

Antibiotika und Probiotika als Therapieoptionen beim akuten unkomplizierten Durchfall des Hundes

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

**Antibiotika und Probiotika als Therapieoptionen beim akuten unkomplizierten
Durchfall des Hundes**

von Helene Stübing
aus Ulm/Söflingen

München 2025

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.- Prof. Dr. Stefan Unterer

Mitbetreuung durch:

Dr. Kathrin Busch-Hahn

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.- Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.- Prof. Dr. Stefan Unterer

Korreferent: Priv.- Doz. Dr. Karin Weber

Tag der Promotion: 8. Februar 2025

Für Mutti und Merle

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
Publikationsliste	7
Beitrag zu den Veröffentlichungen	8
1. Einleitung	9
2. Paper I: Übersichtsartikel	11
3. Paper II: Original-Publikation klinische Studie.....	32
4. Diskussion	45
5. Zusammenfassung.....	51
6. Summary	54
Literaturverzeichnis	56
Danksagung	64

Abkürzungsverzeichnis

AD	Akuter unkomplizierter Durchfall
AHDS	Akut hämorrhagisches Diarrhösyndrom
HUC	Histiozytäre ulzerative Kolitis
IBD	Inflammatory Bowel Disease
C.	<i>Clostridium</i>
<i>C. difficile</i>	<i>Clostridioides difficile</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
L.	<i>Lactobacillus</i>
B.	<i>Bifidobacterium</i>
Ssp.	Subspezies
DI	Dysbiosis Index (Dysbiose Index)
CADS-Index	Canine Acute Diarrhea Severity Index (Krankheitsaktivitäts-Index)
DF	Defecation frequency (Kotabsatzfrequenz)
FC	Fecal consistency (Kotkonsistenz)
PFS	Purina Fecal Scoring Chart
qPCR	quantitative Polymerase Kettenreaktion
16S-rRNA	16S-ribosomale-Ribonukleinsäure
NSAID's	Nichtsteroidale Antiphlogistika
CFU	Colony Forming Units (KBE = Koloniebildende Einheiten)
BW	Body weight (Körpergewicht)
Kg	Kilogramm
z. B.	Zum Beispiel
%	Prozent
<	Vergleichszeichen: kleiner als
>	Vergleichszeichen: größer als
≥	Vergleichszeichen: größer als oder gleich wie
°C	Grad Celcius
Ca.	Circa
Et. al.	Et alii (und andere)
i. v.	Intravenös
s.c.	Subkutan
Per os	oral

Publikationsliste

Publikationen als Erstautor und Bestandteil der kumulativen Dissertation

- Der Einsatz von Probiotika bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes (Paper I)
- The effect of metronidazole versus a synbiotic on clinical course and core intestinal microbiota in dogs with acute diarrhea (Paper II)

Vorträge

- Comparison of metronidazole versus a synbiotic for treating dogs with acute diarrhea, ACVIM Kongress, Austin, Texas, USA, Juni 2022
- Akuter unkomplizierter Durchfall beim Hund, Intensivworkshop Gastroenterologie, Medizinische Kleintierklinik, LMU, München, Deutschland, Juni 2022
- The effect of metronidazole versus a synbiotic on selected intestinal bacteria and clinical improvement in dogs with acute diarrhoea, ECVIM Kongress Göteborg, Schweden, September 2022, 3. Platz in der Kategorie Gastroenterologie Abstracts
- Fragebogen für HundebesitzerInnen zu akutem Durchfall mit Fokus auf den Antibiotikaeinsatz, DVG-Kongress, Berlin, Deutschland, Oktober 2022
- Longitudinal assessment of toxigenic Clostridium perfringens strains in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome, GutSea Kongress, Manuel Antonio, Costa Rica, Februar 2023 und Purina Microbiome Forum, online, November 2022

Beitrag zu den Veröffentlichungen

1.1 Beitrag zu Paper I

Zur Erstellung des Papers I beschäftigte ich mich mit der Literaturrecherche zur Thematik Probiotika bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes. Ich erstellte in Folge einen Übersichtsartikel in deutscher Sprache für die Kleintierpraxis, welcher einen Überblick über bisherige Studien zur genannten Thematik geben soll. Ich betreute die Anpassung von Änderungsvorschlägen der Koautoren sowie des Verlags, in welchem das Paper eingereicht wurde.

1.2 Beitrag zu Paper II

Nach Abschluss der Fertigstellung des Studiendesigns sowie der Bestätigung der Ethikkommission zur Durchführung der klinischen Studie, umfasste mein Beitrag zum Paper II zunächst die Organisation der Medikamentenherstellung, da die Medikation (Metronidazol versus ein Synbiotikum) im Rahmen dieser geblindeten Studie in Form von Kapseln an die Hunde verabreicht wurde. Die Dosierung wurde entsprechend nach Gewichtsklassen zugeführt, weswegen die Kapseln eine definierte Menge am Milligramm Wirkstoff bzw. im Falle des Synbiotikums eine definierte Anzahl an Kolonien bildenden Einheiten enthalten mussten. Vor Start der Patientenaufnahme verfasste ich Dokumente zur Einwilligung in die Studie mit entsprechender Aufklärung für die Hundehalter sowie ein Tagebuch, welches den klinischen Verlauf der Hunde während der Studie dokumentierte.

Die Aufnahme der Hunde in die Studie erfolgte durch mich im Rahmen meiner Tätigkeit als Tierärztin in der Medizinischen Kleintierklinik der LMU. Ich führte die klinische Untersuchung, Diagnostik (Hämatologie und Kotuntersuchung) sowie Verabreichung der initialen Therapie (Injektion von Metamizol und Maropitant) durch. Die Patientenbesitzer wurden durch mich über den Ablauf der Studie informiert und über die Medikamentenverabreichung sowie Dokumentation des Canine Acute Diarrhea Severity Index (CADS-Index) aufgeklärt.

Während ein Hund die Studie durchlief, organisierte ich die terminierte Gewinnung und Lagerung der Kotproben. Die Kotproben wurden nach Abschluss der Studie in gefrorenem Zustand an das Gastrointestinal Laboratory der School of Veterinary Medicine and Biomedical Science der Texas A&M University versendet, um dort den Dysbiose Index (DI) zu bestimmen. Die Dokumente zur Erfassung des klinischen Verlaufs wurden durch mich verwaltet.

Nach Abschluss der Patientenaufnahme erfolgte durch mich die Auswertung der Tagebücher zur Evaluation des CADS-Index und des DI. Ich erstellte mit Hilfe des Statistikprogramms GraphPad Prism die Statistik und die entsprechenden Grafiken. Im Anschluss daran verfasste ich das Paper II in englischer Sprache, fügte entsprechende Änderungsvorschläge der Koautoren sowie des Journals „Veterinary Science“ ein. Das Paper II wurde im Frühjahr 2024 publiziert. Die Daten habe ich vor deren Publikation in 2 wissenschaftlichen Vorträgen im Rahmen des AVCIM und ECVIM Kongresses im Jahr 2022 vorgestellt.

1. Einleitung

Akut auftretender und unkompliziert verlaufender Durchfall (AD) stellt einen der häufigsten Vorstellungsgünde eines Hundes in der tierärztlichen Praxis dar [1-3]. Gekennzeichnet ist AD durch das klinische Bild des Durchfalls sowie unter anderem akuter Vomitus und Hyporexie bis Anorexie [1, 4, 5]. Die Symptome bei AD sind in der Regel mild und selbstlimitierend, sodass der Großteil der Hunde als ambulante Patienten behandelt werden kann [6-9]. Differenziert werden sollte AD vom ebenso akut einsetzenden jedoch hämorrhagischen Diarrhösyndrom (AHDS), bei dem in vielen Fällen eine stationäre Therapie erforderlich ist. Sinnvoll ist zudem eine Abgrenzung von chronisch verlaufenden Gastroenteropathien, da die Symptome eines AD in der Regel nicht länger als ca. 7-10 Tage vorhanden sind [3].

Die Ursachen von AD sind vielfältig und häufig nachträglich nicht mehr nachweisbar. Zu den nicht infektiösen Auslösern werden Diätmodifikationen (z.B. abrupte Futterwechsel, ungeeignetes Futter, Futterintoleranzen, etc.), Stress oder Medikamente (z.B. nichtsteroidale Antiphlogistika) gezählt [5, 10, 11]. Transiente, selbst-limitierende infektiöse Auslöser können ebenfalls zu AD führen. In diesem Zusammenhang wird auf *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) und *Escherichia coli* (*E. coli*) verwiesen [8, 12].

Maßgeblich vor dem Hintergrund der zunehmenden Entwicklung von Antibiotika-Resistenzen, wird der Umgang mit antibiotischen Wirkstoffen sowohl in Human- als auch Tiermedizin kritisch diskutiert [13]. In der Veterinärmedizin ist AD ein Erkrankungsbild, das in diesem Zusammenhang im Fokus von Diskussionen steht [7, 14]. Eine Studie aus dem Jahr 2019 wies nach, dass Hunde mit akuten Durchfallerkrankungen sehr frequent mit antibiotischen Wirkstoffen, allen voran mit Metronidazol, behandelt werden [15]. Dieser routinemäßige Einsatz von Metronidazol oder anderer Antibiotika bei AD steht im Kontrast zu den geltenden Therapieempfehlungen zur Behandlung von akuten Durchfallgeschehen [16, 17].

Hauptaspekt der Diskussion um den Einsatz von Antibiotika bei AD ist zunächst inwiefern überhaupt die Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie besteht. Bei AHDS konnten mehrere Studien zeigen, dass das von *C. perfringens* stammende nekrotisierende Toxin NetF eine mitentscheidende Rolle in der Pathogenese der Erkrankung spielt [18-20]. Trotz dieser Erkenntnis ist nicht in jedem Fall eine spezifische antibiotische Therapie notwendig [21]. Inwieweit Erreger wie *C. perfringens* oder *E. coli* bei AD als primäre bakterielle Auslöser benannt werden können, wird ebenfalls diskutiert. Untersuchungen haben gezeigt, dass sie auch bei gesunden Hunden regelmäßig nachgewiesen werden können [8, 22, 23].

Zudem wird der Vorteil von Metronidazol hinsichtlich des Effekts auf die klinische Verbesserung betroffener Hunde hinterfragt [7, 9]. Eine Studie konnte eine zügigere klinische Verbesserung durch den Einsatz von Metronidazol im Vergleich zu einem Placebo zeigen [8]. Andere Studien hingegen ergaben, dass Alternativtherapien wie Probiotika, Synbiotika oder auch Placebo einen äquivalenten Effekt auf die klinische Verbesserung aufweisen können [6, 9]. Vor diesem Hintergrund wird diskutiert, inwieweit der Einsatz von Metronidazol unterstützt werden kann, vor allem in Hinblick auf die bekannten Negativaspekte des Antibiotikaeinsatzes. Es gibt Erkenntnisse, dass Hunde durch die Verabreichung von Metronidazol eine signifikante intestinale Dysbiose entwickeln können [24]. Zudem wurde das Auftreten gastrointestinaler und neurologischer klinischer Anzeichen im Zusammenhang mit Metronidazol beobachtet [25].

Im Lichte dieser Aspekte und Diskussionen werden in der Human- und auch der Veterinärmedizin in zunehmendem Maße probiotische Substanzen bei gastrointestinalen Erkrankungen eingesetzt. Gerade in der Tiermedizin erscheint die Datenlage hierzu teilweise unübersichtlich. Daher war es das Ziel der ersten Publikation, eine Übersicht zum Einsatz von Probiotika und Probiotika verwandten Präparaten wie Synbiotika bei gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes zusammenzustellen. Die Publikation bietet einen Überblick über die Herkunft und Unterteilung von Probiotika. Zusätzlich werden die Ergebnisse von Studien zum Einsatz von Probiotika und Synbiotika bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes zusammenfassend dargestellt. Die Publikation kann daher als Orientierung zur Auswahl eines Probiotikums oder Synbiotikums beim Hund mit gastrointestinalen Erkrankungen genutzt werden.

Das erste Ziel der zweiten Publikation war eine vergleichende Evaluierung der klinischen Verbesserung von Hunden mit AD, denen über 7 Tage entweder Metronidazol oder ein Synbiotikum verabreicht wurde. Die Hypothese war, dass die Verabreichung des Antibiotikums und des Synbiotikums vergleichbare klinische Verbesserung des Krankheitsgeschehens zur Folge haben. Das zweite Ziel dieser Studie lag in der Analyse des intestinalen Mikrobioms von Hunden mit AD und nachfolgend unter deren Therapie entweder mit Metronidazol oder einem Synbiotikum. Die Hypothese war, dass von AD betroffene Hunde unter der Verabreichung von Metronidazol eine Dysbiose entwickeln während bei Patienten der Synbiotika-Behandlungsgruppe keine Dysbiose entsteht.

2. Paper I

Der Einsatz von Probiotika bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes

Efficacy of probiotics in acute and chronic gastrointestinal diseases in dogs

Helene Stübing¹, Anna-Lena Ziese¹, Andrea Reisinger¹, Stefan Unterer², Kathrin Busch-Hahn¹

¹Medizinische Kleintierklinik, Tiermedizinische Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinärstr 13, 80539 München, Korrespondenz-Emailadresse: stuebingh@gmail.com, 015785682377

²Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse Fakultät, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich, Schweiz

Schlüsselworte: *Lactobacillus* ssp., Durchfall, chronische Enteropathie, IBD, AHDS, Giardien, Parvovirose

Key words: *Lactobacillus* ssp., diarrhea, chronic enteropathy, IBD, AHDS, giardiosis, parvovirus

Zusammenfassung

Probiotika sind Präparate, die lebende Mikroorganismen enthalten und dem Empfänger, bei Aufnahme adäquater Mengen, zu einem gesundheitlichen Nutzen verhelfen. Es werden hierbei u.a. mono- und multistämmige Probiotika sowie Probiotika bakteriellen Ursprungs (z.B. *Lactobacillus* ssp.) von Probiotika nicht bakteriellen Ursprungs (*Saccharomyces boulardii*) differenziert. Rein rechtlich gesehen werden Probiotika in Deutschland als Futtermittelzusatzstoffe definiert und entsprechend in einer Liste des Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit geführt. Bei verschiedenen akuten gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes scheinen multistämmige Probiotika zu einem vorteilhaften klinischen Verlauf beizutragen. Hierzu zählen die unkomplizierte akute Diarrhö, das Akute Hämorrhagische Diarrhösyndrom sowie die Parvovirose. Bei Endoparasiten-assoziiierter Diarrhö ließ sich hingegen bisher kein signifikanter klinischer Vorteil eines Einsatzes von Probiotika aufzeigen. Multistämmige Probiotika wurden mit Erfolg bei chronischer Inflammatory Bowel Disease des Hundes eingesetzt, wohingegen ihre Anwendung bei Antibiotika- oder Futtermittel-responsiven und anderen chronischen gastrointestinalen Erkrankungen keinen klinischen Vorteil aufzeigte. Die individuelle Auswahl eines Probiotikums je nach Vorliegen akuter oder chronischer gastrointestinaler Erkrankung erscheint sinnvoll und empfehlenswert.

Summary

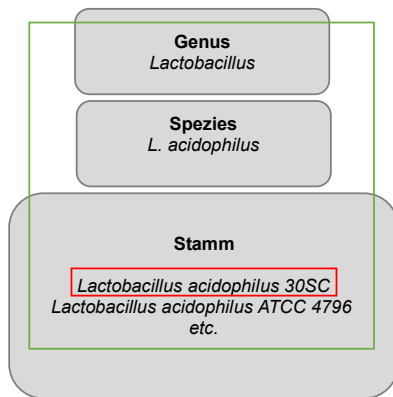
Probiotics are substances containing live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. They are classified as either single- or multi-strain probiotics. Additionally, probiotics may be of bacterial (i.e. *Lactobacillus* ssp.) or non-bacterial (i.e. *Saccharomyces boulardii*) origin. From a legal point of view probiotics are defined as feed additives in Germany and are listed in a registry of the Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. Multi-strain probiotics may contribute to an improved clinical course in different acute gastrointestinal diseases of the dog. Among these are acute, uncomplicated diarrhea, acute hemorrhagic diarrhea syndrome, and parvovirus. In diarrhea associated with endoparasites, no significant ameliorating effect has been shown to date. Multi-strain probiotics have been demonstrated to confer a positive effect in canine chronic Inflammatory Bowel Disease, whereas their use failed to show clinical improvement of dogs with antibiotic- or diet-responsive chronic gastrointestinal disease. An individual selection of a probiotic preparation with regard to its composition and in dependence of the presence of the specific chronic or acute gastrointestinal disease seems advisable.

1. Einleitung

Probiotika weisen vielfältige potentielle Einsatzgebiete beim Hund auf. Der vorliegende Artikel bietet eine Literaturzusammenstellung zur Wirksamkeit von Probiotika und Probiotika-verwandten Produkten bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes.

2. Grundlagen

Probiotika sind definiert als Präparate, die lebende Mikroorganismen enthalten und die, in adäquater Menge aufgenommen, dem Empfänger zu einem gesundheitlichen Vorteil verhelfen (Hybridword aus lateinisch *pro* „für“ und altgriechisch *bios* „Leben“ [26]). Von den eigentlichen Probiotika werden sowohl Präbiotika, Synbiotika als auch Postbiotika unterschieden (Tabelle 1).



Grafik 1: Einteilung anhand der Taxonomie (Beispiel Genus *Lactobacillus*)
 Rot: monostämmiges Probiotikum
 Grün: multistämmiges Probiotikum
 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>)

Probiotika werden in mehrere Untergruppen unterteilt. Basierend auf der Taxonomie von Mikroorganismen findet eine Differenzierung in mono- und multistämmige Probiotika statt (Grafik 1). Ein monostämmiges Probiotikum enthält einen einzelnen Stamm. Dahingegen beinhaltet ein multistämmiges Probiotikum entweder multiple Stämme derselben Spezies oder Genus oder Stämme multipler Genera. Zudem kann dieses sowohl Bakterien als auch Pilze enthalten [27]. Weitergehend werden probiotische Produkte bakteriellen Ursprungs (z.B. *Lactobacillus* (*L.*) ssp. [28]) von Probiotika nicht-bakteriellen Ursprungs differenziert. Zu Probiotika nicht-bakteriellen Ursprungs finden sich Studien, in denen der Einsatz von Hefen (z.B. *Saccharomyces boulardii* [29]) oder Pilzen (z. B. *Aspergillus* ssp. [30]) beim Hund evaluiert wurden.

Zudem findet eine Klassifizierung in sporenbildende (z. B. *Bacillus subtilis* [31]) und nicht-sporenbildende Probiotika (z.B. *Laktobazillus*- und *Bifidobakteriumstämme* (*B.*)) statt. Diese Einteilung ist von Bedeutung, da die gesteigerte Widerstandskraft und damit verbundene höheren Lebensfähigkeit der Sporenbildner als vorteilhaft angesehen wird [32]. Zuletzt werden allochthone und autochthone Probiotika voneinander unterschieden. Letztere sind Produkte, die Mikroorganismen enthalten, die auch regelmäßig aus dem intestinalen Mikrobioms des Hundes isoliert werden können (z. B. *Laktobazillus*- und *Bifidobakteriumstämme*). Dahingegen enthalten allochthone Probiotika Mikroorganismen, die im Darm nicht originär beheimatet sind und von außen in die gastrointestinale Flora eingebracht werden. Beispielsweise zählen Hefen, als eine Art Durchgangsmikroorganismus, zu dieser Probiotika-Art [33].

Rein rechtlich gesehen werden probiotische Präparate in Deutschland als Futtermittelzusatzstoffe klassifiziert und somit in der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung (Futtermittelzusatzstoff-Verordnung) geführt. Das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit stellt eine konsolidierte Liste aller für die Tierernährung zugelassenen Futtermittelzusatzstoffe zur Verfügung ([BVL - Liste der zugelassenen Zusatzstoffe in Futtermitteln \(bund.de\)](#)). In dieser Liste der für Futtermittel zugelassenen Zusatzstoffe sind zudem Mindest- und Maximalangaben der Kolonien-bildenden Einheiten (KBE) pro Kilogramm aufgeführt.

Tabelle 1: Definition von Probiotika und verwandter Produkte			
Table 1: Definition of probiotics and related products			
Probiotika probiotics	Probiotika sind Präparate, die lebende Mikroorganismen enthalten und die, wenn in adäquater Menge aufgenommen, dem Empfänger zu einem gesundheitlichen Nutzen verhelfen [26].	Synbiotika synbiotics	Produkte, die sowohl prä- als auch probiotische Inhaltsstoffe enthalten [34, 35].
Präbiotika prebiotics	Ein nicht-verdauliches Substrat, das dem Empfänger zu einem gesundheitlichen Nutzen verhilft, indem es selektiv das Wachstum oder die Aktivität einzelner oder bestimmter Bakterien im Kolon stimuliert [36]. Z.B.: Inulin, Fruktooligosaccharide (FOS), Mananoligosaccharide (MOS), Galaktooligosaccharide [37]	Postbiotika postbiotics	Ein Präparat, aus nicht-lebenden Mikroorganismen und/oder deren Bestandteilen sowie Metaboliten, welches dem Empfänger zu einem gesundheitlichen Nutzen verhelfen soll [38, 39]. Z.B.: biologisch aktive Metaboliten von Bakterien oder Hefen, Exopolysaccharide, Enzyme, Zellwandfragmente, kurzkettige Fettsäuren, bakterielle Lysate, Metaboliten [40]

3. Einsatz von Probiotika und Probiotika-verwandter Produkte bei gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes

In den letzten Jahren zeigt der Konsum rezeptfreier Probiotika beim Menschen weltweit eine deutliche Steigerung auf [41]. In der Humanmedizin liegen Daten zum erfolgreichen Einsatz von Probiotika bei folgenden Erkrankungen vor: akute infektiöse und antibiotikaassoziierte Diarrhö, *Clostridium-difficile*-assoziiertes Durchfall, hepatische Enzephalopathie, Colitis ulcerosa, Reizdarmsyndrom, funktionelle gastrointestinale Störungen und nekrotisierende Enterokolitis. Nicht wirksam scheinen Probiotika bei akuter Pankreatitis und Morbus Crohn zu sein [42].

