

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА ПРОФОРТ® НА МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА СОБАК

Тимур Петрович Дуняшев, к.с.-х.н., ветеринарный консультант, timur@biotrof.ru

Татьяна Николаевна Ромадина, менеджер по продажам, rtn@biotrof.ru

Дарья Георгиевна Тюрина, к.э.н., заместитель директора, tiurina@biotrof.ru

ООО «БИОТРОФ» (г. Санкт-Петербург)

Лариса Александровна Ильина, к.б.н., доцент, ilina@biotrof.ru

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский аграрный университет (г. Санкт-Петербург)

Юрий Евгеньевич Кузнецов, д.в.н., доцент, fish2017@yandex.ru

ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский университет

ветеринарной медицины (г. Санкт-Петербург)

В статье представлены результаты изучения эффективности кормовой добавки Профорт® производства ООО «БИОТРОФ» при применении собакам. Опыт проводили на животных массой тела 7 – 12 кг (n=6), которым вместе с основным рационом скармливали пробиотик Профорт® из расчета 0,05 г на голову в сутки. Пробы содержимого кишечника отбирали у них в 1-, 7-, 14- и 21-е сутки с последующим исследованием микробного сообщества молекулярно-генетическими методами. Кормовая добавка Профорт® при применении собакам способствовала нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта и процессов пищеварения. **Ключевые слова:** собака, рацион, микробиом, Профорт®.

Effect of the probiotic Proforth® on the intestinal microbiome of dogs

T.P. Dunyashev, PhD in Agriculture, Veterinary consultant, timur@biotrof.ru

T.N. Romadina, Sales manager, rtn@biotrof.ru

D.G. Tiurina, Phd in Economics, Deputy director, tiurina@biotrof.ru
Ltd «BIOTROF» (St. Petersburg)

L.A. Ilina, PhD in Biology, Assistant professor, ilina@biotrof.ru
St. Petersburg agrarian university (St. Petersburg)

Yu.E. Kuznetsov, PhD in Biology, Assistant professor, fish2017@yandex.ru
St. Petersburg University of veterinary medicine (St. Petersburg)

The article presents the results of the effectiveness of the use of the multifunctional feed additive Profort in feeding dogs. The experience was carried out on dogs weighing 7 – 12 kg (n=6), which, together with the main diet, fed probiotic Profort® manufactured by BIOTROF LTD (St. Petersburg) in the amount of 0,05 g per head per day. The experience was 21 days. Samples of the intestinal contents of dogs were taken on 1, 7, 14 and 21 days to examine the microbial community by molecular genetic methods. The application of high-throughput sequencing methods to canine fecal samples revealed the peculiarities of the gastrointestinal microflora change, showed the prophylactic effect of the studied food additive on the animal body. **Key words:** dog, diet, microbiome, Profort®.
DOI:10.30896/0042-4846.2022.25.7.51-54

За последнее время отношение к здоровью и благополучию собак, ставших нашими главными животными-компаньонами, резко возросло. Современные технологические достижения создали новые инструменты не только для изучения микробного состава кишечника животных, но и генетического потенциала, а также связанных с ним метаболических функций этого микробного сообщества [6].

На организм собак при переезде на летние месяцы в пригород воздействуют абиотические и биотические факто-

ры, что ведет к расстройству пищеварения, доставляя множество хлопот и беспокойства владельцам [4]. Важнейшим из них, оказывающим влияние на процессы переваривания и усвоения корма является микрофлора пищеварительной системы [3, 4]. Для профилактики и лечения собак при желудочно-кишечных инфекциях и расстройствах пищеварения, возникших при нарушении правил кормления, стрессах, резкой смене рациона, антибиотикотерапии используют пробиотики. При этом при-

чиной их редкого применения остаются низкая эффективность и некорректный подбор штаммов микроорганизмов относительно данного вида животных [2]. Научный и практический интерес для собаководства в условиях городской среды имеют кормовые добавки комплексного действия, сочетающие свойства фермента и пробиотика.

Цель работы – изучить влияние кормовой добавки Профорт® (ООО «БИОТРОФ», г. Санкт-Петербург) на микрофлору желудочно-кишечного тракта собак в условиях городской среды.

Материалы и методы. Опыты проводили в лаборатории ООО «БИОТРОФ» на собаках (n=6) породы Хаски 1–5-летнего возраста и массой тела 7–17 кг. Животным (n=6) вместе с основным рационом скармливали пробиотик Профорт® из расчета 0,05 г на голову в сутки (табл. 1). Профорт® – кормовая пробиотическая добавка для нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта и процессов пищеварения у животных. В 1 г препарата содержится не менее $1,0 \times 10^7$ КОЕ живых бактерий *Bacillus megaterium* B-4801 и $1,0 \times 10^7$ КОЕ *Enterococcus faecium* 1 – 35 [1].

