé na kultivaci, má vysokou specificitu, lze ním kvantifikovat a může být využito k detekci anaerobních bakterií s neznámými podmínkami kultivace.

Cílem analýzy dysbiózy je rozeznání normobiotických podmínek od dysbiotických. K tomuto účelu využíváme bakteriální kmeny, které byly v předchozích vědeckých studiích nejvíce zastoupeny. U koní jsou to aktuálně tyto bakteriální kmeny: Firmicutes, **Bacteroidetes**, Verrucomicroba a Proteobacteria. qPCR je prováděna na základě standardizovaného protokolu a ke kvantifikaci jednotlivých **markerových skupin** bakteriálních kmenů je využíván množstevní standard se známou koncentrací.

Pokud se u koní vyskytuje mimo gastrointestinální obtíže i zhoršení celkového zdravotního stavu, mělo by být kromě analýzy dysbiózy provedeno i vyšetření infekčních příčin.

Mimo často požadované parazitologické vyšetření trusu koně se může jednat i o bakteriální a virové příčiny průjmu. Např. infekce koronaviry může způsobit i u dospělého koně klinické symptomy,

kteří se týkají většinou jen jednotlivců. Průkaz probíhá ze vzorku stolice pomocí PCR.



Obrázek 3: qPCR-amplifikační křivka; zdroj: Laboklin

Původce průjmů u koní mohou být i různé druhy bakterií. Celkové klinické příznaky nemusí být po každé přítomny. Také u bakteriálních průjmů je často postiženo pár jedinců.

Koně jsou například relativně náchylnější na **salmonelové infekce**, k přenosu stačí omezené množství bakterií. Často jsou zdrojem infekce asymptomatictí nosiči, kteří infekci šíří mezi další koně. Masivní klinické symptomy mají především hříbata, imunosuprimovaní jedinci a stresovaní jedinci.

**Clostridium perfringens** je striktně anaerobně rostoucí bakterie a je nejčastějším bakteriálním druhem v tlustém střevě koní, stejně jako dalších zvířat a lidí. K osídlení střev touto bakterií dochází velmi brzy, *Clostridium perfringens* bylo přítomno ve vzorcích stolice u více než 90 % hříbat ve věku 3 dnů.

## **Analýza dysbiózy- interpretace nálezu a terapie**

Aby bylo možné posoudit, zda se jedná o dysbiózu, posuzují se ve výsledcích jednotlivé skupiny markerových bakteriálních kmenů. Posuzujeme, zda se hodnoty nachází ve fyziologickém rozmezí nebo zda došlo k jejich odchýlení, u kterých markerových bakteriálních kmenů k němu došlo a jak velká je diskrepance.

Je otázkou, jak interpretovat výsledky analýzy dysbiózy a stejně tak, jakou terapii zvolíme. Na rozdíl od jiných laboratorních analýz neexistuje v tomto případě žádné všeobecné terapeutické doporučení. Na každý výsledek je nutno pohlížet individuálně, protože střevní mikrobiom je ovlivňován mnoha faktory.

### **Faktory, které mohou ovlivnit střevní mikrobiom:**

- strava
- voda
- životní prostředí
- věk
- využití koně
- plemeno/typ koně
- prodělaná onemocnění
- antibiotika

Hned na začátku je nutné vyloučit primární onemocnění.

Na složení střevní mikrobioty má velký vliv strava. Předpokladem pro zdravý zažívací trakt je optimální zásobení zvířete syrovou stravou, příjem minerálů podle potřeby zvířete a také příjem nezávadné vody. V případě nejistot lze provést analýzu stravy a vody. Změna stravy musí probíhat pomalu - jako příklad uveďme začátek a konec pastevní sezóny na jaře a na podzim. Trávení začíná příjmem potravy do dutiny ústní a jeho mechanickým

zmenšením a z tohoto důvodu je nutné do anamnézy zanést i stav chrupu. Dále pak posouzení ustájení koně a jeho dalšího životního prostředí vzhledem k možným stresovým faktorům. Kritické a celistvé posouzení možných faktorů, ovlivňujících trávení, je základem individuální terapie.

## **Prebiotika a probiotika**

Při poruchách trávení jsou často využívána prebiotika a probiotika. Mají pozitivní vliv na trávení, sliznici střeva a střevní mikrobiotu.

Prebiotika jsou nestravitelné části potravy, které stejně jako složky vlákniny ze stravy nejsou stravitelné (nebo jen málo) v přední části zažívacího traktu a slouží jako potrava bakteriím v tlustém střevě. Prebiotika podléhají také mikrobiální fermentaci. Tento proces slouží růstu fyziologických mikroorganismů.

Probiotika obsahují živé organismy, které by měly mít ozdravný účinek na střevo. Nejčastějším zástupcem probiotických kultur je *Saccharomyces cerevisiae*.

I přes časté používání pre- a probiotik existuje doposud (na rozdíl od jiných živočišných druhů) jen málo studií k jejich používání u koní. Je otázka, má-li jejich použití pozitivní a/nebo negativní vliv na trávení.

## **Souhrn**

Střevní dysbiózy mohou být asociovány s řadou klinických obtíží. Složení střevní mikrobioty je přitom odvislé od několika faktorů a neexistuje žádné všeobecné terapeutické doporučení. Molekulárně biologické metody nám umožňují získat přehled

o střevních mikrobiotách. Stávající posouzení analýzy dysbiózy vychází z dosavadního vědění. Pro lepší poznání a doplňující znalosti je zapotřebí dalších studií.

**Dr. Corinna Hader,  
Dr. Anton Heusinger**

**Literatura:**

**Costa MC, Silva G, Ramos RV, Staempfli HR, Arroyo LG, Kim P und Weese JS.** Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. Vet J. 2015; 205(1), 74-80.

**Kauter A, Epping L, Semmler T, Antao EM, Kannapin D, Stoeckle SD, Gehlen H, Lübke-Becker A, Günther S, Wieler LH und Walther B.** The gut microbiome of horses: current research on equine enteral microbiota and future perspectives. Anim Microbiome. 2019; 1(1), 14

**Langner K und Vervuert I.** Beeinflussung der equinen Mikrobiota durch Fütterung und Probiotika: aktueller Stand der Forschung und rechtliche Grundlagen. [Impact of nutrition and probiotics on the equine microbiota: current scientific knowledge and legal regulations]. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere. 2019; 47(01), 35-48.