Für den Hund liegen ebenfalls verschiedene Studien vor, in denen Probiotika, Präbiotika oder Synbiotika bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen evaluiert wurden. Diese sind im Folgenden zusammengestellt (siehe auch Tabelle 2).

3.1 Akute gastrointestinale Erkrankungen

Akute gastrointestinale Erkrankungen sind durch ein akutes (3-7 Tage) Auftreten von unter anderem Diarrhö, Vomitus und Hypo- bis Anorexie charakterisiert [3, 43, 44]. Die Ursachen sind vielfältig. Sie können mild und selbstlimitierend verlaufen oder mit Komplikationen wie Dehydratation, Sepsis oder dem Verlust von Albumin über den Magen-Darm-Trakt einhergehen. Therapiert werden diese akuten Erkrankungen je nach Ursache, Klinik und Verlauf.

3.1.1. Akute unkomplizierte Diarrhö (AD): AD ist beim Hund einer der häufigsten Gründe einer tierärztlichen Konsultation [1, 2]. Neben Durchfall können Erbrechen und/oder Anorexie auftreten [1, 4, 5]. AD verläuft meist mild und der Großteil der Patienten kann ambulant mittels einer symptomatischen Therapie behandelt werden. Eine Unterscheidung von AD und dem Akuten Hämorrhagischen Diarrhösyndrom (AHDS) ist dabei bedeutsam, da es beim letztgenannten infolge von Dehydratation und der Gefahr einer bakteriellen Translokation zu Komplikationen kommen kann [45]. Die Ursachen eines AD sind vielfältig und in der Regel nachträglich nicht mehr nachweisbar.

Möglich sind abrupte Futterwechsel, inadäquate Futtermittel, Hypersensibilitäten, Medikamentenunverträglichkeiten (z.B. Nicht-steroidale Antiphlogistika) oder Stress [5, 10, 11, 44]. In der Literatur werden Infektionserreger wie *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) oder *Escherichia coli* (*E.coli*) diskutiert, wobei diese auch bei gesunden Hunden aus dem Kot isoliert werden können [11, 22, 23].

Mittlerweile liegt eine Vielzahl an zumeist Placebo-kontrollierten Studien vor, in denen der Einsatz von Pro- oder Synbiotika bei Hunden mit AD evaluiert wurde. Eine dieser klinischen Untersuchungen wies die Verbesserung bestimmter klinischer Parameter wie Kotkonsistenz, Allgemeinbefinden, Appetit und Vomitus durch die Verabreichung einer probiotischen Laktobazillen-Kombination im Vergleich zum Placebo-Präparat nach [11].

Eine weitere Placebo-kontrollierte Studie zeigte eine Reduktion des Auftretens und der Dauer von Diarrhö bei Einsatz eines *Enterococcus faecium*- (*E. faecium*) enthaltenden Synbiotikums auf [46].

Die Zeit von Beginn der Therapie bis zur letzten abweichenden Kotqualität zeigte sich in einer zusätzlichen Evaluation eines Probiotikums bestehend aus Laktobazillen, Bazillus-Stämmen und *Pediococcus acidilactici* im Vergleich zum Placebo signifikant verkürzt. Dahingegen war die Dauer von Beginn der Therapie an bis zum letzten Auftreten von Erbrechen in beiden Gruppen nahezu gleich [47].

Der Vergleich eines *B. animalis*-Stamms und eines Placebos wies einen signifikanten Vorteil der Probiotikagruppe hinsichtlich der Zeit bis zur Ausheilung des Durchfalls auf. Zudem ergab sich ein kleinerer Anteil an Hunden der Probiotikagruppe, die zusätzlich Metronidazol erhielten (38,5% versus 50,5%, [48]).

Hunde, die in einer weiteren Studie mit *E. faecium* behandelt wurden, zeigten eine signifikant kürzere Durchfalldauer. Eine geringere Anzahl an Hunden benötigten eine zusätzliche Therapie infolge ausbleibender Besserung oder klinischer Verschlechterung [49].

Erwähnung soll auch eine klinische Untersuchung finden, bei der sich zwischen den Individuen, die ein *E. faecium*-beinhaltendes Probiotikum erhielten im Vergleich zur Placebogruppe kein Unterschied nachweisen ließ [50].

Fazit Akuter unkomplizierter Durchfall als milde und häufig selbstlimitierende Erkrankung benötigt in vielen Fällen keine spezifische Therapie. Die Verabreichung von Pro-oder Synbiotika kann zu einer Verbesserung des klinischen Verlaufs beitragen.

3.1.2 Kanine Parvovirose: Das kanine Parvovirus (CPV) wird fäkal-oral übertragen und kann nach einer Inkubationszeit von ca. 4 bis 14 Tagen meist bei jungen Individuen in einem Alter von bis zu 6 Monaten zu einer klinisch relevanten Erkrankung führen. Klinische Anzeichen sind Vomitus, hämorrhagische Diarrhö, Anorexie und Dehydratation [51]. Die Neutropenie und das Risiko einer bakteriellen Translokation aufgrund der erhöhten Darmpermeabilität bergen die Gefahr einer Septikämie gefolgt von Multiorganversagen und Tod [52]. Bei einer nachgewiesenen Parvovirusinfektion (ELISA Antigen Schnelltest + PCR aus Kot) wird neben einer supportiven Therapie ein Breitspektrum-Antibiotikum empfohlen [52].

In einer klinischen Studie aus dem Jahr 2012 wurden Hunde mit Parvovirose in 2 Gruppen mit jeweils 10 Patienten unterteilt. Eine Gruppe erhielt zusätzlich zur supportiven Therapie und Antibiotikagabe (Ampicillin i. v. u./od. Gentamicin i. v.) ein multistämmiges Probiotikum (*Streptococcus thermophilus* BT01, *B. breve* BB02, *B. longum* BL03, *B. infantis* BI04, *L. acidophilus* BA05,

L. plantarum BP06, *L. paracasei* BP07, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, 450 x 10⁹ KBE/Tag, über einen Zeitraum von 1 bis 3 Wochen). Der Prozentsatz überlebender Hunde in der Probiotikagruppe war mit 90% im Vergleich zur Nicht-Probiotika-Gruppe mit 70% tendenziell höher, was aber nicht signifikant war (Probiotikagruppe: 1 verstorbener Hund versus Nicht-Probiotika-Gruppe: 3 verstorbene Hunde).

Die erhobenen klinischen Scores (tägliche klinische Allgemeinuntersuchung und Beurteilung klinischer Parameter wie Allgemeinbefinden, Appetit, Kotkonsistenz, Präsenz und Häufigkeit von Vomitus und Diarrhö: Score 0 (keine klinischen Anzeichen) bis 3 (hochgradige klinische Anzeichen)) der Probiotikagruppe waren am 3. und 5. Tag der Behandlung signifikant niedriger als die der Nicht-Probiotika-Gruppe ($p < 0,05$). Die hämatologische Analyse zeigte zudem, dass die Leukozyten- und Lymphozytenzahlen der Probiotikagruppe am Tag 5 signifikant höher waren als vor der Behandlung ($p < 0,05$) während in der Nicht-Probiotika-Gruppe kein statistisch signifikanter Anstieg dieser Zellfraktionen stattfand [53].

Fazit In einer klinischen Studie bei 20 Hunden mit Parvovirose konnte aufgezeigt werden, dass die Gruppe, die zusätzlich zu einer supportiven und antibiotischen Therapie ein multistämmiges Probiotikum erhielt, eine Verbesserung des klinischen Verlaufs und der Leukozyten bzw. Lymphozyten aufwies.

3.1.3 Akutes hämorrhagisches Diarrhösyndrom (AHDS): Als Auslöser für ein AHDS gilt eine Überwucherung des Darms mit dem vorwiegend NetF-Toxin produzierenden Bakterium *Clostridium perfringens* [18-20]. Charakteristisch für diese Erkrankung ist das akute Einsetzen von hochgradiger hämorrhagischer Diarrhö mit oder ohne Vomitus sowie Apathie und meist Anorexie. Der deutliche Flüssigkeitsverlust führt zu Dehydratation und Hämokonzentration [18, 20]. Die meisten Hunde sprechen sehr gut auf eine intravenöse Flüssigkeitstherapie an [20]. In eine Studie wurde aufgezeigt, dass der Einsatz einer antibiotischen Therapie bei Hunden mit unkomplizierten Verläufen keinen signifikanten Einfluss auf Mortalitätsrate, Dauer des Klinikaufenthalts und Verbesserung der klinischen Anzeichen nach sich zog [21]. Weiterhin ließ sich darstellen, dass die Anzahl der für das NetF-Toxin kodierenden *Clostridium perfringens*-Stämme am Tag 7 nach Beginn einer lediglich supportiven Therapie unter die Nachweisgrenze sank [20]. Basierend auf den Ergebnissen dieser Untersuchung scheint es somit empfehlenswert, den Einsatz einer antibiotischen Therapie Hunden mit Anzeichen eines systemischen Entzündungsreaktionssyndroms oder einem inadäquaten Ansprechen auf die supportive Therapie zu limitieren [20, 21].

Bezüglich der Wirksamkeit von Probiotika wurde in einer klinischen Studie mit 25 Hunden mit AHDS ohne Anzeichen einer Septikämie eine Patientengruppe (PRO) zusätzlich zur supportiven Therapie ein multistämmiges Probiotikum (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. thermophilus*, 225 10⁹ KBE für 1-10 kg KGW; 450 10⁹ KBE für 10-20 kg KGW; 900 10⁹ KBE für 20-40 kg KGW, über 21 Tage) verabreicht und mit einer Placebogruppe (PLAC) verglichen (40). Die PRO-Gruppe erfuhr nach 3 Tagen eine signifikante klinische Verbesserung, während diese in der PLAC-Gruppe nach 4 Tagen erzielt wurde ($p = 0,002$, jeweils im Vergleich zu Tag 0). In der PRO-Gruppe waren die Konzentrationen von *Blautia* [$< 0,001$] und *Faecalibacterium*, [$p = 0,035$] am Tag 7 im Vergleich zu Tag 0 signifikant angestiegen, welches auf eine schnelle Normalisierung des Mikrobioms hindeutet. Dahingegen zeigten die PLAC-Hunde keinen Anstieg des letztgenannten Stammes während der gesamten Studiendauer. Es ließ sich in dieser Gruppe lediglich an Tag 21 eine signifikante Zunahme

der *Blautia*-Konzentration nachweisen. In der PRO-Gruppe war die Menge der *C. perfringens* Enterotoxine kodierenden Bakterienstämme am Tag 7 signifikant niedriger als am Tag 0 ($p = 0,011$), während in der PLAC-Gruppe keine Reduktion dieser Stämme ersichtlich war. NetF kodierende Bakterienstämme waren in beiden Gruppen initial nachweisbar, jedoch lag die Anzahl am Tag 7 in beiden Gruppen unterhalb der Nachweisgrenze [20].

Fazit Bei Hunden mit aseptischem AHDS, die das in der genannten Studie multistämmige Probiotikum erhielten, ließ sich sowohl ein klinischer Unterschied zur Placebogruppe und als auch eine positive Wirkung auf das intestinale Mikrobiom aufzeigen. Der Nachweis von NetF kodierender *C. perfringens*-Stämme war transient und selbstlimitierend. Es scheint empfehlenswert, den Einsatz eines Antibiotikums auf Hunde mit Anzeichen einer bakteriellen Translokation und/oder klinischer Verschlechterung zu limitieren.

3.1.4. Endoparasiten/Protozoen-assoziierte gastrointestinale Erkrankungen: Eine Infektion mit Endoparasiten/Protozoen kann zu akuter oder chronischer, milder bis moderater Diarrhö und abdominaler Dolenz sowie Gewichtsverlust führen. Hierbei sind auch subklinische Verläufe möglich [51, 54, 55]. In Anbetracht eines positiven Befunds von *Giardia duodenalis* rät das Expertengremium der European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) nur bei klinisch auffälligen Hunden, bei Hunden, die in Kontakt zu Risikopatienten (Kleinkinder, immunkompromittierte Menschen) stehen oder bei einer erhöhten Gefahr der Infektion von anderen Tieren (Hundezuchten, Tierheimen) zu einer Behandlung. Es stehen Wirkstoffe - beispielsweise Fenbendazol - zur Behandlung von *Giardia duodenalis* oder Helminthosen zur Verfügung, deren Wirksamkeit bei geringem Risiko für unerwünschte Wirkungen nachgewiesen ist [56, 57].

Bezüglich der Effektivität von Probiotika, zeigte sich in einer Studie, dass eine 6-wöchige Verabreichung von *E. faecium* SF68 NCIMB10415 (5×10^8 KBE/Tag) bei Hunden mit einer *Giardia duodenalis*-Infektion keinen Effekt auf Zystenausscheidung, fäkale Antigenausscheidung und Ig-A-Konzentration hatte oder eine stärkere leukozytäre Phagozytentätigkeit induzierte [58].

Eine weitere Untersuchung bei Tierheimhunden mit Diarrhö fand in Bezug auf deren Parasitenprävalenz keine Unterschiede zwischen einer Probiotika+Metronidazol-Gruppe (*E. faecium* SF 68 NCIMB 4b1705 mit 5×10^8 KBE/Dosis 1 x tgl. für 7 Tage) und einer Kontrollgruppe (Metronidazol+Placebo, jeweils n=16 (49)). Am Tag 7 wurde hier bei 37,5% der mit Metronidazol behandelten Hunde und bei 68,8% der mit der dualen Therapie behandelten Individuen eine physiologische Kotkonsistenz festgestellt. Es ließ sich dabei jedoch kein signifikanter Unterschied darstellen ($p = 0,1556$). Der prozentuale Anteil der Tage mit unauffälligem Stuhlgang war bei den Hunden der Probiotika+Metronidazol-Gruppe, mit 65,6% signifikant höher ($p = 0,0496$) als bei den Hunden, denen nur Metronidazol verabreicht wurde (46,9%). Zwei Hunde der Probiotika+Metronidazol-Gruppe waren mit Giardien infiziert; im Verlauf der Behandlung konnte eine Elimination der Zystenausscheidung sowie eine Abheilung der Diarrhö verzeichnet werden. Dagegen zeigten von 7 Giardien-positiven Hunden der Kontrollgruppe an Tag 7 immer noch 6 Individuen (85,7%) eine Zystenausscheidung, 4 dieser Hunde wiesen weiterhin Diarrhö auf. Die AutorInnen schlussfolgern, dass die Zugabe des Probiotikums SF68 zu einer Metronidazolbehandlung und einer standardisierten Diät den klinischen Verlauf bei Hunden mit Diarrhö positiv beeinflussen kann [59].

Weiterhin wurden in einer Studie Hunde mit einer Ancylostomatidose (Hakenwurminfektion) über 28 Tage mit einem Probiotikum bestehend aus *L. acidophilus* ATCC 4536, *L. plantarum* ATCC

8014 und *L. delbrueckii* UFV H2B20 (1×10^6 KBE/ml) behandelt. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe zeigte die Probiotikagruppe eine signifikante Reduktion des Anteils an Eiern/Gramm im Kot (88,83% / $p < 0,05$) sowie einen Anstieg der Leukozyten- und Lymphozytenzahlen. Die AutorInnen unterstreichen den potenziellen Nutzen von Laktobazillus-Arten bei der Bekämpfung der kaninen Ancylostomatidose [60].

Fazit Mithilfe der Behandlung mit *E. faecium* allein konnte in einer Studie bei Hunden mit einer Giardien-Infektion keine Wirkung erzielt werden. Die Kombination eines Probiotikums mit einer Metronidazolbehandlung zeigte hingegen in einer weiteren Studie positive Effekte im Vergleich zur alleinigen Metronidazoltherapie auf. Die Behandlung mit Laktobazillus-Spezies birgt gemäß einer Studie einen potenziellen Nutzen bei Hunden mit Ancylostomatidose (Hakenwurminfektion).

3.1.5 Antibiotika-assoziierte gastrointestinale Anzeichen: Eine antibiotische Therapie ist bei einer Vielzahl verschiedener chirurgischer oder medizinischer Fälle indiziert. In deren Folge ist die Entwicklung antibiotika-assoziiertes gastrointestinales Anzeichen sowie intestinaler Dysbiose möglich [24, 61].

Der Einsatz von Probiotika betreffend, wurde in einer Studie Hunden, im Rahmen einer Hemilaminektomie zusätzlich zu einer intraoperativen Cefazolinbehandlung zweimalig (~12 und 24 h nach Anästhesie) ein multistämmiges Probiotikum (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. thermophilus*, eine Kapsel pro Dosis, $112,5 \times 10^9$ KBE pro Kapsel) verabreicht. Im Vergleich zu einer Placebogruppe konnte hier kein signifikanter Effekt auf den Dysbiose Index (DI) dargestellt werden [62].

Eine weitere Studie evaluierte die Gabe eines multistämmigen Probiotikums (*B. bifidum*, *E. faecium*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum* mit 1×10^{10} KBE/Tablette plus *Saccharomyces boulardii* mit 1×10^{10} KBE/Tablette über 3 Wochen) in Kombination mit einer antibiotischen Therapie aus Enrofloxacin und Metronidazol bei gesunden Hunden im Vergleich zu einer Placebogruppe (Enrofloxacin/Metronidazol + Placebo, n=22). Hierbei lag ein Abstand von einer Stunde zwischen der Verabreichung der Antibiotika und des Synbiotikums bzw. des Placebos. Die Synbiotikagruppe zeigte seltener eine reduzierte Futteraufnahme, mildere antibiotika-assoziierte gastrointestinale Anzeichen [61] sowie eine schnellere Normalisierung der Komposition des fäkalen Mikrobioms [63] als die Placebogruppe.

Zudem ließ sich in einer klinischen Untersuchung an 24 Hunden aufzeigen, dass die Verabreichung von *Saccharomyces boulardii* zusätzlich zu einer Behandlung mit Lincomycin das Auftreten antibiotika-assoziiertes Diarrhö verhinderte [64].

Fazit Antibiotika-assoziierte gastrointestinale Anzeichen und eine intestinale Dysbiose konnten in verschiedenen Studien infolge der Verabreichung eines multistämmigen Synbiotikums oder von Hefen wie *Saccharomyces boulardii* positiv beeinflusst werden. Der Zeitabstand zwischen Antibiotika- und Probiotikumgabe lag bei 1-2 Stunden.

3.2 Chronische gastrointestinale Erkrankungen

Bei einer chronischen Enteropathie bestehen gastrointestinale Anzeichen länger als 3 Wochen oder treten intermittierend auf. Hierbei finden sich ggf. histopathologische Hinweise auf eine Entzündung des Magendarmtrakts. Metabolische, infektiöse oder neoplastische Ursachen sind hingegen ausgeschlossen [65]. Die Literatur unterscheidet diese Enteropathien klassischerweise anhand ihres Ansprechens auf eine Therapie in Futtermittel-responsive, Antibiotika-responsive, Immunsuppressiva-responsive (Inflammatory Bowel Disease, IBD) oder nicht-ansprechende Enteropathien [66-70]. Diese Einteilung wird jedoch mittlerweile als überholt angesehen, da es sich um eine meist multifaktorielle Erkrankung handelt, bei welcher ein multimodaler Therapieansatz meist mehr Sinn macht. Zum klinischen Bild gehören Diarrhö, Vomitus, Gewichtsverlust und/oder Hyporexie/Anorexie [71]. Bei Hunden mit einer chronischen Enteropathie liegt zudem in ca. 60% der Fälle eine intestinale Dysbiose vor. Unklar ist derzeit, inwiefern diese Dysbiose eine Darmentzündung verursacht, ob diese eine Folge der Entzündung ist oder es sich um eine Kombination beider Mechanismen handelt [72].

3.2.1 Futtermittel-responsive chronische Enteropathie: Bei Hunden mit einer Futtermittel-responsiven, chronischen Enteropathie erfolgt eine klinische Verbesserung infolge einer Futtermodifikation (Eliminationsdiät, hydrolysierte Diät, Fasern, etc., [73, 74]).

In einer Studie bei 12 betroffenen Hunden ließ sich mithilfe einer 6-wöchigen Behandlung mit *E. faecium* (NCIMB 10415 E1707, 1×10^9 KBE) in Form eines Synbiotikums mit Fructooligosacchariden und Gummi Arabaci weder auf den klinischen Verlauf (Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index) noch auf unterschiedliche Laborparameter (Histologie, duodenale und kolonale Genexpression von ausgewählten Genen assoziiert mit spezifischen T-Helfer Lymphozyten Linien) signifikante Effekte erzielen [75].