Пробы содержимого кишечника отбирали у собак в 1- (контроль), 7-, 14- и 21-е сутки для выявления микробного сообщества молекулярно-генетическими методами NGS-секвенирования. Микробиоту кишечника исследовали в лаборатории компании ООО «БИОТРОФ» (г. Санкт-Петербург) с использованием NGS-анализа (Next Generation Sequencing) для определения структуры компонентов бактериального сообщества, даже при их низком содержании.

Тотальную ДНК из образцов выделяли согласно методике, описанной Т. Маниатис и соавт. (1984), Л.А. Ильиной (2013), М.А. Ушаковой и соавт. (2013), в собственной модификации, исполь-

зуя набор Genomic DNA Purification Kit (Fermentas, Inc., Литва). Концентрацию полученной ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Inc., США) и наборов Quant-iT dsDNA Broad-Assay Kit (Invitrogen, Inc., США), согласно рекомендациям производителя. Амплификацию для последующего NGS-секвенирования проводили на ДНК-амплификаторе Verity (Life Technologies, Inc., США) с помощью эубактериальных праймеров (IDT), 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), фланкирующих участок V1V3 гена 16S рРНК. Метагеномное секвенирование осуществляли на геномном секвенаторе MiSeq (Illumina, Inc., США) с набором MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina, Inc., США). Максимальная длина полученных последовательностей составила 2x300 нт. Химерные последовательности исключили из анализа [9]. Обработывали риды 2x300 пар нуклеотидов на биоинформатической платформе CLC Bio GW 7.0 (Qiagen, Нидерланды), включающей перекрывание, фильтрацию по качеству (QV>15) и триммирование праймеров.

Результаты исследований. Кормовая добавка Профорт® при применении клинически здоровым собакам влияла на микрофлору их пищеварительной системы. Бактериальное разнообразие было представлено в основном пятью таксонометрическими типами: *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. Растительные корма необходимы для формирования нормальной флоры кишечника собаки. Однако они сложно перевариваются из-за тяжелорастворимой клетчатки. Целлюлозолитические бактерии расщепляют клетчатку в рационе. Поэтому необходимо поддерживать в пределах нормы их количество. Как показали исследования, концентрация

целлюлозолитических бактерий к 7-м суткам эксперимента увеличилась в 2,5 раза за счет высокого содержания представителей семейства *Lachnospiraceae* (41,1%). К 14-м суткам их доля снизилась до 40,43 %, а к 21-м суткам – до 28,5 %, что говорит о границах оптимального ввода в рацион пробиотика Профорт® (до 14 суток). Бактерии семейства *Veillonellaceae* обладают способностью трансформировать органические кислоты до летучих жирных кислот (например, бутирата), принимая активное участие в процессе метаболизма. На 21-е сутки уровень ЛЖК-синтезирующих микроорганизмов возрос в 13,3 раза, что свидетельствует о сохранении оптимального рН в желудке собак и в итоге о правильном пищеварении (табл. 1).

Данные о влиянии пробиотика Профорт® на условно-патогенную микрофлору кишечника собак представлены в таблице 2. На 7-е сутки после введения в

рацион кормовой добавки содержание кишечной палочки (*Escherichia/Shigella*) уменьшилось в 46,6 раза. Полезные бактерии, входящие в состав пробиотика, способствовали снижению ее концентрации практически до нуля. Высокое количество данных микроорганизмов может вызывать у собак болезни желудочно-кишечного тракта, например, гастроэнтерит и энтерит.

Известно, что патогенная микрофлора в желудочно-кишечном тракте животных свидетельствует о наличии или возможном возникновении заболеваний различной этиологии. В результате собственных исследований был обнаружен ряд патогенов, опасных для здоровья собак (табл. 3). В клинических образцах содержимого кишечника животных преобладали *Fusobacterium mortiferum* семейства *Fusobacteriaceae*. Данный вид ассоциируют с оральными, легочными и внутричерепными инфек-

Интегральные показатели содержания полезных бактерий в кишечнике собак (NGS-секвенирование), %

Таблица 1

Микроорганизм	Срок исследования, сут			
	1	7	14	21
Сем. <i>Ruminococcaceae</i>	0,622	0,884	6,329	0,752
Отряд <i>Bacteroidales</i>	1,105	1,476	2,567	2,022
Сем. <i>Lachnospiraceae</i>	9,959	41,121	22,512	23,434
Сем. <i>Eubacteriaceae</i>	0,035	0,082	0,066	0,065
Сем. <i>Flavobacteriaceae</i>	0,009	0,006	0,005	0,015
Сем. <i>Clostridiaceae</i>	7,694	5,608	8,951	2,273
Сумма целлюлозолитиков	19,424	49,177	40,43	28,561
Отряд <i>Bacillales</i>	0,049	0,039	0,055	0,026
Отряд <i>Lactobacillales</i>	0,258	0,164	0,173	0,18
Отряд <i>Bifidobacteriales</i>	0,02	0,014	0,024	0,028
Сем. <i>Veillonellaceae</i>	1,785	0,357	22,736	21,58