Auch in einer *ex-vivo* Studie wurde durch die Zugabe von *E. faecium* auf Duodenalschleimhaut keine erfolgreiche Wirkung auf die Gen- oder Proteinexpression von Inflammasomen beobachtet [76].

Eine weitere Studie an 21 Hunden zeigte auf, dass sich der klinische Verlauf (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index) in der Patientengruppe nach 4-wöchiger Verabreichung einer Mischung aus *L. acidophilus* und *L. johnsonii* (*L. acidophilus* NCC2628 und NCC2766, *L. johnsonii* NCC2767, 10^{10} KBE/g) zusätzlich zu einer Eliminationsdiät auf ähnliche Weise verbesserte wie in der Gruppe mit alleiniger Diät. In der Probiotikagruppe ließ sich eine Reduktion der duodenalen IL-10 mRNA-Konzentrationen aufzeigen, während die IFN- γ mRNA-Konzentrationen im Kolon anstiegen. Die Anzahl an *Enterobacteriaceae* reduzierte sich sowohl in der Probiotika- als auch der Placebogruppe, wohingegen sich bei den Hunden der Probiotikagruppe ein signifikanter Anstieg von *Lactobacillus* ssp. darstellen lies [77].

Eine kleine Studie mit 6 Hunden konnte eine Verbesserung der Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz infolge einer 12-wöchigen Gabe von *L. acidophilus* (DSM13241, 6×10^6 KBE/g) bei Hunden mit einer nicht-spezifischen Futtermittelsensibilität aufzeigen. Die Anzahl der Laktobazillen und Bifidobakterien im Kot zeigte eine Steigerung auf. Gleichzeitig lag eine nicht-signifikante Reduktion von *C. perfringens* und *E. coli* vor [78].

Fazit Infolge der Verabreichung von *L. acidophilus* erfuhren Hunde einer kleinen Studie mit Futtermittel-responsiver Enteropathie Verbesserungen klinischer Parameter. Eine vergleichende Studie zeigte eine vergleichbare Verbesserung von Hunden mit Diät- und Probiotikabehandlung und Individuen mit alleiniger Diät.

3.2.2 Antibiotika-responsive Enteropathie: Bei Antibiotika-responsiver Enteropathie zeigt sich eine klinische Verbesserung infolge einer anitbiotischen Behandlung, meist treten die klinischen Symptome, insbesondere Durchfall, nach Beendigung der Therapie wieder auf [72, 79, 80].

Bezüglich der Effektivität von Probiotika in diesem Zusammenhang ließ sich in einer Studie an 9 Hunden mit Tylosin-responsiver, chronische Enteropathie, nach 4-wöchiger Verabreichung von *L. rhamnosus* GG (5×10^9 KBE/Kapsel) keine Verlängerung der klinischen unauffälligen, Antibiotika-freien Phase erzielen [81].

Fazit *L. rhamnosus* GG verhinderte im Rahmen einer klinischen Studie das Wiederauftreten Tylosin-responsiver Diarrhö nicht.

3.2.3 Inflammatory Bowel Disease (IBD): Die Diagnose einer kaninen IBD setzt sich aus dem histologischen Nachweis entzündlicher Prozesse in der Darmwand in Kombination mit einem Ansprechen auf eine antientzündliche Therapie zusammen [82, 83].

Hinsichtlich der Wirksamkeit von Probiotika bei IBD zeigt eine Studie einen positiven Effekt der 2-monatigen Behandlung von 20 Hunden mit einem multistämmigen Probiotikum (4 Stämme *Lactobacillus*, 3 Stämme *Bifidobacterium*, 1 Stamm *Streptococcus*, 112 bis 225×10^9 gefriergetrocknete Bakterien/10 kg) auf. Die Evaluation beinhaltete den Vergleich des klinischen Verlaufs anhand des Canine Inflammatory Bowel Disease Index, der Normalisierung einer Dysbiose und der Reduktion von Entzündungszellen in duodenalen Biopsien mit einer Kontrollgruppe (Therapie mit Metronidazol und Prednisolon, [84]). Diese Studie konnte zudem zeigen, dass die Verabreichung eines Probiotikums zu einer Steigerung von Gewebemarkern, die ein toleranteres intestinales Mikromilieu widerspiegeln (z.B. Erhöhung der TGF- β und FoxP31 Regulations-T-Zellen), beitragen kann [84]. Weiterhin lagen hier Hinweise auf die Modulation intestinaler Epithelzellpermeabilität infolge einer Modifikation der Expression von „Tight Junctions“ wie E-Cadherin, Occludin und Zonulin vor [84, 85].

Eine weitere, Placebo-kontrollierte Studie evaluierte den Einsatz von *Saccharomyces boulardii* (1×10^9 KBE/kg, über 60 Tage) bei 20 Hunden mit oder ohne Protein-Verlust-Enteropathie. Beim Vergleich der Gruppen zeigte sich eine signifikante Verbesserung des klinischen Verlaufs gemessen anhand des Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index (Tag 45 $p < 0,05$; Tag 60 $p < 0,01$), der Kotabsatzfrequenz (Tag 60 $p > 0,05$) und des Körper-Konditions-Scores (Tag 60 $p < 0,05$). Hunde mit einer Protein-Verlust-Enteropathie zeigten einen signifikanten Anstieg des Serum-Albuminspiegels [86].

Fazit Basierend auf 2 Studien zeigten sowohl ein multistämmiges Probiotikum als auch *Saccharomyces boulardii* das Potential, zu einer klinischen Verbesserung von IBD betroffener Hunde sowie einer positiven Modifikation der Entzündungsprozesse beizutragen.

4. Fazit für die Praxis

Probiotika bergen als Therapeutikum sowohl in Human- als auch der Veterinärmedizin ein gewisses Potential. Verschiedene Möglichkeiten der Zusammensetzung, von einzelstämmigen bis zu multistämmigen Probiotika mit bakteriellen als auch von Pilzen stammenden Mikroorganismen stehen für die Behandlung zur Verfügung.

Zum Einsatz von Probiotika und Probiotika-verwandter Produkte bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes liegen mittlerweile verschiedenste Studien vor. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen ein gewisses Potential dieser Substanzen auf und ergeben so die Möglichkeit, Probiotika und Probiotika-verwandte Produkte bei verschiedenen Erkrankungen bspw. beim akuten unkomplizierten Durchfall als Therapieoption anzusprechen. Der Einsatz eines multistämmigen Probiotikums beim AHDS zeigte in einer Studie positive Effekte, so dass hier bei Bestätigung dieser Ergebnisse in zukünftigen Untersuchungen möglicherweise ein gewisses Potential zu liegen scheint. Hingegen scheint basierend auf initialen Studien die Effektivität von Probiotika bei kaniner Giardiose nicht vielversprechend zu sein. Bei kaniner IBD konnte die Behandlung mit multistämmigen Probiotika eine Verbesserung des klinischen Verlaufs erzielen, welches bei Futtermittel-responsiven Enteropathien nicht der Fall war. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, eine individuelle Auswahl eines Probiotikums vorzunehmen, bei der sowohl die genaue Zusammensetzung des Präparats als auch die spezifische Indikation Berücksichtigung finden.

Tabelle 2: Einsatz von Probiotika und Probiotika-verwandter Produkte bei gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes			
Table 2: The use of probiotics and probiotics-related products in canine gastrointestinal diseases			
Erkrankung Disease	Studien Design Study design Probiotikum/Probiotika-verwandtes Produkt Probiotic/probiotic-related product	Ergebnisse Results	Referenz Reference
Akuter unkomplizierter Durchfall (AD) Acute uncomplicated diarrhea (AD)	134 junge und gesunde Hunde, welche von einem Privathaushalt in ein Tierheim umgesiedelt wurden Gruppen: 10^3 (definiert als Kontrollgruppe), 3 Gruppen mit $1,5 \times 10^7$, $1,5 \times 10^8$, $1,5 \times 10^9$ KBE <i>Bifidobacterium animalis</i> (B.) AHC7 1 x tgl. über 5 Wochen vor der Umsiedelung und für die ersten 3 Wochen nach der Umsiedelung in das Tierheim	Die Menge von AHC7 konnte im Vergleich der Gruppen mit ansteigender Menge an Probiotikum signifikant ansteigend in allen 3 Gruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe nachgewiesen werden Die Kotqualität war signifikant besser (im Vergleich zur Kontrollgruppe) in Woche 3 ($p < 0,05$) und während der 3 Wochen ($p < 0,03$) nach der Unterbringung Signifikant weniger Hunde mit AHC7 zeigten auffällige Kotqualität während der ersten Woche nach Umsiedelung im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p < 0,08$)	[87]
	60 Hunde mit akuter Diarrö Gruppen: 3 vom Hund stammende <i>Lactobacillus</i> ssp. (L.) in Kombination (<i>L. fermentum</i> VET 9A, <i>L. rhamnosus</i> VET16A und <i>L. plantarum</i> VET14A), 2×10^9 KBE/ml mit 2000 ml/Hund 1 x tgl. versus Placebo	Schnellere Normalisierung der Kotkonsistenz in der Probiotika- versus Placebogruppe Verbesserung des Allgemeinbefindens über Erhalt des Appetits und Reduktion von Erbrechen durch das Probiotikum im Vergleich zur Placebothherapie Geringere Menge an <i>Clostridium perfringens</i> und <i>Enterococcus faecium</i> (<i>E. faecium</i>) in der Probiotika-gruppe nachweisbar	[11]
	773 Hunde, die in einem Tierheim aufgenommen wurden Gruppen: <i>E. faecium</i> NCIMB 10415 4b1707, 2×10^9 KBE/Kapsel plus FOS, Gummiarabikum 1 x tgl. während des Aufenthalts im Tierheim versus Placebo	Weniger Tage mit Durchfall in der Synbiotika- (2%) versus Placebogruppe (3,2%), erfasst während des Zeitraums des Tierheimaufenthalts Auftreten von Durchfall in den ersten 14 Tagen des Aufenthalts im Tierheim geringer in der Synbiotika- (18,8%) versus Placebogruppe (27,2%) Das Auftreten von ≥ 2 Tagen mit Durchfall in den ersten 14 Tagen des Aufenthalts im Tierheim geringer in der Synbiotika- (4,6%) versus Placebogruppe (8,0%)	[46]
	182 gesunde Hunde, welche im Tierheim lebten Gruppen: <i>E. faecium</i> SF68, $2,1 \times 10^9$ KBE/g/Tag für 4 Wochen und Wechsel der Therapie für weitere 4 Wochen nach einer Woche Pause versus Placebo	Kein Unterschied zwischen beiden Gruppen hinsichtlich Kotkonsistenz und dem Nachweis von Endoparasiten	[50]
	31 Hunde mit akuten gastrointestinalen Symptomen Gruppen: <i>B. animalis</i> AHC7, 2×10^{10} KBE/Tag für maximal 2 Wochen bis Ausheilung des Durchfalls versus Placebo	Schnellere Ausheilung des Durchfalls in der Probiotika- (3,9 Tage) versus Placebogruppe (6,6 Tage) Anteil der Hunde, welche Metronidazol erhielten kleiner in der Probiotika- (38,5%) versus Placebogruppe (50,0%)	[48]

	<p>36 Hunde mit akuten gastrointestinalen Symptomen (Durchfall +/- Erbrechen)</p> <p>Gruppen: <i>L. acidophilus</i> (1 x 35 Milliarden lebende Stämme/ml) und <i>Pediococcus acidilactici</i>, <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Bacillus licheniformis</i> und <i>L. farciminis</i> (jeweils 2 x 85 Milliarden lebende Stämme/ml), 3 x tgl. gestartet mit der doppelten Dosis bis Normalisierung des Kots versus Placebo</p>	<p>Signifikant schnellere Normalisierung der Kotkonsistenz in der Probiotika- (1,3 Tage) versus Placebogruppe (2,2)</p> <p>Die Zeit von Beginn der Therapie bis zum letzten Auftreten von Erbrechen war in beiden Gruppen nahezu gleich</p>	[47]
	<p>148 Hunde mit akuten Anzeichen gastrointestinaler Symptome</p> <p>Gruppen: <i>E. faecium</i> 4b1707, 2 x 10⁸ KBE/g plus Kaolin, Montmorillonite Clay, Psyllium, Pektin, Betaglukan versus Placebo</p>	<p>Signifikant kürzere Durchfalldauer in Synbiotika- (32 Std.) versus Placebogruppe (47 Std.)</p> <p>Weniger Hunde mit zusätzlicher Therapie wegen ausbleibender Besserung oder klinischer Verschlechterung in Synbiotika- (3,5%) versus Placebogruppe (14,8%)</p>	[49]
	<p>16 gesunde Hunde</p> <p>Gruppen: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (0,12 g/Hund/Tag) versus Placebo; alle Hunde wurden mit einer Diät mit einem geringen Anteil an Proteinen und Fasern für 21 Tage gefüttert und in Folge auf eine Diät mit hohem Gehalt an Proteinen und Fasern bis Tag 49 umgestellt</p>	<p>Probiotikum ohne signifikanten Effekt auf die Verdaulichkeit der Diät</p> <p>In der Probiotikagruppe geringere fäkale Konzentration an biogenen Aminen (Tag 21 und 49), Ammoniak (Tag 23) und aromatischen Verbindungen, höhere Konzentration an Butyrat im Vergleich zur Placebogruppe</p> <p>Dysbiose Index (DI) in Probiotikagruppe niedriger als in der Placebogruppe</p> <p>Relativ höhere Häufigkeit von <i>Bifidobacterium</i> (Tag 35 und 49) und <i>Turicibacter</i></p> <p>Relativ geringere Häufigkeit von <i>Lactobacillus</i> Genera und <i>Escherichia coli</i> wurde nachgewiesen</p> <p>Die Analyse der Beta Diversität ergab eine stärkere Modulation des Mikrobioms durch Probiotika am Tag 49 und eine beginnende Modulation am Tag 21 im Vergleich zu Placebo</p>	[88]
<p>Kanine Parvovirose</p> <p>Canine parvovirose</p>	<p>20 Hunde mit Parvovirusinfektion</p> <p>Gruppen: <i>Streptococcus thermophilus</i> BT01, <i>B. breve</i> BB02, <i>B. longum</i> BL03, <i>B. infantis</i> BI04, <i>L. acidophilus</i> BA05, <i>L. plantarum</i> BP06, <i>L. paracasei</i> BP07, <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>, 450 x 10⁹ KBE/Tag mit symptomatischer Therapie (Infusionstherapie, Metoclopramid, Vitamin K, C, B-Komplex) und Antibiose (Ampicillin i.v. u./od. Gentamicin i.v.) mindestens über 1 bis 3 Wochen versus symptomatische Therapie und Antibiose ohne Probiotika (Kontrollgruppe)</p>	<p>Prozentsatz an überlebenden Hunden in der Probiotika- (90%) höher als in Kontrollgruppe (70%) (nicht statistisch signifikant)</p> <p>Signifikant schnellere klinische Verbesserung in der Probiotika- versus Kontrollgruppe</p> <p>Die Leukozytenpopulation und insbesondere die Lymphozytenpopulation war bei den Hunden in der Probiotikagruppe 5 Tage nach der Behandlung signifikant höher im Vergleich zur Kontrollgruppe</p>	[53]
<p>Akutes hämorrhagisches Diarrhösyndrom (AHDS)</p> <p>Acute hemorrhagic diarrhoea syndrome (AHDS)</p>	<p>25 Hunde mit AHDS (aseptisch)</p> <p>Gruppen: <i>L. paracasei</i>, <i>L. plantarum</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>, <i>B. longum</i>, <i>B. infantis</i>, <i>B. breve</i>, <i>B. thermophilus</i> über 21 Tage versus Placebo</p>	<p>Schnellere klinische Verbesserung (1 Tag) in der Probiotika- versus Placebogruppe</p> <p>Schnellere Normalisierung des intestinalen Mikrobioms in der Probiotikagruppe</p> <p>Nachweis von <i>Clostridium perfringens</i> Stämmen kodierend für Enterotoxin in der Probiotikagruppe signifikant schneller negativ</p>	[20]

<p>Endoparasiten-assoziierte gastrointestinale Erkrankungen/Giardiose</p> <p>Endoparasites-related gastrointestinal diseases/Giardiasis</p>	<p>20 Hunde mit Giardiose</p> <p>Gruppen: <i>E. faecium</i> SF68 NCIMB10415, 5 x 10⁸ KBE/Tag über 6 Wochen mit jeder Mahlzeit gefolgt von einem Tausch der Therapie über weitere 6 Wochen im Vergleich zu Placebo</p>	<p>Kein Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich Zystenausscheidung, fäkaler Antigen Nachweis, fäkale Immunglobulin A Konzentration und Leukozyten-Phagozyten-Aktivität</p>	[58]
	<p>32 Hunde mit Giardiose</p> <p>Gruppen: Metronidazol + <i>E. faecium</i> SF68 NCIMB 10415 4b1705, 1 x 10¹² KBE/kg über 7 Tage versus Metronidazol + Placebo</p>	<p>Kein Unterschied des positiven Nachweises von Giardien zwischen den Gruppen (gemessen vor und nach Therapie)</p> <p>Am Tag 7 normale Kotkonsistenz bei 37,5 % der Hunde mit Metronidazol + Placebo-Therapie und bei 68,8 % der Hunde Metronidazol + Probiotikum-Therapie (kein signifikanter Unterschied)</p> <p>Der Prozentsatz an Tagen mit normaler Kotkonsistenz war in der Gruppe Metronidazol + Probiotikum signifikant höher (65,5%) versus Metronidazol + Placebo-Therapie (46,9%)</p> <p>Durch Metronidazol + Probiotikum ergab sich eine Elimination von Giardien Zysten und ein Ausheilen des Durchfalls bei 2 positiven getesteten Hunden (gemessen vor und nach Therapie). Durch Metronidazol + Placebo ergab sich eine Elimination von Giardien Zysten bei 1 Hund (weiterhin positiv waren 85,7%). 4 Hunde dieser Gruppe zeigten an diesem Tag Durchfall</p>	[59]
	<p>10 Hunde mit einer Ancylostomatidose (Hakenwurminfektion)</p> <p>Gruppen: <i>L. acidophilus</i> ATCC 4536, <i>L. plantarum</i> ATCC 8014, <i>L. delbrueckii</i> UFV H2B20 mit 1 x 10⁶ KBE/ml über 28 Tage versus keine Therapie (Kontrollgruppe)</p>	<p>Geringere Anzahl an Eiern/g Kot in der Probiotika- versus Kontrollgruppe am Tag 28</p> <p>Langsamer Anstieg der Anzahl an Eiern/g Kot nach Absetzen der Therapie mit Probiotika (Vergleich Tag 35 und 42 zu Tag 28)</p> <p>Höhere Anzahl an Leukozyten und Lymphozyten in der Probiotika- versus Kontrollgruppe (Vergleich Tag 0 und 14 zu Tag 28)</p>	[60]
<p>Antibiotika-assoziierte gastrointestinale Symptome</p> <p>Antibiotics-related gastrointestinal diseases</p>	<p>20 Hunde mit Cefazolin perioperativ (Hemilaminektomie)</p> <p>Gruppen: zweimalige Gabe (~12 und 24 nach Anästhesie) eines Probiotikums mit 8 Bakterienstämmen: <i>L. paracasei</i>, <i>L. plantarum</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>, <i>B. longum</i>, <i>B. infantis</i>, <i>B. breve</i>, <i>B. thermophilus</i>, eine Kapsel pro Dosis, 112,5 x10⁹ pro Kapsel versus Placebo</p>	<p>Die Menge an <i>Blautia</i> sank 48 Std. nach Therapiebeginn in der Placebo- und nicht in der Probiotikagruppe ab</p> <p>Der DI war 48 Std. nach Therapiebeginn in der Probiotikagruppe höher, kein Unterschied zu Placebo</p>	[62]
	<p>22 gesunde Hunde</p> <p>Gruppen: Verabreichung von Enrofloxacin und Metronidazol gefolgt von einer Verabreichung von <i>B. bifidum</i>, <i>E. faecium</i>, <i>Streptococcus thermophilus</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>L. bulgaricus</i>, <i>L. casei</i>, <i>L. plantarum</i> mit 1 x 10¹⁰ KBE/Tablette plus <i>Saccharomyces boulardii</i> mit 1 x 10¹⁰ KBE/Tablette eine Stunde später über 3 Wochen versus Placebo, 8 Wochen Pause, cross over</p>	<p>Appetit war in beiden Zeiträumen in der Probiotika-besser als in der Placebogruppe</p> <p>Kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Auftretens von Erbrechen und Durchfall zwischen den Gruppen</p>	[61]

	<p>22 gesunde Hunde mit Metronidazol und Enrofloxacin</p> <p>Gruppen: 3 Studienphasen (Periode vor Therapie, Therapie und Auswaschung), <i>B. bifidum</i>, <i>E. faecium</i>, <i>Streptococcus thermophilus</i>, und <i>L. acidophilus</i>, <i>L. bulgaricus</i>, <i>L. casei</i>, und <i>L. plantarum</i>, 1×10^{10} KBE/Tablette plus <i>Saccharomyces boulardii</i>, 1×10^{10} KBE/Tablette für 21 Tage versus Placebo</p>	<p>Im Vergleich führte nur die Verabreichung von Synbiotika die Beta Diversität und den DI zum Ausgangswert zurück, ebenfalls auch hinsichtlich <i>Clostridium hirano-nis</i>, <i>Faecalibacterium</i> und <i>Turicobacter</i></p> <p>Die Verabreichung der Antibiotika führte zu einer Dysbiose und einem Dysmetabolismus</p>	[63]
	<p>24 Hunde mit Lincomycin-assoziiertem Durchfall</p> <p>Gruppen: <i>Saccharomyces boulardii</i> (1000 mg/d) nach Lincomycin assoziiertem Durchfall versus <i>Saccharomyces boulardii</i> gleichzeitig mit Lincomycin versus nur Lincomycin, jeweils über 10 Tage</p>	<p>Durchfall bei alleiniger Verabreichung oder mit Probiotikum nach Lincomycin, kein Durchfall bei Lincomycin gleichzeitig mit Probiotikum</p> <p>Die Durchfalldauer war signifikant kürzer in der Gruppe Probiotika nach Lincomycin (2,9 Tage) versus Lincomycin allein (6,5 Tage)</p>	[64]
<p>Futtermittelresponsive chronische Enteropathie (FRD)</p> <p>Food-responsive chronic enteropathy (FRD)</p>	<p>21 Hunde mit FRD</p> <p>Gruppen: <i>L. acidophilus</i> NCC2628 und NCC2766, <i>L. johnsonii</i> NCC2767, 10^{10} KBE/g für 4 Wochen zusätzlich zu einer Eliminationsdiät versus Placebo</p>	<p>Kein Unterschied hinsichtlich klinischer Parameter (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index) zwischen Probiotika versus Placebo</p> <p>Duodenale IL-10 mRNA-Level sanken und kolonale IFN-γ mRNA stiegen beim Vergleich vor und nach Probiotika an</p> <p>Anzahl an <i>Lactobacillus</i> ssp. stieg beim Vergleich vor und nach Probiotika an</p>	[77]
	<p>12 Hunde mit FRD</p> <p>Gruppen: <i>E. faecium</i> NCIMB 10415 E1707, 1×10^9 KBE, mit Fructooligosacchariden und Gummi arabicum versus Placebo, jeweils zusätzlich zu einer hydrolysierten Diät für 6 Wochen</p>	<p>Es ergab sich kein Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich des klinischen Scores, histologischen Veränderungen und der Expression spezifischer Gene (TLR2/4/5/9, IL-17A, IL-22, IL-23p19, RORC, IL-2, IL-12p35, TNFa, IL-4, IFNγ, IL-10, TGFB, IL-1β, IL-18, NLRP3, casp-1, TFF1, TFF3, PPARγ) im Verlauf der Therapie</p>	[75]
	<p>26 Hunde (ex-vivo)</p> <p>Gruppen: 17 Hunde mit FRD versus 11 gesunde Hunde, Duodenalschleimhaut inkubiert mit <i>E. faecium</i> NCIMB 10415</p>	<p>Keine erfolgreiche Wirkung auf die Gen- oder Proteinexpression von Inflammasomen</p>	[76]
	<p>6 Hunde mit nicht-spezifischer Futtermittel-Sensibilität (NSS)</p> <p>Gruppen: Kontrolldiät und Kontrolldiät mit <i>L. acidophilus</i> DSM 13241 mit 6×10^6 KBE/g über 12 Wochen, gefolgt von Kontrollperiode von 4 Wochen</p>	<p>Die Behandlung mit dem Probiotikum erzielte einer Verbesserung der Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz ($p < 0,05$)</p> <p>Anstieg der Konzentrationen kultivierbarer Laktobazillen und Bifidobakterien stiegen durch Probiotika an</p> <p>Abfall der Konzentrationen von <i>Clostridium perfringens</i> und <i>Escherichia</i> ssp. in der Probiotikagruppe</p> <p>Das Ergebnis der FISH-Analyse zeigte eine stabilere bakterielle Komposition in der Probiotikagruppe</p>	[78]
	<p>12 Hunde mit FRD; 8 gesunde Hunde</p> <p>Gruppen: Hydrolysierte Diät mit <i>E. faecium</i> NCIMB 10415 4b1707 mit 1×10^9 KBE/Kapsel plus Fructooligosaccharide, Arabicum versus Placebo; 8 gesunde Hunde wurden allein mit einer hydrolysierten Diät gefüttert, Testzeitpunkte waren vor und nach 6 Wochen nach Beginn der Therapie</p>	<p>Das Synbiotikum führte zu einer schwachen Zunahme der bakteriellen Vielfalt bei erkrankten Hunden</p> <p>Kein signifikanter Unterschied in der mikrobiellen Zusammensetzung vor und nach 6 Wochen sowohl in der Synbiotika- als auch Placebogruppe bei erkrankten und gesunden Hunden</p>	[89]

<p>Antibiotika-responsive chronische Enteropathie</p> <p>Antibiotics-responsive chronic enteropathy</p>	<p>14 Hunde mit intermittierendem Durchfall über mehr als ein Jahr, welche erfolgreich mit Tylosin für 6 Monate behandelt wurden, wobei der Durchfall wieder auftrat, wenn Tylosin abgesetzt wurde</p> <p>Gruppen: <i>L. rhamnosus</i> GG, 5 x 10⁹ KBE/Kapsel, für 4 Wochen versus Tylosin versus Prednisolon</p>	<p>Tylosin erreichte eine Verbesserung des Durchfalls innerhalb von 3 Tagen bei allen Hunden, bei den meisten innerhalb von 24 Stunden</p> <p>Nach Absetzen von Tylosin trat der Durchfall bei 85,7% der Hunde innerhalb von 30 Tagen wieder auf</p> <p>Prednisolon für 3 Tage erzielte keine vollständige Verbesserung des Durchfalls</p> <p>Das Probiotikum verhinderte bei keinem der 9 behandelten Hunde das Wiederauftreten des Durchfalls</p>	[81]
<p>Immunsuppressiv-responsive chronische Diarrhö</p> <p>Inflammatory Bowel Disease (IBD)</p>	<p>20 Hunde mit diagnostizierter IBD versus 10 gesunde Hunde, Darmgewebe von 3 euthanasierten Hunden</p> <p>Gruppen: <i>L. casei</i>, <i>L. plantarum</i>, <i>L. acidophilus</i>, <i>L. delbrueckii</i> susp. <i>bulgaricus</i>, <i>B. longum</i>, <i>B. breve</i>, <i>B. infantis</i>, <i>Streptococcus sulivarius</i> susp. <i>thermophilus</i>, 112 – 225 x 10⁹/10 kg 1 x tgl. für 60 Tage versus Metronidazol plus Prednisolon, 1 mg/kg KGW/Tag, Testzeitpunkte Tag 0 und Tag 90 der Studie (Tag 90 = 30 Tage nach Abschluss der Therapie)</p>	<p>Der Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index, duodenale Histologie Scores und CD3+ Zellen waren niedriger nach Therapie in beiden Gruppen</p> <p>FoxP3+ Zellen stiegen in der Probiotikagruppe nach der Therapie an, nicht in der Metronidazol + Prednisolon-Gruppe</p> <p>TGF-β+ Zellen stiegen in beiden Gruppen nach der Therapie an, Anstieg war in der Probiotikagruppe signifikant größer</p> <p><i>Faecalibacterium</i> und <i>Turicibacter</i> signifikant niedriger an Tag 0 bei Hunden mit IBD im Vergleich zu gesunden Hunden, signifikanter Anstieg von <i>Faecalibacterium</i> in der Probiotikagruppe im Vergleich zur Metronidazol + Prednisolon-Gruppe</p>	[84]
	<p>34 Hunde mit IBD</p> <p>Gruppen: Diät plus Prednisolon ohne Probiotikum versus Diät plus Prednisolon mit Probiotikum: <i>L. plantarum</i> DSM 24730, <i>Streptococcus thermophilus</i> DSM 24731, <i>B. breve</i> DSM 24732, <i>L. paracasei</i> DSM 24733, <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> DSM 24734, <i>L. acidophilus</i> DSM 24735, <i>B. longum</i> DSM 24736, und <i>B. infantis</i> DSM 24737, 10-20 kg KGW 450 Milliarden Bakterien/Tag über 56 Tage</p>	<p>In beiden Gruppen ergab sich eine Änderung der Anzahl mukosaler Bakterien</p> <p>In beiden Gruppen ergab sich ein Anstieg der Anzahl an Gesamt-Bakterien und individuellen Spezies, die im anhaftenden Schleim zu finden sind</p> <p>In der Gruppe Diät + Prednisolon ergab sich ein Anstieg der <i>B. ssp.</i> Konzentration</p> <p>In der Gruppe Probiotikum ergab sich ein Anstieg der <i>L. ssp.</i> Konzentration</p> <p>In beiden Gruppen ergab sich eine schnelle klinische Remission, aber keine Verbesserung der Entzündung in der Histopathologie</p> <p>In der Gruppe Probiotika ergab sich eine hoch-regulierten Expression von TJPs E-Cadherin, Occludin und Zonulin</p>	[85]
<p>Chronische Enteropathie (CE)</p> <p>Chronic enteropathy (CE)</p>	<p>4 gesunde Hunde und 20 Hunde mit chronischer Enteropathie</p> <p>Gruppen: <i>Saccharomyces boulardii</i>, 1 x 10⁹ KBE/kg 2 x tgl. versus Placebo, jeweils zusätzlich zu einer Standardtherapie über 60 Tage (Monoprotein, hydrolysierte Diät, selbstgekochte Diät, Tylosin oder Metronidazol, Prednisolon 0,5- 2 mg/kg 1 x tgl. +/- andere Immunsuppressiva), gesunde Hunde erhielten das Probiotikum für 10 Tage</p>	<p>Das Probiotikum erreichte bei den gesunden Hunden einen stabilen Wert (= 10 x 10¹⁰ KBE/g Kot) in 5 Tagen und war an Tag 4 nach Absetzen nicht mehr nachweisbar, untersucht über quantitative Kulturen des Kots</p> <p>Es wurden keine Nebenwirkungen durch das Probiotikum gesehen</p> <p>Der Krankheitsaktivitätsindex, die Kotabsatzfrequenz, Kotkonsistenz und das Allgemeinbefinden verbesserten sich signifikant in der Probiotikagruppe versus Placebogruppe</p>	[86]

Erklärung zum Interessenkonflikt

Die Hauptautorin betreute eine klinische Studie, in welcher ein Synbiotikum der Firma NutraPet GmbH eingesetzt wurde. Es besteht kein Interessenskonflikt durch die genannte Beteiligung. Bei allen Koautoren besteht kein Interessenskonflikt.

Referenzen

- Allenspach K, Culverwell C, Chan D (2016):** Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases. *Vet Rec* 178(15): 368.
- Allenspach K, Rufenacht S, Sauter S, Grone A, Steffan J, Strehlau G, Gaschen F (2006):** Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with steroid-refractory inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med* 20(2): 239-244.
- Allenspach K, Wieland B, Grone A, Gaschen F (2007):** Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome. *J Vet Intern Med* 21(4): 700-708.
- Alves J, Santos A (2016):** Prevalence of *Giardia* spp. in young dogs using a combination of two diagnostic methods. *Acta Parasitol* 61(2): 261-266.
- Arslan HH (2012):** Therapeutic effects of probiotic bacteria in parvoviral enteritis in dogs. *Revue de Médecine Vétérinaire* 163 (2): 55-59.
- Bajagai YS (2016):** Probiotics in animal nutrition - Production, impact and regulation. Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- Bastos TS, de Lima DC, Souza CMM, Maiorka A, de Oliveira SG, Bittencourt LC, Felix AP (2020):** *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* reduce faecal protein catabolites concentration and odour in dogs. *BMC Vet Res* 16(1): 116.
- Bottero E, Ferriani R, Benvenuti E, Ruggiero P, Astorina S, Giraldi M, Bertoldi L, Benvenuto G, Sattin E, Gianella P, Suchodolski JS (2022):** Clinical evaluation and microbiota analysis in 9 dogs with antibiotic-responsive enteropathy: A prospective comparison study. *J Vet Intern Med* 36(4): 1220-1228.
- Bybee SN, Scorza AV, Lappin MR (2011):** Effect of the probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on presence of diarrhea in cats and dogs housed in an animal shelter. *J Vet Intern Med* 25(4): 856-860.
- Candellone A, Cerquetella M, Girolami F, Badino P, Odore R (2020):** Acute Diarrhea in Dogs: Current Management and Potential Role of Dietary Polyphenols Supplementation. *Antioxidants (Basel)* 9(8).
- Cerquetella M, Rossi G, Suchodolski JS, Schmitz SS, Allenspach K, Rodriguez-Franco F, Furlanello T, Gavazza A, Marchegiani A, Unterer S, Burgener IA, Pengo G, Jergens AE (2020):** Proposal for rational antibacterial use in the diagnosis and treatment of dogs with chronic diarrhoea. *J Small Anim Pract* 61(4): 211-215.
- Ciuca L, Pepe P, Bosco A, Caccio SM, Maurelli MP, Sannella AR, Vismarra A, Cringoli G, Kramer L, Rinaldi L, Genchi M (2021):** Effectiveness of Fenbendazole and Metronidazole Against *Giardia* Infection in Dogs Monitored for 50-Days in Home-Conditions. *Front Vet Sci* 8: 626424.

Coelho MD, Coelho FA, de Mancilha IM (2013): Probiotic therapy: a promising strategy for the control of canine hookworm. *J Parasitol Res* 2013: 430413.

D'Angelo S (2018): Effect of *Saccharomyces boulardii* in dogs with chronic enteropathies: double-blinded, placebo-controlled study. *Vet Rec* 182 (9): 258-258.

D'Angelo S, Fracassi F, Bresciani F, Galuppi R, Diana A, Linta N, Bettini G, Morini M, Pietra M (2018): Effect of *Saccharomyces boulardii* in dog with chronic enteropathies: double-blinded, placebo-controlled study. *Vet Rec* 182(9): 258.

Dandrieux JR (2016): Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? *J Small Anim Pract* 57(11): 589-599.

Ellis C, Odunayo A, Tolbert MK (2023): The use of metronidazole in acute diarrhea in dogs: a narrative review. *Top Companion Anim Med* 56-57: 100824.

FAO/WHO (2006): Probiotics in food, Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Fenimore A, Martin L, Lappin MR (2017): Evaluation of Metronidazole With and Without Enterococcus Faecium SF68 in Shelter Dogs With Diarrhea. *Top Companion Anim Med* 32(3): 100-103.

Gomez-Gallego C, Junnila J, Mannikko S, Hameenoja P, Valtonen E, Salminen S, Beasley S (2016): A canine-specific probiotic product in treating acute or intermittent diarrhea in dogs: A double-blind placebo-controlled efficacy study. *Vet Microbiol* 197: 122-128.

Guarino A, Lo Vecchio A, Dias JA, Berkley JA, Boey C, Bruzzese D, Cohen MB, Cruchet S, Liguoro I, Salazar-Lindo E, Sandhu B, Sherman PM, Shimizu T (2018): Universal Recommendations for the Management of Acute Diarrhea in Nonmalnourished Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 67(5): 586-593.

Hall EJ (2011): Antibiotic-responsive diarrhea in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41(2): 273-286.

Herstad HK, Nesheim BB, L'Abée-Lund T, Larsen S, Skancke E (2010): Effects of a probiotic intervention in acute canine gastroenteritis--a controlled clinical trial. *J Small Anim Pract* 51(1): 34-38.

Hubbard K, Skelly BJ, McKelvie J, Wood JL (2007): Risk of vomiting and diarrhoea in dogs. *Vet Rec* 161(22): 755-757.

Hwang SY (2021): Neutrophil to lymphocyte ratio as a prognostic biomarker in puppies with acute diarrhea. *J Vet Emerg Crit Care* 32: 83-89.

Jörg M. Steiner RMH, Jan S. Suchodolski, Nora Berghoff, Viktoria M. Schwierk (2011): Gastroenterologie bei Hund und Katze. Schlütersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG

Kelley RL, Minikhiem D, Kiely B, O'Mahony L, O'Sullivan D, Boileau T, Park JS (2009): Clinical benefits of probiotic canine-derived *Bifidobacterium animalis* strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea. *Vet Ther* 10(3): 121-130.

Khalid A, Khalid F, Mahreen N, Hussain SM, Shahzad MM, Khan S, Wang Z (2022): Effect of Spore-Forming Probiotics on the Poultry Production: A Review. *Food Sci Anim Resour* 42(6): 968-980.

Kleinschmidt S, Meneses F, Nolte I, Hewicker-Trautwein M (2007): Characterization of mast cell numbers and subtypes in biopsies from the gastrointestinal tract of dogs with lymphocytic-plasmacytic or eosinophilic gastroenterocolitis. *Vet Immunol Immunopathol* 120(3-4): 80-92.

Kwoji ID, Aiyegoro OA, Okpeku M, Adeleke MA (2021): Multi-Strain Probiotics: Synergy among Isolates Enhances Biological Activities. *Biology (Basel)* 10(4).

Leipig-Rudolph M, Busch K, Prescott JF, Mehdizadeh Gohari I, Leutenegger CM, Hermanns W, Wolf G, Hartmann K, Verspohl J, Unterer S (2018): Intestinal lesions in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome associated with netF-positive *Clostridium perfringens* type A. *J Vet Diagn Invest* 30(4): 495-503.

Lucchetti B, Lane SL, Koenig A, Good J, Suchodolski JS, Brainard BM (2021): Effects of a perioperative antibiotic and veterinary probiotic on fecal dysbiosis index in dogs. *Can Vet J* 62(3): 240-246.

Mandigers PJ, Biourge V, van den Ingh TS, Ankringa N, German AJ (2010): A randomized, open-label, positively-controlled field trial of a hydrolyzed protein diet in dogs with chronic small bowel enteropathy. *J Vet Intern Med* 24(6): 1350-1357.

Mazzaferro EM (2020): Update on Canine Parvoviral Enteritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 50(6): 1307-1325.

Mehlhorn H, Hanser E, Harder A, Hansen O, Mencke N, Schaper R (2003): Synergistic effects of pyrantel and the febantel metabolite fenbendazole on adult *Toxocara canis*. *Parasitol Res* 90 Suppl 3: S151-153.

Minamoto Y, Dhanani N, Markel ME, Steiner JM, Suchodolski JS (2014): Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Vet Microbiol* 174(3-4): 463-473.

Moon BY, Ali MS, Kwon DH, Heo YE, Hwang YJ, Kim JI, Lee YJ, Yoon SS, Moon DC, Lim SK (2023): Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Healthy Dogs and Cats in South Korea, 2020-2022. *Antibiotics (Basel)* 13(1).

MUSTAFA SINAN AKTAS MKB, YUNUSEMRE OZKANLAR (2007): Efficacy of *Saccharomyces boulardii* as a probiotic in dogs with Lincomycin induced diarrhoea. *Bull Vet Inst Pulawy* 51: 365-369.

Nixon SL, Rose L, Muller AT (2019): Efficacy of an orally administered anti-diarrheal probiotic paste (Pro-Kolin Advanced) in dogs with acute diarrhea: A randomized, placebo-controlled, double-blinded clinical study. *J Vet Intern Med* 33(3): 1286-1294.

Pascher M, Hellweg P, Khol-Parisini A, Zentek J (2008): Effects of a probiotic *Lactobacillus acidophilus* strain on feed tolerance in dogs with non-specific dietary sensitivity. *Arch Anim Nutr* 62(2): 107-116.

Pilla R, Gaschen FP, Barr JW, Olson E, Honneffer J, Guard BC, Blake AB, Villanueva D, Khattab MR, AlShawaqfeh MK, Lidbury JA, Steiner JM, Suchodolski JS (2020): Effects of

metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. *J Vet Intern Med* 34(5): 1853-1866.

Pilla R, Suchodolski JS (2019): The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. *Front Vet Sci* 6: 498.

Pugh CA, Bronsvort BMC, Handel IG, Query D, Rose E, Summers KM, Clements DN (2017): Incidence rates and risk factor analyses for owner reported vomiting and diarrhoea in Labrador Retrievers - findings from the Dogslife Cohort. *Prev Vet Med* 140: 19-29.

Reagan KL, Wheat LJ, Sykes JE (2020): Effect of an oral probiotic nutraceutical containing *Aspergillus*-derived ingredients on a serum and urine galactomannan antigen assay in dogs. *Vet J* 265: 105551.

Rose L, Rose J, Gosling S, Holmes M (2017): Efficacy of a Probiotic-Prebiotic Supplement on Incidence of Diarrhea in a Dog Shelter: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Vet Intern Med* 31(2): 377-382.

Rossi G, Pengo G, Caldin M, Palumbo Piccionello A, Steiner JM, Cohen ND, Jergens AE, Suchodolski JS (2014): Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One* 9(4): e94699.

Saevik BK, Skancke EM, Trangerud C (2012): A longitudinal study on diarrhoea and vomiting in young dogs of four large breeds. *Acta Vet Scand* 54: 8.

Sauter SN, Benyacoub J, Allenspach K, Gaschen F, Ontsouka E, Reuteler G, Cavadini C, Knorr R, Blum JW (2006): Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 90(7-8): 269-277.

Schmitz S, Glanemann B, Garden OA, Brooks H, Chang YM, Werling D, Allenspach K (2015): A prospective, randomized, blinded, placebo-controlled pilot study on the effect of *Enterococcus faecium* on clinical activity and intestinal gene expression in canine food-responsive chronic enteropathy. *J Vet Intern Med* 29(2): 533-543.