Интегральные показатели содержания условно-патогенных бактерий в кишечнике собак (NGS-секвенирование), %

Таблица 2

Микроорганизм	Срок исследования, сут			
	1	7	14	21
Вид <i>Escherichia/Shigella</i>	14,194	0,394	0,255	0,186
Сем. <i>Actinomycetaceae</i>	0,015	0,004	0,001	0,001
Вид <i>Actinomyces canis</i>	0,003	0	0	0

Интегральные показатели содержания патогенных бактерий в кишечнике собак (NGS-секвенирование), %

Таблица 3

Микроорганизм	Срок исследования, сут			
	1	7	14	21
Сем. <i>Staphylococcaceae</i>	0,003	0,002	0,004	0,001
Сем. <i>Streptococcaceae</i>	0,034	0,05	0,024	0,046
Вид <i>Streptococcus canis</i>	0	0,004	0,001	0,004
Вид <i>Streptococcus didelphis</i>	0	0	0,002	0,001
Вид <i>Streptococcus orisratti</i>	0,011	0,013	0	0,004
Сем. <i>Brucellaceae</i>	0	0,002	0,001	0,003
Сем. <i>Campylobacteraceae</i>	0,023	0,043	0,024	0
Вид <i>Clostridium perfringens</i>	0,017	0,032	0,006	0,03
Сем. <i>Leptospiraceae</i>	0,003	0,002	0	0
Сем. <i>Mycoplasmataceae</i>	0,006	0	0	0,002
Вид <i>Mycoplasma pulmonis</i>	0,003	0	0	0,001
Род <i>Ehrlichia</i>	0	0,002	0	0
Сем. <i>Fusobacteriaceae</i>	7,048	4,148	2,93	0,247
Вид <i>Fusobacterium mortiferum</i>	4,337	2,441	1,876	0,175
Вид <i>Enterococcus cecorum</i>	0,003	0	0,004	0,004
Вид <i>Enterococcus faecalis</i>	0,003	0	0	0,008
Сем. <i>Listeriaceae</i>	0,003	0,002	0,002	0

циями. К 21-м суткам его концентрация постепенно снижалась, что говорит о положительном влиянии Профорт® на микрофлору кишечника собак. Однако фузобактерии, присутствующие в большом количестве в микробиоте здоровых плотоядных животных, не вредны для своего хозяина. Они способны расщеплять белки для получения субстратов роста – аминокислот и пептидов [8]. Поэтому необходимы специальные экологические исследования в сочетании со сравнительным геномным анализом, чтобы пролить свет на значение высокой численности фузобактерий и ее роли в микробиоте кишечника собак [6, 7]. Остальные обнаруженные нами представители патогенной микрофлоры присутствовали в незначительном количестве.

Заключение. Кормовую добавку Профорт® рекомендуем вводить в рацион собак из расчета 0,05 г на голову в сутки в течение 14 дней при нарушении работы желудочно-кишечного тракта и для

общей профилактики расстройств пищеварения.

ЛИТЕРАТУРА

1. БИОТРОФ микробиология для животноводства. Режим доступа – <https://biotrof.ru/produkcija/profort/>.
2. Ласковец Р.С. Эффективность пробиотика Белолин при коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта служебных собак: Автореф. дис. ... канд. вет. наук. М., 2018; 23 с.
3. Максимиук Н.Н., Скопичев В.Г. Физиология животных: кормление: Учебное пособие для вузов. 2-е изд., испр. и доп. М.: Издательство Юрайт, 2020; 195 с.
4. Хохрин С.Н., Рожков К.А., Лунегова И.В. Кормление собак: Учебное пособие для вузов. 2-е изд., стер. СПб: Лань, 2021; 288 с.
5. Doron L., Copenhagen-Glazer S., Ibrahim Y., Eini A., Naor R., Rosen G., Bachrach G. Identification and characterization of fusolisin, the *Fusobacterium nucleatum* autotransporter serine protease. 2014; PLoS One 9:e111329.
6. Ley R.E., Hamady M., Lozupone C. et al. Evolution of mammals and their gut microbes. 2008; Science 320:1647–1651.
7. Swanson K.S., Dowd S.E., Suchodolski J.S. et al. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. ISME J. 2011; 5:639 – 649.
8. Sykes N., Beirne P., Horowitz A. et al. Humanity's best friend: a dog-centric approach to addressing global challenges. Animals. 2020; 10:502.
9. RDP Classifier (<https://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>)