Schmitz S, Henrich M, Neiger R, Werling D, Allenspach K (2014): Stimulation of duodenal biopsies and whole blood from dogs with food-responsive chronic enteropathy and healthy dogs with Toll-like receptor ligands and probiotic *Enterococcus faecium*. *Scand J Immunol* 80(2): 85-94.

Schreiner NM, Gaschen F, Grone A, Sauter SN, Allenspach K (2008): Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies. *J Vet Intern Med* 22(5): 1079-1083.

Simpson KW, Jergens AE (2011): Pitfalls and progress in the diagnosis and management of canine inflammatory bowel disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41(2): 381-398.

Simpson KW, Rishniw M, Bellosa M, Liotta J, Lucio A, Baumgart M, Czarnecki-Maulden G, Benyacoub J, Bowman D (2009): Influence of *Enterococcus faecium* SF68 probiotic on giardiasis in dogs. *J Vet Intern Med* 23(3): 476-481.

Sindern N, Suchodolski JS, Leutenegger CM, Mehdizadeh Gohari I, Prescott JF, Proksch AL, Mueller RS, Busch K, Unterer S (2019): Prevalence of *Clostridium perfringens* netE and

netF toxin genes in the feces of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J Vet Intern Med* 33(1): 100-105.

Stavisky J, Radford AD, Gaskell R, Dawson S, German A, Parsons B, Clegg S, Newman J, Pinchbeck G (2011): A case-control study of pathogen and lifestyle risk factors for diarrhoea in dogs. *Prev Vet Med* 99(2-4): 185-192.

Suchodolski JS (2016): Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *Vet J* 215: 30-37.

Suez J, Zmora N, Segal E, Elinav E (2019): The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nat Med* 25(5): 716-729.

Tello L, Perez-Freytes R (2017): Fluid and Electrolyte Therapy During Vomiting and Diarrhea. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 47(2): 505-519.

Tello LH, Pardo MA (2022): Fluid and Electrolyte Therapy During Vomiting and Diarrhea. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 52(3): 673-688.

Unterer S, Strohmeyer K, Kruse BD, Sauter-Louis C, Hartmann K (2011): Treatment of aseptic dogs with hemorrhagic gastroenteritis with amoxicillin/clavulanic acid: a prospective blinded study. *J Vet Intern Med* 25(5): 973-979.

Walker HK, Boag AM, Ottka C, Lohi H, Handel I, Gow AG, Mellanby RJ (2022): Serum metabolomic profiles in dogs with chronic enteropathy. *J Vet Intern Med* 36(5): 1752-1759.

Westermarck E, Skrzypczak T, Harmoinen J, Steiner JM, Ruaux CG, Williams DA, Eerola E, Sundback P, Rinkinen M (2005): Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med* 19(2): 177-186.

White R, Atherly T, Guard B, Rossi G, Wang C, Mosher C, Webb C, Hill S, Ackermann M, Sciabarra P, Allenspach K, Suchodolski J, Jergens AE (2017): Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 8(5): 451-466.

Whittemore JC, Moyers TD, Price JM (2019): Randomized, controlled, crossover trial of prevention of antibiotic-induced gastrointestinal signs using a synbiotic mixture in healthy research dogs. *J Vet Intern Med* 33(4): 1619-1626.

Whittemore JC, Price JM, Moyers T, Suchodolski JS (2021): Effects of Synbiotics on the Fecal Microbiome and Metabolomic Profiles of Healthy Research Dogs Administered Antibiotics: A Randomized, Controlled Trial. *Front Vet Sci* 8: 665713.

Wilkins T, Sequoia J (2017): Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. *Am Fam Physician* 96(3): 170-178.

Zawistowska-Rojek A, Tyski S (2018): Are Probiotic Really Safe for Humans? *Pol J Microbiol* 67(3): 251-258.

Ziese AL, Suchodolski JS, Hartmann K, Busch K, Anderson A, Sarwar F, Sindern N, Unterer S (2018): Effect of probiotic treatment on the clinical course, intestinal microbiome, and toxigenic *Clostridium perfringens* in dogs with acute hemorrhagic diarrhea. *PLoS One* 13(9): e0204691.

3. Paper II

Article

The Effect of Metronidazole versus a Synbiotic on Clinical Course and Core Intestinal Microbiota in Dogs with Acute Diarrhea

Helene Stübing^{1,*}, Jan S. Suchodolski², Andrea Reisinger¹, Melanie Werner³, Katrin Hartmann¹, Stefan Unterer³ and Kathrin Busch¹

¹ Small Animal Clinic, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilian University Munich, 80539 Munich, Germany; reisinger_andrea@web.de (A.R.); hartmann@lmu.de (K.H.); kathy.busch@gmx.de (K.B.)

² Gastrointestinal Laboratory, School of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77840, USA; jsuchodolski@cvm.tamu.edu

³ Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, 8057 Zurich, Switzerland; melanie.werner@marigin.ch (M.W.); stefan.unterer@uzh.ch (S.U.)

* Correspondence: he.stuebing@gmx.de

Simple Summary: The usefulness of metronidazole for acute diarrhea treatment in dogs is discussed. The role of *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli* as enteropathogens in acute uncomplicated diarrhea (AD) in dogs is controversial, whereas some beneficial bacteria, such as *Clostridium hiranonis*, are important members of the normal intestinal microbiota. In this study, the effects of metronidazole and a synbiotic on the clinical course and core intestinal microbiota in dogs with acute diarrhea were compared. No significant benefit of metronidazole was observed regarding the clinical course. Metronidazole had no effect on *C. perfringens* concentration but resulted in significant increased concentration of *E. coli*, an increased Dysbiosis Index, and a reduction in *C. hiranonis* concentration. In conclusion, in contrast to synbiotic treatment, metronidazole treatment negatively impacts the microbiome without affecting clinical outcomes.

Abstract: The usefulness of antibiotics in dogs with acute diarrhea (AD) is controversial. It is also unclear what effect metronidazole has on potential enteropathogens such as *Clostridium perfringens* and *Escherichia coli*. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of metronidazole vs. a synbiotic on the clinical course and core intestinal bacteria of dogs with AD. Twenty-seven dogs with AD were enrolled in this prospective, randomized, blinded clinical trial and treated with either metronidazole (METg) or a synbiotic (SYNg; *E. faecium* DSM 10663; NCIMB 10415/4b170). The Canine Acute Diarrhea Severity (CADS) index was recorded daily for eleven days. Bacteria were quantified using qPCR. Data were analyzed using mixed models with repeated measures. A higher concentration of *E. coli* was observed in the METg group vs. the SYNg group on Day 6 ($p < 0.0001$) and Day 30 ($p = 0.01$). Metronidazole had no effect on *C. perfringens*. *C. hiranonis* was significantly lower in the METg group than in the SYNg group on Days 6 and 30 ($p < 0.0001$; $p = 0.0015$). No significant differences were observed in CADS index, fecal consistency, or defecation frequency between treatment groups (except for the CADS index on one single day). In conclusion, metronidazole negatively impacts the microbiome without affecting clinical outcomes. Thus, synbiotics might be a preferred treatment option for dogs with AD.

Keywords: antibiotic; *C. perfringens*; *C. hiranonis*; *E. coli*; *E. faecium*; probiotic; intestinal microbiome; clinical improvement; canine

1. Introduction

Acute uncomplicated diarrhea in dogs (AD) is a common reason for veterinary consultations [1, 2]. AD can be differentiated from acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS), as dehydration and bacterial translocation can lead to a complicated course [45]. Typically, most cases of AD are

Citation: Stübing, H.;

Suchodolski, J.S.; Reisinger, A.;

Werner, M.; Hartmann, K.; Unterer,

S.; Busch, K. The Effect of

Metronidazole Versus a Synbiotic on

Clinical Course and Core Intestinal

Microbiota in Dogs with Acute

Diarrhea. *Vet. Sci.* **2024**, *11*, x.

<https://doi.org/10.3390/xxxx>

Academic Editor: Karl Pedersen

Received: 1 March 2024

Revised: 23 April 2024

Accepted: 24 April 2024

Published: 29 April 2024



Copyright: © 2024 by the authors.

Submitted for possible open access

publication under the terms and

conditions of the Creative Commons

Attribution (CC BY) license

(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

mild and dogs can usually be treated as outpatients, requiring no specific treatment [6-9]. AD occurs suddenly and persists for fewer than 7 days.

The causes of AD are usually unknown. Dietary indiscretion, inappropriate diet, abrupt dietary changes, dietary intolerance and hypersensitivities, stress, and medications irritating the gastrointestinal tract (e.g., non-steroidal anti-inflammatory drugs) are among the non-infectious risk factors [5, 10, 11]. Transient self-limiting gastrointestinal infections are another potential cause of AD in dogs. In this context, *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) and *Escherichia coli* (*E. coli*) are frequently mentioned as potential enteropathogens. However, bacterial infections are generally rare in dogs and previous studies have shown that *C. perfringens* and *E. coli* can also be detected in healthy dogs [22, 23]. Nevertheless, the identification of these bacteria in fecal samples of dogs with AD is often used as an indication for antibiotic treatment [11], which is initiated in 49 to 71% of dogs presenting with AD [15, 17, 90].

The most frequently prescribed antimicrobial agent in dogs with AD is metronidazole, which comprised 47% of all antimicrobial prescriptions in a study from the United Kingdom [15]. Metronidazole is a 5-nitroimidazole drug and is used in the management of a variety of infectious diseases, especially for infections with anaerobic bacteria and protozoa [45, 91, 92]. Metronidazole is a concentration-dependent bactericidal drug and is widely distributed throughout the body [45]. The activation of this prodrug includes a reduction of the nitro group within the target cell. The reductases of anaerobic or microaerophilic microorganisms explains the selectivity of metronidazole. The interaction of generated metabolites with the DNA leads to cell death of bacteria and protozoa [92].

On the World Small Animal Veterinary Association's (WSAVA) list of essential medicines, metronidazole is listed as an antibiotic that satisfies primary health care and welfare of cats and dogs and is recommended for management of selected bacterial and protozoal enteric infections [93]. However, there is a routine prescription of metronidazole in AD. The efficacy of metronidazole in the treatment of AD is highly controversial, especially considering the development of resistant bacterial strains and potential negative effects on the intestinal microbiome (e.g., severe dysbiosis due to its anaerobic spectrum) [14, 24, 94, 95]. In detail, a significant reduction in *Clostridium hiranonis* (*C. hiranonis*) concentration after the administration of metronidazole has already been demonstrated [24]. *C. hiranonis* has been reported to be beneficial in dogs due to its conversion of primary to secondary bile acids, which is important in the regulation of *C. difficile* and *C. perfringens* in both dogs and humans [96, 97].

Synbiotics have probiotic and prebiotic properties. The World Health Organization (WHO) defined them as live strains of strictly selected microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a healthy benefit on the host. Prebiotics are nondigestible food ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating growth and/or activity of one or a limited number of bacteria to improve host health [36, 37]. The purpose of synbiotics is to overcome some possible difficulties in the survival of probiotics in the gastrointestinal tract. A combination of both components in a single product should ensure a superior effect compared to the activity of the probiotic or prebiotic alone [98, 99]. The purpose of synbiotic treatment in AD treatment is to support self-limiting characteristics via positive modulation of the intestinal microbiome; therefore, synbiotics are useful alternatives to antibiotic treatment. However, the results of different studies comparing metronidazole to probiotics/synbiotics and a placebo are inconsistent. One clinical trial suggested that metronidazole treatment, compared to a placebo, can shorten the duration of AD in dogs (mean 2.1 versus 3.6 days) [8], while other clinical trials failed to show a faster clinical improvement in response to metronidazole compared to probiotic, placebo, or nutraceutical treatment [6, 9].

Therefore, the aim of this study was to evaluate the impact of metronidazole compared to that of the administration of a synbiotic on the clinical course as well as the abundances of specific bacterial species, such as *C. perfringens*, *E. coli*, and *C. hiranonis*, and the intestinal microbiome in general in dogs with AD.

2. Materials and Methods

This study was designed as a prospective, blinded, randomized clinical trial and was approved by the ethical committee of the Centre for Clinical Veterinary Medicine Ludwig-Maximilians University, Munich (reference 205-06-03-2020). Dogs were recruited from two small animal clinics in Munich, Germany, between October 2020 and January 2023.

Twenty-seven dogs with acute diarrhea < 5 days in duration, a fecal consistency score of at least 2 on the Canine Acute Diarrhea Severity index (CADS index; Table 1, [100]), a bodyweight between 5 and 50 kg, and a minimum age of 9 months were enrolled.

Table 1. Scoring system for the Canine Acute Diarrhea Severity index (CADS index, maximum 15 points). The severity levels were as follows: nonsignificant (0–3); mild (4–5); moderate (6–8); and severe (≥ 9).

Parameters	Points			
	0	1	2	3
Activity	normal	mildly decreased	moderately decreased	severely decreased
Appetite	normal	mildly decreased	moderately decreased	severely decreased
Vomiting (times/day)	0	1	2–3	>3
Fecal consistency	normal	moist, shaped	pasty	watery diarrhea
Defecation frequency (times/day)	1	2–3	4–5	>5

Dogs with a history of chronic or recurrent gastrointestinal signs or treated with antibiotics or probiotics within 30 days or anti-inflammatory drugs within 7 days before presentation were excluded. Dogs that met any of the following criteria indicating a complicated form of acute gastrointestinal disease were also excluded: hemorrhagic diarrhea, signs of systemic inflammation or sepsis (Table 2), severe illness (e.g., depressed mental status, moderate to severe abdominal pain), or significant dehydration prompting hospitalization (Table 2).

Table 2. Clinical signs of systemic inflammation, sepsis, or dehydration.

Parameter	Reference Range
Rectal temperature	<37.0 und >39.0 °C [<98.6 °F and >102.2 °F]
Heart rate	>140/min
Hematocrit	>58%
WBC	$<5 \times 10^9/L$ or $>20 \times 10^9/L$
Banded neutrophils	$>1.5 \times 10^9/L$

Relevant information regarding the medical history, such as any past diarrheic episodes, other diseases or chronic illnesses, vaccination and deworming routine, exact description of the current AD episode, additional clinical signs (e.g., vomiting), previous drug administration, intake of foreign material or snow, presence of stress-related factors, and diet or dietary changes, was gathered in a standardized fashion.

The minimal database for diagnostic work included a fecal examination for endoparasites using fecal flotation and antigen testing for Giardia (SNAP Giardia Test, Idexx GmbH, Kornwestheim, Germany), and a complete blood cell count (ProCyte Dx, Idexx GmbH, Kornwestheim, Germany) was performed.

Dogs of both groups received the same standardized treatment, including maropitant (Prevomax, Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany) as an antiemetic (1 mg/kg given once subcutaneously) and metamizole (Novaminsulfon, Ratiopharm, Ulm, Germany) as an analgesic (30 mg/kg per os q8h for 2 days), and were fed the same high-fiber gastrointestinal diet (Gastrointestinal Biome dry, Hill's Pet Nutrition GmbH, Hamburg, Germany) for 7

days. Owners were instructed to feed only the prescribed diet and not to feed treats and table scraps during study period.

Additionally, depending on their randomization (list created by an online randomizer: www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1.cfm, accessed on 1 September 2020), dogs of the metronidazole treatment group (METg) received metronidazole (Metrobactin, Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH, Aulendorf, Germany) per os at 10 to 20 mg/kg BW q12h for 7 days, and dogs of the synbiotic treatment group (SYNg) received a synbiotic agent (NutraPro[®]K9, *E. faecium* DSM 10,663 NCIMB 10415/4b1707, dextrose, mannan-oligosaccharides, brewer's yeast, inulin, minerals, and hydrolyzed poultry liver, NutraPet Systems Deutschland GmbH, Schlaitdorf, Germany) per os at 10⁸ CFU/kg BW q12h for 7 days. For blinding, identical capsules containing either metronidazole or the synbiotic were used, and every dog received the same number of capsules according to its predefined weight group.

At presentation, the attending veterinarian assessed the clinical disease activity by using information from the patient's history and physical examination (CADS index day 0). During the following 10 days (day 1 to day 10), the owner evaluated the disease activity score at home. The CADS index includes 5 parameters (activity, appetite, vomiting times/day, fecal consistency, defecation frequency times/day) with 0 to 3 points for each parameter, and for a maximum possible value of 15 points. The severity levels of the CADS index were defined as nonsignificant (0–3), mild (4–5), moderate (6–8), or severe (≥ 9). To obtain more objective data on the parameter fecal consistency (FC) of the CADS index, the Purina Fecal Scoring Chart was used (PFS; <https://freedom servicedogs.org/wp-content/uploads/2022/04/Purina-Fecal-Scoring-Chart.pdf>, accessed on 1 September 2020), whereas PFS 2–3 = CADS index FC 0; PFS 4–5 = CADS index FC 1; PFS 6 = CADS index FC 2; and PFS 7 = CADS index FC 3 were defined. For dogs that defecated more than once per day, the FC score was calculated as the average of all defecations that day.

Natural, passed fecal samples were collected from each dog on day 0 before starting treatment and on day 6 and day 30. Aliquots for analysis were frozen at -80°C within a few hours following collection (<6 h) and were subsequently sent as batches on dry ice to the Gastrointestinal Laboratory at Texas A&M University.

The Dysbiosis Index (DI) is a mathematical model used to quantify intestinal dysbiosis in fecal samples from dogs. To calculate the DI, an individual qPCR assay was performed for 7 bacterial taxa (*Faecalibacterium* spp., *Turicibacter* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, *Blautia* spp., *Fusobacterium* spp., and *C. hiranonis*) and the total bacteria as described previously [101]. The DI is a single numeric value, and a reference interval from -9.1 to 9.3 had been previously established based on 116 healthy dogs. A DI <0 was defined as no shift in the overall diversity. If individual bacterial groups were outside the reference interval, this was suggestive of minor changes. Values between 0 and 2 were defined as a mildly increased DI, suggesting a mild to moderate shift in the overall diversity. A DI ≥ 2 was defined as significantly increased, consistent with a major shift in overall diversity [7]. This classification has been shown to accurately predict microbiome shifts, as assessed by DNA shotgun sequencing [102]. Another study demonstrated that when the abundance of *C. hiranonis* (in log₁₀) is > 4.5 , essentially all primary bile acids are converted to secondary bile acids [103].

The abundances of the *C. perfringens* 16S rRNA gene, *C. perfringens* enterotoxin gene, and *C. perfringens* *NetF* gene in feces were analyzed via qPCR assays as previously described [7, 22]. The reference intervals for healthy dogs had been established previously based on data from 120 healthy dogs. The reference interval of *C. perfringens* was defined from 1.1 to 6.5, and of *C. perfringens* enterotoxin from 1.8 to 5.1. *C. perfringens* toxin *NetF* and *Clostridium difficile* were considered negative. The qPCR results were expressed as the log amount of DNA (fg) for each bacterial group per 10 ng of isolated total DNA.

Power analysis indicated that at least 8 dogs per group needed to be included in the study to detect a difference of 2 points in the CADS index between treatments (estimated SD of 1.5, power of 80% and $p < 0.05$). Statistical analyses were performed using GraphPad Prism (GraphPad Prism c9.0, GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Data were evaluated for normality by the Anderson–Darling test.

Differences between the groups in terms of sex, age, bodyweight, and breed were evaluated with the Mann–Whitney U test. The course of the CADS index and those of individual variables, the DI, and individual bacteria were analyzed by mixed effect analysis with multiple comparisons for comparison between the METg and the SYNg.

(The significance level chosen for determining statistical significance was $p < 0.05$).

3. Results

3.1. Study Population

A total of 27 dogs were included in the study (METg, $n = 15$; SYNg, $n = 12$). There was no significant difference between the groups at baseline in age, sex, bodyweight, or breed distribution (Tables 3 and 4).

Table 3. Sex and breed distribution at baseline in dogs with AD; abbreviations: METg: metronidazole treatment group; SYNg: synbiotic treatment group.

	METg ($n = 15$)	SYNg ($n = 12$)	p Value
Sex	7 male, 8 female	4 male, 8 female	0.69
Breeds	Mixed breed (3), Miniature Australian Shepherd (1), Giant Schnauzer (1), Maltese dog (1), Poodle (1), Pug (2), American Bulldog (1), Bichon Frise (1), Border Collie (1), Labrador (1), Yorkshire Terrier (1), French Bulldog (1)	Mixed breed (5), Vizsla (2), Golden Retriever (1), Chihuahua (1), Australian Shepherd (1), Shi Tzu (1), Yorkshire Terrier (1)	0.27

Table 4. Bodyweight and age distribution at baseline in dogs with AD; abbreviations: METg: metronidazole treatment group; SYNg: synbiotic treatment group.

	METg ($n = 15$)	SYNg ($n = 12$)	p Value
	Median (Range)	Median (Range)	
Bodyweight (kg)	12.7 (5–36.3)	17.2 (5–35.5)	0.31
Age (years)	4.7 (1–13)	5.2 (2–12)	0.81

Dogs presented with a median duration of diarrhea of 1 day (METg range 1–5 days; SYNg range 1–4.5 days). Thirteen (48%) dogs experienced vomiting in addition to diarrhea. Nineteen (73%) of the owners reported that their dog might have ingested an inadequate substance or that they had observed an intake. A stressful experience in the last few days before presentation leading up to AD was reported by 5 owners (19%). Twenty-six dogs were fed a commercial diet, and one dog was fed a commercial vegan diet. Treats and table scraps were given to 17 dogs (63%). Eleven (41%) dogs were dewormed regularly, with the last deworming occurring a median of 3.2 months ago (range 1–24 months). Sixteen (59%) dogs were irregularly dewormed. No dog suffered from another acute disease in the last 30 days. In 10 (37%) dogs, a chronic nongastrointestinal condition was documented. Medication in the last 30 days was given to 8 (27%) dogs, and 3 (11%) dogs were receiving long-term medication. Nineteen (70%) owners reported several previous episodes of diarrhea, and the median gap to the last episode of AD was 4.2 months (range 2–8).

3.2. Treatment Efficacy

None of the dogs in either group required an additional medical treatment or a dietary adjustment during the study time or follow-up period.

The median CADS index on day 0 was 6.5 (range 4–15). No statistically significant difference in the CADS index was observed between the METg and the SYNg on any of the days except day 3 ($p = 0.02$; Figure 1). On day 3, more dogs in the SYNg had reduced appetite and activity. There was no significant difference on any day during the study period between the METg and the SYNg regarding diarrhea-specific parameters FC (Figure 2a) and defecation frequency (DF) (Figure 2b).

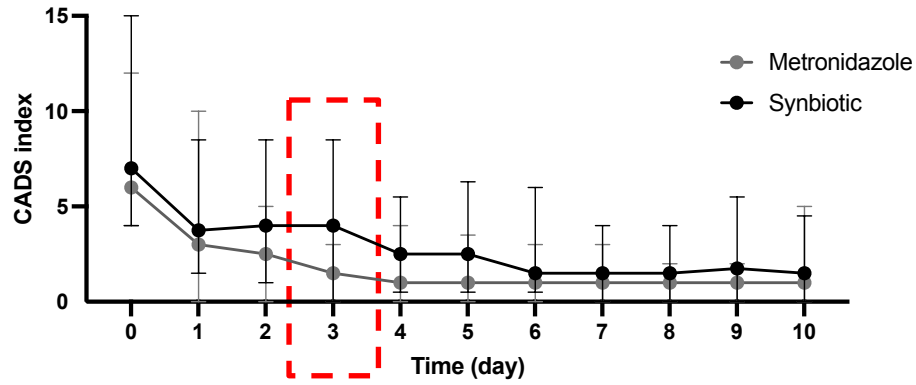
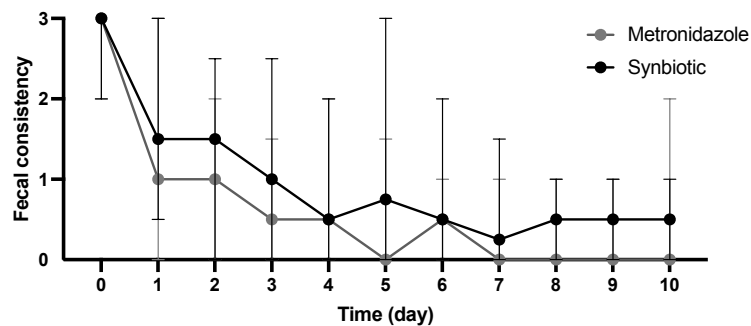
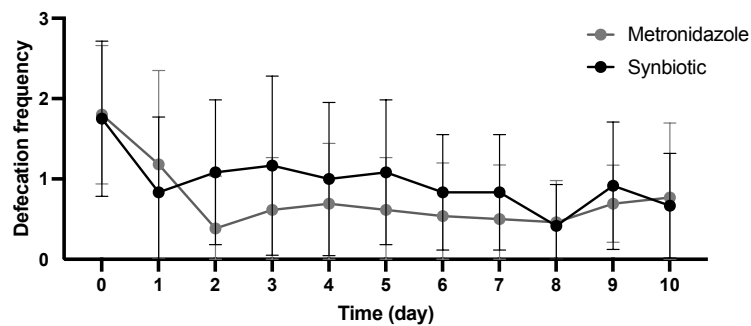


Figure 1. Clinical evaluation of clinical signs according to the Canine Acute Diarrhea Severity (CADS) index. The indices included the variables activity, appetite, vomiting (times/day), fecal consistency, and frequency of defecation (times/day). Each variable is scored from 0 to 3, and the sum of the scores yields a total cumulative score. Dots show the median, and error bars show the range. No statistically significant difference was observed between the METg and SYNg on any of the days except day 3 (red box; $p = 0.02$).

Figure 2. (a) Clinical evaluation of the parameter fecal consistency (FC) of the CADS index using the Purina Fecal Scoring Chart (PFS). The CADS index (FC) was scored from 0 to 3, with PFS 2–3 = CADS index FC 0; PFS 4–5 = CADS index FC 1; PFS 6 = CADS index FC 2; and PFS 7 = CADS index FC 3. Dots show the median, and error bars show the range. No significant difference in the CADS index FC was observed between the metronidazole and symbiotic treatment groups. **(b)** Clinical evaluation of the parameter defecation frequency (DF) according to the CADS index. The scores ranged from 0 to 3, with 0 = 1; 1 = 2–3; 2 = 4–5; and 3 = >5 times/day. The dots show the means, and the error bars show the SDs. No significant difference in the CADS index DF was observed between the metronidazole and symbiotic treatment groups.



(a)

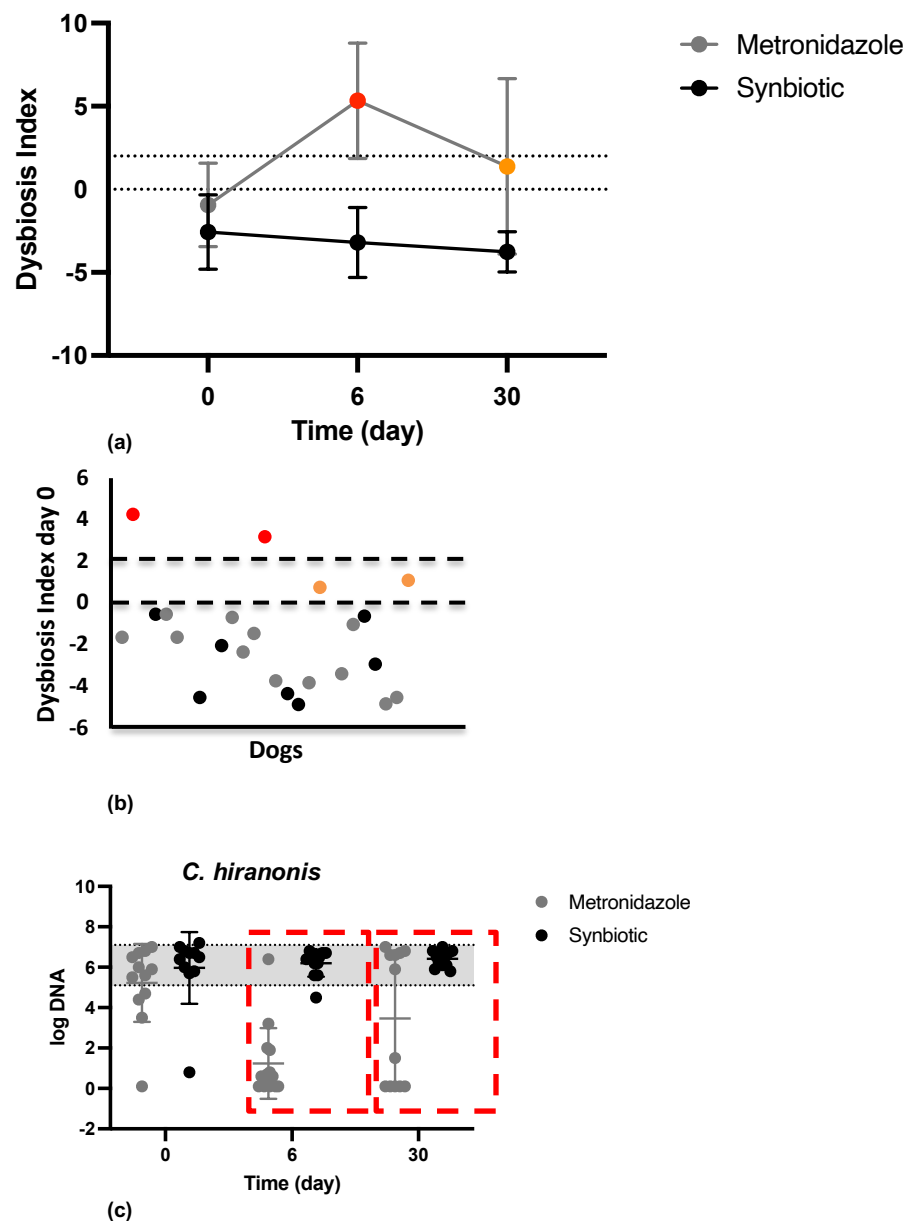


(b)

3.3. Microbiome Analysis

There was no significant difference in the fecal DI on day 0 between the two groups. Most of the dogs had a normal DI (DI < 0) or minor changes (DI < 0) on the day of presentation (Figure 3b). There was a significant difference in the DI between the two groups on day 6 (METg mean of 5.3 (2.63); SYNg mean of -3.1 (-2.02); $p < 0.0001$) and day 30 (METg mean of 1.3 (4.69); SYNg mean of -3.7 (-1.15); $p = 0.0004$; Figure 3a). On the last recorded day, 33% of the dogs in the METg still had an increased DI, while all dogs in the SYNg had a DI < 0, with 58% of these dogs showing minor changes on day 30.

Figure 3. (a) The DI over time. The dots show the means, and the error bars show the SDs (a,c). A DI < 0 indicates a normal microbiome ((b) black dots) or minor changes ((b) gray dots; when at least one bacterial taxon is outside the reference interval), a DI of 0 to 2 indicates mild to moderate changes ((a,b) brown dots), whereas a DI ≥ 2 indicates significant changes ((a,b) red dots). There was a significant difference in the DI on day 6 ($p < 0.0001$) and day 30 ($p = 0.0004$) between the two groups. (b) The DI on day 0. Most of the dogs had a normal DI or minor changes (gray dots) on the day of presentation. (c) Concentration of *C. hiranonis* over time. The y-axis represents the log DNA/g feces; the gray area shows the reference interval of the individual bacterial strains. Although there was no difference on day 0, a significant difference in *C. hiranonis* abundance was observed on day 6 and day 30 (red boxes; $p < 0.0001$; $p = 0.0015$).



No significant difference in *C. hiranonis* abundance was observed on day 0 between the two groups. On day 0, 78% of all dogs had *C. hiranonis* within the reference range. There was a significant difference in *C. hiranonis* abundance between the metronidazole treatment group and the synbiotic treatment group on day 6 and day 30 (day 6, METg mean 1.6 log DNA/g feces (SD 1.68); SYNg mean 6.2 log DNA/g feces (SD 0.64), $p < 0.0001$; day 30, METg mean 3.4 log DNA/g feces (SD 3.05); SYNg mean 6.4 log DNA/g feces (SD 0.37), $p = 0.0015$). *C. hiranonis* was < 4.5 log DNA/g feces on day 6 in 93% of the dogs and on day 30 in 42% of the dogs in the METg (Figure 3c).

Three bacterial taxa, quantified by PCR, *Turicibacter* spp., *Bifidobacterium* spp., and *Streptococcus* spp., were not significantly affected by metronidazole compared to synbiotic treatment, while a significant decrease in the abundances of *Faecalibacterium* spp. ($p = 0.0015$), *Fusobacterium* spp. ($p = 0.0048$), and *Blautia* spp. ($p = 0.02$) was observed due to metronidazole during the study.

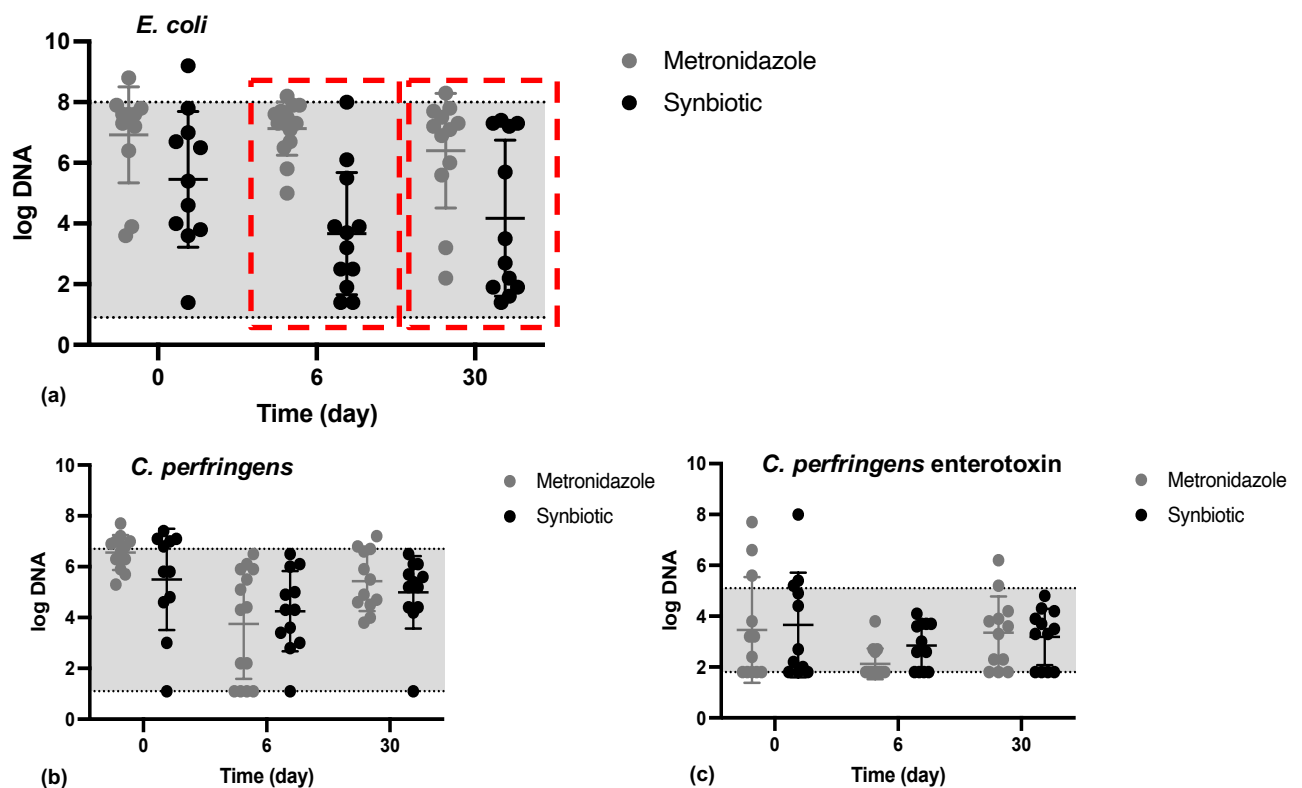


Figure 4. Abundance of *E. coli* (a), *C. perfringens* (b), and *C. perfringens* strains encoding enterotoxin (c) on days 0, 6, and 30. Dots show the mean, error bars show the SD, the y-axis represents log DNA/g feces, and the gray area shows the reference interval for the individual bacteria. (a) There was a significant difference in the concentration of *E. coli* between the METg and SYNg on day 6 ($p \leq 0.0001$) and day 30 (red boxes; $p = 0.01$). (b,c) There was no significant difference in the abundance of *C. perfringens* or *C. perfringens* strains encoding enterotoxin on any of the recorded days.

In 9% of all dogs, the concentration *E. coli* was increased (> 8 log DNA/g feces) on day 0. No statistically significant difference in the abundance of *E. coli* was observed on day 0 between the two groups. There was a significant difference between the METg and SYNg regarding the concentration of *E. coli* on day 6 (METg mean 7.1 log DNA/g feces (0.84); SYNg mean 3.6 log DNA/g

feces (1.92); $p \leq 0.0001$) and day 30 (METg mean 6.4 log DNA/g feces (1.78); SYNg mean 4.1 log DNA/g feces (2.46); $p = 0.01$; Figure 4a).

On the day of inclusion, concentration of *C. perfringens* was increased in 35% of all dogs above the reference interval (>6.5 log DNA/g feces). There was no statistically significant difference between the groups in terms of the abundance of *C. perfringens* quantified by qPCR on days 0, 6, or 30. The concentration of *C. perfringens* returned to the reference interval (<6.5 log DNA/g feces) in all dogs in the study on day 6 and in 78% of the dogs on day 30 (Figure 4b) regardless of treatment.

On day 0, in 25% of the dogs in both groups, the abundance of *C. perfringens* strains encoding enterotoxin was increased (>5.1 log DNA/g feces). There was no statistically significant difference in the abundance of *C. perfringens* strains encoding enterotoxin between the two groups on days 0, 6, and 30 (Figure 4c).

On day 0, 3 dogs (13%) were positive for the abundance of *C. perfringens* strains encoding the toxin *NetF*. No dog was positive for *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) on day 0.

4. Discussion

The results of this prospective, blinded clinical trial showed that, in comparison to a synbiotic, metronidazole had no effect on *C. perfringens* concentration but resulted in a significantly increased concentration of *E. coli*, an increased Dysbiosis Index, and a reduction in *C. hiranonis* concentration. No significant difference could be seen regarding the clinical improvement. Thus, metronidazole had a negative effect on the core microbiome without affecting clinical outcomes.

A recent survey among veterinarians showed that the clinical management of idiopathic acute diarrhea is not consistent with evidence-based recommendations [15, 17]. This proportion underscores the continued need for evidence-based recommendations and promotes the dissemination of new information [17]. The present study revealed that for dogs with AD, routine use of metronidazole does not improve the clinical course but has a negative impact on the intestinal microbiome, while synbiotics have similar clinical outcomes but aid in the recovery of the microbiome.

Although the CADS index was lower in the metronidazole group on day 3, there was no significant difference in the diarrhea-specific parameters FC and DF on this day. On all other days, no significant differences were found between the treatment groups. Thus, the results confirmed the findings of previous studies that there is no relevant difference between metronidazole and synbiotic treatment in terms of clinical improvement in dogs with AD [6, 9, 14].

In addition to the clinical course, the results of the present study showed that AD does not lead to major alterations in the core intestinal microbiota, which was also not observed in other studies evaluating acute diarrhea, including AHDS, in dogs [7, 20]. The mild increase in the DI could be related to minor alterations in core microbiota and the increase in *C. perfringens* and *E. coli*. In contrast, major alterations in the core intestinal microbiota and a lack of *C. hiranonis* can be observed in a subset of dogs with chronic enteropathies (CEs) [101, 104]. *C. hiranonis* plays a major role in maintaining a normal intestinal microbiome due to its ability to convert primary bile acids to secondary bile acids through 7- α -dehydroxylation [24, 90]. A study demonstrated that when the abundance of *C. hiranonis* (in log₁₀) is > 4.5 , essentially all primary bile acids are converted to secondary bile acids [103]. Secondary bile acids are thought to protect against the growth of several pathogens, including *C. difficile* [103]. Intestinal dysbiosis is linked to CE and often a lower abundance of *C. hiranonis* [101, 105]. The presence of *C. difficile* in turn is strongly linked to decreased *C. hiranonis* [105]. In the present study, one dog showed an increased DI with a severely decreased abundance of *C. hiranonis* on the day of presentation, which could suggest dysbiosis associated with subclinical CE [7]. This dog presented 24 months later with chronic gastrointestinal signs and moderate to severe chronic gastritis according to pathohistological findings. In contrast, on day 0, all the other dogs with acute diarrhea had *C. hiranonis* within or slightly below the reference interval, and *C. difficile* was not detected in any of the dogs.

As observed previously, metronidazole administration resulted in a significant decrease in *C. hiranonis* and a significant increase in the DI [14, 24, 63, 94], which was still detectable 3 weeks after the end of treatment in 33% of the dogs. Results indicate that the microbiota tends to return to

normal in most dogs; however, the return to pretreatment conditions appears to be individualized. This result supports findings of other studies that also revealed an individual trend toward a return after withdrawal of antibiotic treatment [24, 106-108]. Therefore, metronidazole has acute and long-lasting effects on the intestinal microbiome in some dogs. Although all dogs in the synbiotic group had a DI < 0 on day 30, 58% of those dogs still showed minor changes on day 30. Thus, while the effect of AD on the intestinal microbiome seems to be mild, minor changes must be assumed at least up to one month after a period of AD.

In contrast to the beneficial bacterium *C. hiranonis*, certain bacterial species, such as *E. coli* and *Clostridium perfringens*, are repeatedly mentioned as potential causes of AD. The results of the present study revealed a self-limiting increase in *C. perfringens* in AD. This finding supports the hypothesis that the increase in *C. perfringens* in AD represents a transient part of mild intestinal dysbiosis [22]. Moreover, no difference in abundance was observed between metronidazole and synbiotic treatment over time; therefore, specific treatment for *C. perfringens* is not needed. Similarly, an increased abundance of *C. perfringens* strains encoding enterotoxin was observed in AD; however, this change also appears to be part of transient intestinal dysbiosis [22]. The pore-forming toxin *NetF* of *C. perfringens* seems to play no major role in dogs with uncomplicated AD, as it was detected in only a few dogs on the day of presentation. Previous studies have shown that *NetF* is more strongly associated with AHDS in dogs, as more than 50% of these dogs harbor these toxigenic *NetF* strains at presentation [18-20].

The increase in *E. coli* in the METg can be interpreted as a result of a shift in the bacterial composition due to the effect of metronidazole against anaerobic bacteria, as demonstrated previously [24]. Although *E. coli* is a normal inhabitant of the intestine and most strains are nonpathogenic in most dogs, some strains can be involved in the pathogenesis of gastrointestinal diseases, e.g., histiocytic ulcerative colitis (HUC) in dogs or extragastrointestinal infections in the urinary tract or wounds [109]. The results of the present study showed that in the synbiotic group, the presence of *E. coli* was self-limiting, while metronidazole led to a dysbiosis pattern with increased *E. coli*.

This study has several limitations. First, the owners provided treatments and diet at home. Although the owners were trained in capsule administration, it is possible that the treatments or the diet were not fully administered. Additionally, the owners themselves scored the parameters of the CADS index. Although several variables can be objectively assessed (e.g., defecation frequency and fecal consistency based on the Purina Fecal Scoring Chart), others (e.g., activity) are relatively subjective. The clinical impression also varies based on the time spent with the dog, which differs among owners. A notable limitation of this study is the absence of a placebo group, which prevents comparison with a single supportive treatment. Another limitation lies in the relatively small sample size of dogs within both treatment groups. Nevertheless, the discernible impact of metronidazole on the intestinal microbiome was evident and consistent with prior research. Consequently, it appears improbable that the outcomes would have undergone substantial alteration even with a larger participant pool.

5. Conclusions

In conclusion, the results of this prospective, blinded clinical trial comparing metronidazole and a synbiotic in dogs with AD shows that metronidazole causes significant changes on the intestinal microbiome, especially on *C. hiranonis*. This underlines the thoughtful use of metronidazole. Furthermore, the increase in specific bacteria strains, referred to as potential enteropathogens, such as *C. perfringens* and *E. coli*, are self-limiting and normalize simultaneously with clinical improvement and without antibiotic treatment. The synbiotic was not inferior to metronidazole in terms of clinical improvement and should therefore be considered as an antibiotic sparing alternative. These agents can positively influence the self-limiting character of AD via beneficial modulation of the intestinal microbiome and have been safely used for several years. However, due to the small number of patients and the lack of a placebo group, further studies are necessary.

Author Contributions: Investigation, data curation, writing—original draft preparation, writing—review and editing, visualization, project administration, H.S.; conceptualization, supervision, writing—original

draft preparation, J.S.S.; investigation, A.R.; conceptualization, M.W.; conceptualization, K.H.; conceptualization, supervision, writing—original draft preparation, S.U.; conceptualization, supervision, writing—original draft preparation, K.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by NutraPet Systems Deutschland GmbH (Schlaitdorf, Germany).

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the ethical committee of the Centre for Clinical Veterinary Medicine Ludwig-Maximilians University, Munich (reference 205-06-03-2020).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from the owner of the subject involved in the study.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors on request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. The funder had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Pugh, C.A.; Bronsvort, B.M.C.; Handel, I.G.; Query, D.; Rose, E.; Summers, K.M.; Clements, D.N. Incidence rates and risk factor analyses for owner reported vomiting and diarrhoea in Labrador Retrievers—Findings from the Dogslife Cohort. *Prev. Vet. Med.* **2017**, *140*, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.02.014>.
2. Hubbard, K.; Skelly, B.J.; McKelvie, J.; Wood, J.L. Risk of vomiting and diarrhoea in dogs. *Vet. Rec.* **2007**, *161*, 755–757. <https://doi.org/10.1136/vr.161.22.755>.
3. Ellis, C.; Odunayo, A.; Tolbert, M.K. The use of metronidazole in acute diarrhea in dogs: A narrative review. *Top. Companion Anim. Med.* **2023**, *56–57*, 100824. <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2023.100824>.
4. Shmalberg, J.; Montalbano, C.; Morelli, G.; Buckley, G.J. A Randomized Double Blinded Placebo-Controlled Clinical Trial of a Probiotic or Metronidazole for Acute Canine Diarrhea. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 163. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00163>.
5. Werner, M.; Suchodolski, J.S.; Straubinger, R.K.; Wolf, G.; Steiner, J.M.; Lidbury, J.A.; Neuerer, F.; Hartmann, K.; Unterer, S. Effect of amoxicillin-clavulanic acid on clinical scores, intestinal microbiome, and amoxicillin-resistant *Escherichia coli* in dogs with uncomplicated acute diarrhea. *J. Vet. Intern. Med.* **2020**, *34*, 1166–1176. <https://doi.org/10.1111/jvim.15775>.
6. Langlois, D.K.; Koenigshof, A.M.; Mani, R. Metronidazole treatment of acute diarrhea in dogs: A randomized double blinded placebo-controlled clinical trial. *J. Vet. Intern. Med.* **2020**, *34*, 98–104. <https://doi.org/10.1111/jvim.15664>.
7. Pignataro, G.; Di Prinzio, R.; Crisi, P.E.; Bela, B.; Fusaro, I.; Trevisan, C.; De Acetis, L.; Gramenzi, A. Comparison of the Therapeutic Effect of Treatment with Antibiotics or Nutraceuticals on Clinical Activity and the Fecal Microbiome of Dogs with Acute Diarrhea. *Animals* **2021**, *11*, 1484. <https://doi.org/10.3390/ani11061484>.
8. Stavisky, J.; Radford, A.D.; Gaskell, R.; Dawson, S.; German, A.; Parsons, B.; Clegg, S.; Newman, J.; Pinchbeck, G. A case-control study of pathogen and lifestyle risk factors for diarrhoea in dogs. *Prev. Vet. Med.* **2011**, *99*, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.02.009>.
9. Saevik, B.K.; Skancke, E.M.; Trangerud, C. A longitudinal study on diarrhoea and vomiting in young dogs of four large breeds. *Acta Vet. Scand.* **2012**, *54*, 8. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-54-8>.
10. Gomez-Gallego, C.; Junnila, J.; Mannikko, S.; Hameenoja, P.; Valtonen, E.; Salminen, S.; Beasley, S. A canine-specific probiotic product in treating acute or intermittent diarrhea in dogs: A double-blind placebo-controlled efficacy study. *Vet. Microbiol.* **2016**, *197*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.11.015>.
11. Minamoto, Y.; Dhanani, N.; Markel, M.E.; Steiner, J.M.; Suchodolski, J.S. Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Vet. Microbiol.* **2014**, *174*, 463–473. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.10.005>.
12. Moon, B.Y.; Ali, M.S.; Kwon, D.H.; Heo, Y.E.; Hwang, Y.J.; Kim, J.I.; Lee, Y.J.; Yoon, S.S.; Moon, D.C.; Lim, S.K. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Healthy Dogs and Cats in South Korea, 2020–2022. *Antibiotics* **2023**, *13*, 27. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13010027>.
13. Singleton, D.A.; Noble, P.J.M.; Sanchez-Vizcaino, F.; Dawson, S.; Pinchbeck, G.L.; Williams, N.J.; Radford, A.D.; Jones, P.H. Pharmaceutical Prescription in Canine Acute Diarrhoea: A Longitudinal Electronic Health Record Analysis of First Opinion Veterinary Practices. *Front. Vet. Sci.* **2019**, *6*, 218. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00218>.
14. German, A.J.; Halladay, L.J.; Noble, P.J. First-choice therapy for dogs presenting with diarrhoea in clinical practice. *Vet. Rec.* **2010**, *167*, 810–814. <https://doi.org/10.1136/vr.c4090>.
15. Francillon, W.B.; Winston, J.A.; Schreeg, M.E.; Lilly, M.L.; Parker, V.J.; Rudinsky, A.J. Clinician prescribing practices for managing canine idiopathic acute diarrhea are not evidence based. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2023**, *261*, 1–9. <https://doi.org/10.2460/javma.23.06.0313>.

16. Alauzet, C.; Lozniewski, A.; Marchandin, H. Metronidazole resistance and nim genes in anaerobes: A review. *Anaerobe* **2019**, *55*, 40–53. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.10.004>.
17. Hernandez Ceruelos, A.; Romero-Quezada, L.C.; Ruvalcaba Ledezma, J.C.; Lopez Contreras, L. Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: An update. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2019**, *23*, 397–401. https://doi.org/10.26355/eurrev_201901_16788.
18. Steagall, P.V.; Pelligand, L.; Page, S.; Granick, J.L.; Allerton, F.; Beczkowski, P.M.; Weese, J.S.; Hrcek, A.K.; Queiroga, F.; Guardabassi, L. The 2023 World Small Animal Veterinary Association (WSAVA): List of essential medicines for cats and dogs. *J. Small Anim. Pract.* **2023**, *64*, 731–748. <https://doi.org/10.1111/jsap.13673>.
19. Pilla, R.; Gaschen, F.P.; Barr, J.W.; Olson, E.; Honneffer, J.; Guard, B.C.; Blake, A.B.; Villanueva, D.; Khattab, M.R.; AlShawaqfeh, M.K.; et al. Effects of metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **2020**, *34*, 1853–1866. <https://doi.org/10.1111/jvim.15871>.
20. Chaitman, J.; Ziese, A.L.; Pilla, R.; Minamoto, Y.; Blake, A.B.; Guard, B.C.; Isaiah, A.; Lidbury, J.A.; Steiner, J.M.; Unterer, S.; et al. Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole. *Front. Vet. Sci.* **2020**, *7*, 192. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00192>.
21. Boekhoud, I.M.; Hornung, B.V.H.; Sevilla, E.; Harmanus, C.; Bos-Sanders, I.; Terveer, E.M.; Bolea, R.; Corver, J.; Kuijper, E.J.; Smits, W.K. Plasmid-mediated metronidazole resistance in *Clostridioides difficile*. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 598. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14382-1>.
22. Scahill, K.; Jessen, L.R.; Prior, C.; Singleton, D.; Foroutan, F.; Ferran, A.A.; Arenas, C.; Bjornvad, C.R.; Lavy, E.; Allerton, F.; et al. Efficacy of antimicrobial and nutraceutical treatment for canine acute diarrhoea: A systematic review and meta-analysis for European Network for Optimization of Antimicrobial Therapy (ENOVAT) guidelines. *Vet. J.* **2023**, *303*, 106054. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2023.106054>.
23. Weingarden, A.R.; Dosa, P.I.; DeWinter, E.; Steer, C.J.; Shaughnessy, M.K.; Johnson, J.R.; Khoruts, A.; Sadowsky, M.J. Changes in Colonic Bile Acid Composition following Fecal Microbiota Transplantation Are Sufficient to Control *Clostridium difficile* Germination and Growth. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0147210. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147210>.
24. Blake, A.B.; Cigarroa, A.; Klein, H.L.; Khattab, M.R.; Keating, T.; Van De Coevering, P.; Lidbury, J.A.; Steiner, J.M.; Suchodolski, J.S. Developmental stages in microbiota, bile acids, and clostridial species in healthy puppies. *J. Vet. Intern. Med.* **2020**, *34*, 2345–2356. <https://doi.org/10.1111/jvim.15928>.
25. Gibson, G.R.; Hutkins, R.; Sanders, M.E.; Prescott, S.L.; Reimer, R.A.; Salminen, S.J.; Scott, K.; Stanton, C.; Swanson, K.S.; Cani, P.D.; et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2017**, *14*, 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>.
26. Roberfroid, M.; Gibson, G.R.; Hoyles, L.; McCartney, A.L.; Rastall, R.; Rowland, I.; Wolvers, D.; Watzl, B.; Szajewska, H.; Stahl, B.; et al. Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *Br. J. Nutr.* **2010**, *104* (Suppl. S2), S1–S63. <https://doi.org/10.1017/S0007114510003363>.
27. Rioux, K.P.; Madsen, K.L.; Fedorak, R.N. The role of enteric microflora in inflammatory bowel disease: Human and animal studies with probiotics and prebiotics. *Gastroenterol. Clin. N. Am.* **2005**, *34*, 465–482, ix. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2005.05.005>.
28. Bengmark, S. Bioecologic control of the gastrointestinal tract: The role of flora and supplemented probiotics and synbiotics. *Gastroenterol. Clin. N. Am.* **2005**, *34*, 413–436, viii. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2005.05.002>.
29. Mortier, F.; Strohmeyer, K.; Hartmann, K.; Unterer, S. Acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs: 108 cases. *Vet. Rec.* **2015**, *176*, 627. <https://doi.org/10.1136/vr.103090>.
30. AlShawaqfeh, M.K.; Wajid, B.; Minamoto, Y.; Markel, M.; Lidbury, J.A.; Steiner, J.M.; Serpedin, E.; Suchodolski, J.S. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2017**, *93*, fix136. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix136>.
31. Sung, C.H.; Pilla, R.; Chen, C.C.; Ishii, P.E.; Toresson, L.; Allenspach-Jorn, K.; Jergens, A.E.; Summers, S.; Swanson, K.S.; Volk, H.; et al. Correlation between Targeted qPCR Assays and Untargeted DNA Shotgun Metagenomic Sequencing for Assessing the Fecal Microbiota in Dogs. *Animals* **2023**, *13*, 2597. <https://doi.org/10.3390/ani13162597>.
32. Li, Q.; Larouche-Lebel, E.; Loughran, K.A.; Huh, T.P.; Suchodolski, J.S.; Oyama, M.A. Gut Dysbiosis and Its Associations with Gut Microbiota-Derived Metabolites in Dogs with Myxomatous Mitral Valve Disease. *mSystems* **2021**, *6*, e00111-21. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00111-21>.
33. Ziese, A.L.; Suchodolski, J.S.; Hartmann, K.; Busch, K.; Anderson, A.; Sarwar, F.; Sindern, N.; Unterer, S. Effect of probiotic treatment on the clinical course, intestinal microbiome, and toxigenic *Clostridium perfringens* in dogs with acute hemorrhagic diarrhea. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0204691. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204691>.
34. Suchodolski, J.S.; Markel, M.E.; Garcia-Mazcorro, J.F.; Unterer, S.; Heilmann, R.M.; Dowd, S.E.; Kachroo, P.; Ivanov, I.; Minamoto, Y.; Dillman, E.M.; et al. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e51907. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051907>.
35. Werner, M.; Ishii, P.E.; Pilla, R.; Lidbury, J.A.; Steiner, J.M.; Busch-Hahn, K.; Unterer, S.; Suchodolski, J.S. Prevalence of *Clostridioides difficile* in Canine Feces and Its Association with Intestinal Dysbiosis. *Animals* **2023**, *13*, 2441. <https://doi.org/10.3390/ani13152441>.
36. Whittemore, J.C.; Price, J.M.; Moyers, T.; Suchodolski, J.S. Effects of Synbiotics on the Fecal Microbiome and Metabolomic Profiles of Healthy Research Dogs Administered Antibiotics: A Randomized, Controlled Trial. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 665713. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.665713>.
37. Gronvold, A.M.; L'Abée-Lund, T.M.; Sorum, H.; Skancke, E.; Yannarell, A.C.; Mackie, R.I. Changes in fecal microbiota of healthy dogs administered amoxicillin. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2010**, *71*, 313–326. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00808.x>.

38. Manchester, A.C.; Webb, C.B.; Blake, A.B.; Sarwar, F.; Lidbury, J.A.; Steiner, J.M.; Suchodolski, J.S. Long-term impact of tylosin on fecal microbiota and fecal bile acids of healthy dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **2019**, *33*, 2605–2617. <https://doi.org/10.1111/jvim.15635>.
39. Igarashi, H.; Maeda, S.; Ohno, K.; Horigome, A.; Odamaki, T.; Tsujimoto, H. Effect of oral administration of metronidazole or prednisolone on fecal microbiota in dogs. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e107909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107909>.
40. Sindern, N.; Suchodolski, J.S.; Leutenegger, C.M.; Mehdizadeh Gohari, I.; Prescott, J.F.; Proksch, A.L.; Mueller, R.S.; Busch, K.; Unterer, S. Prevalence of *Clostridium perfringens* netE and netF toxin genes in the feces of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* **2019**, *33*, 100–105. <https://doi.org/10.1111/jvim.15361>.
41. Leipig-Rudolph, M.; Busch, K.; Prescott, J.F.; Mehdizadeh Gohari, I.; Leutenegger, C.M.; Hermanns, W.; Wolf, G.; Hartmann, K.; Verspohl, J.; Unterer, S. Intestinal lesions in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome associated with netF-positive *Clostridium perfringens* type A. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2018**, *30*, 495–503. <https://doi.org/10.1177/1040638718766983>.
42. Marques, C.; Belas, A.; Franco, A.; Aboim, C.; Gama, L.T.; Pomba, C. Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study. *J. Antimicrob. Chemother.* **2018**, *73*, 377–384. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx401>.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

4. Diskussion

Studiendaten der vergangenen Jahre zeigten bei Hunden mit AD hinsichtlich deren klinischen Verlaufs keinen signifikanten Vorteil infolge der Verabreichung von Metronidazol im Vergleich zu Probiotika oder Probiotika verwandten Präparaten wie Synbiotika [6, 9]. Dennoch liegt der Einsatz von Metronidazol bei Erstvorstellung von Hunden mit einem akuten Durchfallgeschehen bei über 50% [15, 110-112]. Dies widerspricht Empfehlungen zur Therapie von AD bei Hunden [16, 17]. Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit dieser Diskrepanz und umfasst Daten, die Synbiotika als sinnvolle Metronidazol-sparenden Therapie bei AD des Hundes bestätigen.

Ziel des Übersichtsartikels war es, einen Überblick zum Einsatz von Probiotika bei akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes für die Kleintierpraxis darzustellen.

Ziel der zweiten prospektiven, randomisierten und geblindeten klinischen Studie war die Evaluierung der klinischen Verbesserung von Hunden mit AD, die entweder mit Metronidazol oder einem Synbiotikum behandelt wurden. Ein weiterer Aspekt der Studie war die Untersuchung des intestinalen Mikrobioms bei AD und unter Therapie mit Metronidazol versus einer Synbiotikumbehandlung.

Das intestinale Mikrobiom des Hundes setzt sich aus Bakterien, Pilzen, Viren, Protozoen und Archaea zusammen und stellt eine symbiotische Einheit mit dem Wirtsorganismus dar. Es wurden mehr als 10 bakterielle Phyla identifiziert, wobei *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobakterien*, *Fusobakterien* und *Actinobakterien* mehr als 99% der gesamten Darm-Mikrobiota ausmachen. Mitentscheidende Aufgaben der intestinalen Mikroorganismen ist die Abwehr potenziell pathogener Erreger, Mitarbeit bei der Verdauung, Herstellung von Nahrungsbestandteilen und Mitentwicklung des Immunsystems [113]. Von einer intestinalen Dysbiose wird gesprochen, wenn es zu Verschiebungen der Zusammensetzung der intestinalen Mikroorganismen kommt [114]. Die Ursachen für eine intestinale Dysbiose sind vielfältig, jedoch stellt sich nach einem akuten Insult in der Regel zügig wieder eine Normobiose ein [113]. Zwei Insulte, welche zu höhergradigen und längerfristigen Verschiebungen des intestinalen Mikrobioms führen können, sind chronische Enteropathien oder der Einsatz von Antibiotika [113].

Das intestinale Mikrobiom von Hunden mit AD wurde in der zweiten Studie durch den Dysbiose Index (DI) erfasst [101]. Der DI ist ein mathematisches Modell, um eine intestinale Dysbiose in Kotproben von Hunden zu detektieren. Durch Untersuchungen mithilfe von quantitativen Echtzeit-PCRs und 16S-ribosomaler-Ribonukleinsäure-(16S-rRNA)-Gen-Sequenzierung konnte gezeigt werden, dass anhand von 7 bakteriellen Gruppen eine Differenzierung zwischen intestinaler Dysbiose und Normobiose im Kot von Hunden möglich ist. Daher wurden die individuellen quantitativen PCRs von 7 Bakterien Taxa (*Faecalibacterium* ssp., *Turicibacter* ssp., *Streptococcus* ssp., *E. coli*, *Blautia* ssp., *Fusobacterium* ssp. und *Clostridium hiranonis*) und die Gesamtheit der Bakterien in den Kotproben an Tag 0, 6 und 30 analysiert. Der resultierende DI ist eine numerische Zahl und kann mithilfe eines Referenzintervalls (-9,1 bis 9,3) zur Interpretation von Veränderungen des intestinalen Mikrobioms genutzt werden. Die Definition des Referenzbereichs wurde auf Basis von 116 gesunden Hunden etabliert. Zur detaillierten Interpretation wurde drei Untergruppen definiert und über eine Studie bestätigt [7, 102]:

- Ein DI <0 wurde danach definiert, dass keine Veränderung in der Gesamtheit der Bakteriendiversität vorliegt; geringfügige Abweichungen wurden als eine Verschiebung des individuellen Referenzintervalls einzelner Bakteriengruppen interpretiert

- Ein DI 0 bis 2 wurde als eine milde Zunahme des DI definiert und weist auf eine milde bis moderaten Abweichung der Gesamtheit der Bakteriendiversität hin
- Ein DI >2 wurde als ein signifikant erhöhter DI definiert und zeigt eine entscheidende Verschiebung der Gesamtheit der Bakteriendiversität an

Die Konzentration des *C. perfringens* 16S rRNA-Gens und des *C. perfringens* Enterotoxin-Gens sowie des *C. perfringens* NetF-Gens wurde ebenfalls in Kotproben über eine qPCR analysiert [7, 22]. Auch hier wurden, basierend auf Daten von 120 gesunden Hunden, individuelle Referenzintervalle etabliert (*C. perfringens*: 1,1 bis 6,5; *C. perfringens* Enterotoxin 1,8 bis 5,1). Für das *C. perfringens* Toxin NetF und *C. difficile* wurde erachtet, dass diese bei gesunden Hunden nicht nachweisbar sind. Die qPCR-Ergebnisse wurden als logarithmische DNA-Menge (fg) für jede Bakteriengruppe pro 10 ng isolierter Gesamt-DNA ausgedrückt.

Verschiedene Studien bei Hunden mit chronischen Enteropathien konnten zeigen, dass eine markante Verschiebung des intestinalen Mikrobioms vorliegen kann und diese Hunde in der Folge einen signifikant erhöhten DI aufweisen [101, 104, 115]. Mitentscheidend für die Verschiebung des DI kann eine Reduktion der *C. hiranonis* Konzentration sein [101]. *C. hiranonis* metabolisiert via einer 7- α -Dehydroxylation primäre in sekundäre Gallensäuren [24, 90, 116]. Eine Studie konnte nachweisen, dass die Konzentration von *C. hiranonis* > 4,5 (in log₁₀) betragen muss, um ausreichend primäre in sekundäre Gallensäure metabolisieren zu können [103]. Sekundäre Gallensäuren spielen eine Rolle in der Abwehr potenziell pathogener Bakterien wie *C. difficile* [103]. Folglich kann eine chronische Enteropathie mit einer intestinalen Dysbiose und damit einer Abnahme der Konzentration von *C. hiranonis* verbunden sein [101, 105]. Dies wiederum kann zu einer erhöhten Nachweisbarkeit von *C. difficile* führen [105]. In der aktuellen Studie wurde am Tag der Vorstellung bei einem Hund ein signifikant erhöhter DI festgestellt und eine signifikant unterhalb des Referenzbereichs liegende Konzentration von *C. hiranonis* gemessen. Bei diesem Hund wurde 24 Monate später wegen rezidivierender gastrointestinaler Symptome eine Gastroskopie durchgeführt und histologisch eine chronische Entzündung des Magens nachgewiesen. Es wird vermutet, dass er zum Zeitpunkt der DI-Bestimmung möglicherweise bereits eine nicht näher definierte chronische Veränderung des Magen-Darm-Traktes hatte und der akut auftretende Durchfall eher als ein Symptom einer chronischen gastrointestinalen Erkrankung gewertet werden muss.

Die Analyse des DI der restlichen Hunde der Studie bestätigte, dass Hunde mit akuten gastrointestinalen Erkrankungen wie AD oder AHDS in der Mehrheit keine signifikante intestinale Dysbiose aufweisen [7, 20]. Auch *C. hiranonis* lag bei dem meisten Hunden im Referenzintervall oder nur geringgradig darunter. *C. difficile* wurde bei Hunden mit AD nicht nachgewiesen.

Bei einigen Hunden konnte am Vorstellungstag ein geringfügig erhöhter DI gemessen werden. Es wird vermutet, dass milde Verschiebungen von *C. perfringens* und *E. coli* für die Abweichung verantwortlich sein können.

E. coli ist ein normaler Bestandteil des intestinalen Mikrobioms [117, 118]. Viele *E. coli*-Stämme sind opportunistisch pathogen, dennoch gibt es auch Stämme, die primär pathogen sein können [118]. Diese Pathovaren können zu akuten und auch chronischen Durchfallerkrankungen beim Hund führen [118]. Die Bestimmung dieser Pathovaren ist dahingehend eingeschränkt, da sie mit routinemäßigen Tests wie einer bakteriellen Kultur als Teil des intestinalen Mikrobioms bei erkrankten aber auch bei gesunden Hunden isolierbar sind [117]. Die genaue Charakterisierung des isolierten Stamms z.B. über eine PCR ist in Folge sinnvoll [117]. Dennoch können auch bei

klinisch unauffälligen Hunden pathogene *E. coli* gefunden werden [118]. Eine Sonderform einer *E. coli* assoziierten Darmerkrankung ist die histiozytäre ulzerative Colitis (HUC). Ursächlich für die Erkrankung bei vornehmlich jungen Boxern oder sehr jungen französischen Bulldoggen sind entero-invasive *E. coli*, welche über Kolonbiopsien intrazellulär nachweisbar sind [119, 120]. *C. perfringens* kann ebenso, als Bestandteil des intestinalen Mikrobioms, bei Hunden mit oder ohne Durchfall nachgewiesen werden [118, 121]. *C. perfringens* kann für verschiedene Toxine codieren, diese Toxinträger sind aber ebenfalls bei gesunden Hunden nachweisbar [117, 118, 121]. Eine Sonderform scheint das durch *C. perfringens* gebildete nekrotisierende Toxin NetF zu sein. Es spielt möglicherweise eine entscheidende Rolle in der Pathogenese von AHDS, da bei einem Großteil der erkrankten Hunde das Toxin-Gen nachgewiesen werden konnte [18-20]. Bei Hunden mit AD zeigte sich, dass der gering erhöhte PCR-Nachweis von sowohl *E. coli* als auch *C. perfringens* nicht in jedem Fall in einer antibiotischen Therapie münden muss. Es ergab sich kein Vorteil durch die Verabreichung von Metronidazol hinsichtlich des Nachweises von *C. perfringens* oder auch dem von *C. perfringens* codierten Enterotoxin-Gen. Das durch *C. perfringens* codierte Toxin NetF-Gen wurde in der Studie nur vereinzelt nachgewiesen. Die Therapie mit Metronidazol führte zu einer anhaltend signifikant erhöht messbaren Konzentration an *E. coli* verglichen mit der Gruppe, die ein Synbiotikum erhielt. Folglich können *C. perfringens* und *E. coli* bei Hunden mit AD erhöht nachgewiesen werden, was jedoch weniger als ein Auslöser, sondern vielmehr als eine milde, selbstlimitierende bakterielle Verschiebung und in der Folge als eine transiente intestinale Dysbiose interpretiert werden kann [22]. Auch bei AHDS bedeutet der PCR-Nachweis des NetF-Gens nicht in jedem Fall, dass eine antibiotische Behandlung erfolgen muss, da Hunde mit AHDS in vielen Fällen gut auf eine symptomatische Therapie ansprechen. Antibiotika sollten dabei Tieren mit Anzeichen auf eine bakterielle Translokation vorbehalten sein [20, 21]. Im Gegensatz dazu ist beim Nachweis intrazellulärer *E. coli*-Stämme in pathohistologischen Kolonproben bei Französischen Bulldoggen, Boxern oder weiteren empfänglichen Rassen, eine antibiotische Therapie der HUC mit Enrofloxacin sinnvoll und kann zur Ausheilung der Erkrankung führen [119].

AD führte bei den meisten Hunden der aktuellen Studie zu keiner signifikanten intestinalen Dysbiose. Im Verlauf der Studie aber bestätigten sich frühere Ergebnisse, nach denen der Einsatz von Metronidazol zu einer hochgradigen intestinalen Dysbiose führen kann [24]. Der erhöhte DI konnte auch 3 Wochen nach Absetzen der Therapie bei einem Teil der Hunde weiterhin nachgewiesen werden. Die Mehrheit der Hunde der Vergleichsgruppe mit Verabreichung eines Synbiotikums wiesen im Gegensatz dazu zu keinem Zeitpunkt einen signifikant erhöhten DI auf. Auch der Anteil an *E. coli* sank in der Synbiotikagruppe signifikant stärker ab. Schlussfolgernd führte nicht die Erkrankung zu einer signifikanten intestinalen Dysbiose, sondern die Verabreichung von Metronidazol. Das Synbiotikum hatte einen positiven Effekt auf die Entwicklung des intestinalen Mikrobioms. Synbiotika sind Präparate, die sowohl prä- als auch probiotische Inhaltstoffe haben [34, 35]. Probiotika sind Präparate mit lebenden Mikroorganismen, die, wenn sie in ausreichender Menge aufgenommen werden, einen gesundheitlichen Nutzen bringen [26]. Beispiele sind *Enterococcus faecium* oder *Lactobacillus* ssp. Präbiotika enthalten Substrate, die von Wirtsmikroorganismen selektiv verwertet werden und einen gesundheitlichen Nutzen bringen [36]. Beispiele für Präbiotika sind Inulin, Fruktooligosaccharide (FOS), Mananoligosaccharide (MOS) und Galactooligosaccharide [37]. Die Wirkmechanismen von Probiotika scheinen vielfältig zu sein und sind noch nicht bis ins Detail verstanden [122]. Eine Interaktion mit den Mikroorganismen des intestinalen Mikrobioms wird vermutet [123]. Interessanterweise zeigten 58% der Synbiotika behandelten Hunde der aktuellen Studie auch an Tag 30 nach der Erkrankung noch geringfügige

Abweichungen des intestinalen Mikrobioms. Der Insult eines akuten Durchfallgeschehens scheint folglich mild zu sein, trotzdem sind die Folgen auch längerfristig zu sehen. Zukünftige Studien sind erforderlich, um hier den Vergleich zu einer Placebogruppe zu sehen und den Effekt einer längerfristigen Synbiotika-Verabreichung auf den DI und den klinischen Verlauf evaluieren zu können.

Die durchgeführte Studie ist eine Folgestudie für vorangegangene Evaluationen von Probiotika sowie Synbiotika bei AD. Es zeigte sich, dass diese Präparate eine äquivalente Therapieoption bei AD sein können (9, 11, 15-17). Probiotika oder Probiotika verwandte Präparate wie Synbiotika wurden aber auch bei weiteren akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes eingesetzt und ihre Wirksamkeit evaluiert. Bei akuten gastrointestinalen Erkrankungen kann deren Einsatz, neben AD, bei AHDS oder einer Infektion mit dem Parvovirus erfolgreich sein und den klinischen Verlauf vorteilhaft beeinflussen [20, 53]. Eine Infektion mit *Giardia duodenalis* hingegen wurde mit weniger Erfolg mit Probiotika therapiert [58, 124]. Klinische Verläufe von chronischen Enteropathien wie der Inflammatory Bowel Disease (IBD) verbesserten sich durch die Verabreichung multistämmiger Probiotika, wobei Futtermittel- oder Antibiotika-assoziierte chronische Enteropathien weniger stark beeinflusst werden konnten. Eine individuelle Auswahl des Probiotikums bzw. Synbiotikums je nach Erkrankung erscheint folglich sinnvoll. Ebenfalls eine Überlegung wert ist die Auswahl des Präparats. Es werden, basierend auf der Taxonomie von Mikroorganismen, mono- von multistämmigen Probiotika unterschieden, wobei ein monostämmiges Probiotikum einen einzelnen Stamm enthält. Multiple Stämme einer Spezies oder Genus sowie Stämme multipler Genera sind in multistämmigen Probiotika vermengt. Neben Bakterien, die mit am frequentesten genutzt werden, können auch Pilze eingesetzt werden [27]. Dadurch ist eine weitere Einteilung zwischen Probiotika bakteriellen Ursprungs und nicht bakteriellen Ursprungs möglich [28]. Klassifiziert werden kann zusätzlich zwischen sporenbildenden und nicht-sporenbildenden Probiotika [31] sowie zwischen allochthonen und autochthonen Probiotika. Hefen, als eine Art Durchgangsmikroorganismus, gehören beispielsweise zu den allochthonen Probiotika [33].

Ein weiterer untersuchter Parameter der zweiten Studie war die vergleichende Evaluierung klinischer Parameter bei Hunden mit AD und einer Behandlung mit Metronidazol oder einem Synbiotikum. Ziel war eine Bestätigung der äquivalenten klinischen Verbesserung bei betroffenen Hunden beider Therapieoptionen [6, 9, 14].

Zur Beurteilung wurde der bereits häufig genutzte Canine Acute Diarrhea Severity Index (CADS-Index) verwendet [7, 9]. Er beinhaltet die durchfallspezifischen Parameter Kotabsatzfrequenz/Tag und Kotkonsistenz, die Beurteilung des Appetits und möglichen Erbrechens/Tag sowie die Erfassung der Aktivität des Hundes und wurde täglich über 11 Tage erfasst. Zur Objektivierung wurde in der aktuellen Studie bei der Beurteilung der Kotkonsistenz das Purina Fecal Scoring Chart abgebildet (<https://freedom servicedogs.org/wp-content/uploads/2022/04/Purina-Fecal-Scoring-Chart.pdf>). Möglicherweise sollte bei zukünftigen AD-Studien bei der Beurteilung klinischer Faktoren ein angepasster Index genutzt werden. Dieser sollte individuelle Einflüsse wie die Rasse oder das Alter auf Aktivität und Appetit minimieren und durchfallspezifische Parameter erweitern. So können noch weitere Details wie Blut- oder Schleimbeimengungen im Kot erfasst werden. Über eine Anpassung des Parameters Kotabsatzfrequenz/Tag kann ebenfalls nachgedacht werden. Es wurde als physiologisch angesehen, dass Hunde eine Kotabsatzfrequenz von maximal 2 Ko-

tabsätzen pro Tag haben. Hier kann diskutiert werden inwieweit Fütterungsfrequenzen sowie individuelle Aktivitätslevel einen Einfluss aufweisen und die Kotabsatzfrequenz mit 2-3x/Tag ebenfalls physiologisch sein kann.

Bei der Auswertung des CADS-Index in der aktuellen Studie zeigte sich, mit Ausnahme des dritten Tages, kein signifikanter Unterschied zwischen einer Metronidazoltherapie und einer Behandlung mit Synbiotika. Der Unterschied an Tag 3 resultiert aus einem stärker reduzierten Appetit und weniger Aktivität in der Gruppe der Synbiotikabehandlung. Es ergab sich bezüglich der durchfallspezifischen Parameter Kotkonsistenz und Absatzfrequenz an keinem Tag ein signifikanter Unterschied. Der Unterschied an einem Tag im gesamten CADS-Index verliert vor dem Hintergrund der verursachten intestinalen Dysbiose durch Metronidazol an Bedeutung. Es kann diskutiert werden, ob Metronidazol auch dann nicht befürwortet werden kann, sollte der Einsatz von Metronidazol einen signifikanten Vorteil auf die klinische Verbesserung erreichen können. Weiter zeigte bislang nur eine Studie, dass Metronidazol zu einer ca. 36 Stunden schnellere Ausheilung des Durchfalls führen kann [8].

Zusätzlich kann der Einsatz von Metronidazol, neben der intestinalen Dysbiose, zu weiteren unerwünschten Wirkungen führen. Es werden abdominale Schmerzen oder Durchfall beschrieben [92]. In einigen Berichten waren neurologische Anzeichen im Zusammenhang mit der Gabe von Metronidazol auffällig. Beschrieben wurden unter anderem ein ataktischer Gang, Krampfanfälle, Tremor und Nystagmus [45, 92, 125]. Die neurologischen Anzeichen traten einer Studie nach bei einer medianen Behandlungsdauer von 35 Tagen mit einer medianen Dosierung von 21 mg/kg 2 x täglich auf. Die klinischen Anzeichen waren ca. 3 Tage nach Absetzen von Metronidazol rückläufig [25]. Der genaue Mechanismus, der zu diesen neurologischen Auffälligkeiten führen kann, ist bisher nicht vollkommen geklärt [92].

Daten zu Antibiotikaresistenzen von Metronidazol beim Hund scheinen in geringen Umfang vorzuliegen. Bei einem gesunden Hund wurde ein Metronidazol-resistentes *C. difficile* Isolat gefunden [126].

Eine Limitation der klinischen Studie umfasst die Verabreichung der Therapie durch die Besitzer zuhause. Sie wurden zwar über die richtige Vorgehensweise informiert, dennoch ist eine nicht korrekte Verabreichung nicht auszuschließen. Weiter wurde die klinische Verbesserung über den CADS-Index durch eine Befragung der Tierhalter erfasst. Auch wenn durch Abbildung des Purina Fecal Scoring Charts die Beurteilung der Kotkonsistenz objektiviert wurde, können andere Parameter wie z.B. die Aktivität durch Subjektivität beeinflusst worden sein.

Eine weitere Limitation der Studie ist das Fehlen einer Placebogruppe, was einen Vergleich zu einer symptomatischen Therapie eines AD ermöglicht hätte. Als zusätzliche Limitation zu beschreiben ist die kleine Studienpopulation. Durch vorherige Studien kann man aber von einem, trotz kleiner Studiengruppe, repräsentativem Ergebnis hinsichtlich des Effekts auf das intestinale Mikrobiom durch Metronidazol ausgehen.

Zusammenfassend bestätigen die Daten der klinischen Studie bisherige Studienergebnisse und Empfehlungen, in welchen Probiotika bzw. Synbiotika als adäquate Therapiealternative zu Metronidazol bei AD benannt sind. Es ist, beim Vergleich mit Synbiotika, von keinem signifikanten Vorteil auf die klinische Verbesserung von AD betroffenen Hunden durch den Einsatz von Metronidazol auszugehen. Bei Hunden mit AD lassen sich in der Mehrheit nur geringfügige Verschiebungen des intestinalen Mikrobioms nachvollziehen, wohingegen durch die Verabreichung von Metronidazol eine signifikante intestinale Dysbiose induziert wurde. Bei der Verschreibung von

Synbiotika bei AD kann von einer ausreichend klinischen Verbesserung und einer positiven Beeinflussung des intestinalen Mikrobioms ausgegangen werden.

5. Zusammenfassung

Akuter unkomplizierter Durchfall (AD) ist ein häufiges Erkrankungsbild in der tierärztlichen Praxis und Klinik. Studien zufolge werden in vielen Fällen verschiedene antibiotische Wirkstoffe, allen voran Metronidazol, eingesetzt. Dies widerspricht bisherigen Studienergebnissen nach denen Antibiotika keinen Vorteil hinsichtlich der klinischen Verbesserung aufweisen, wenn sie mit Probiotika oder Probiotika verwandten Präparaten wie Synbiotika verglichen werden. Folglich wird auch in Empfehlungen zur Therapie eines AD's Abstand zum Antibiotikaeinsatz genommen. Weitere Gründe hierfür sind, neben der Zunahme an Antibiotikaresistenzen, die unerwünschten Wirkungen durch die Verabreichung der antibiotischen Wirkstoffe. Hierbei sind gastrointestinale und neurologische Anzeichen möglich. Zudem konnte nach Verabreichung von Metronidazol die Entstehung von intestinalen Dysbiosen nachgewiesen werden. In dieser Arbeit wurde bestätigt, dass Probiotika bzw. Synbiotika bei AD eine Therapiealternative zu Metronidazol darstellen, da ihre Verabreichung eine äquivalente klinische Verbesserung betroffener Hunde induzierte und der Einsatz von Metronidazol zu einer intestinalen Dysbiose führte.

Probiotika sind Präparate, die lebende Mikroorganismen enthalten und dem Empfänger, bei Aufnahme adäquater Mengen, zu einem gesundheitlichen Nutzen verhelfen. Präbiotika hingegen sind nicht-verdauliche Substrate, die dem Empfänger zu einem gesundheitlichen Nutzen verhelfen, indem sie selektiv das Wachstum oder die Aktivität einzelner oder bestimmter Bakterien im Kolon stimulieren. Synbiotika enthalten sowohl probiotische Mikroorganismen als auch präbiotische Substrate. In Deutschland werden Probiotika oder Synbiotika als Futtermittelzusatzstoff definiert und werden entsprechend in einer Liste des Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit aufgeführt. Sie können in verschiedene Untergruppen eingeteilt werden. Basierend auf der Taxonomie von Mikroorganismen werden mono- und multistämmige Probiotika unterschieden. Zusätzlich können sie in Probiotika bakteriellen und nicht bakteriellen Ursprungs oder sporenbildende und nicht-sporenbildende Probiotika differenziert werden. Autochthone Probiotika enthalten Mikroorganismen, die regelmäßig aus dem intestinalen Mikrobiom des Hundes isoliert werden können, welches bei allochthonen Probiotika nicht der Fall ist.

Neben der Evaluation von Probiotika oder Probiotika verwandten Präparaten wie Synbiotika bei AD, wurden diese Produkte bisher bei verschiedenen weiteren akuten als auch chronischen gastrointestinalen Erkrankungen des Hundes eingesetzt. Bei dem akut auftretenden hämorrhagischen Diarrhösyndrom (AHDS) war ein multistämmiges Probiotikum mit einer beschleunigten Normalisierung des intestinalen Mikrobioms verbunden. Hunde mit aseptischem Verlauf von AHDS zeigten ein schnelleres Absinken der NetF-Toxin-Gene. Eine schnelle klinische Verbesserung war in beiden Gruppen mit einer symptomatischen Therapie sowie Probiotika ohne Antibiotika zu sehen. Auch Hunde mit einer Parvovirose-Infektion können vom Einsatz eines Probiotikums profitieren. Bei Endoparasiten-assoziierten gastrointestinalen Erkrankungen wie der Giardiose oder bei einer Infektion mit Hakenwürmern war die Verabreichung von Probiotika weniger erfolgreich. Bei Hunden mit einer chronischen Inflammatory Bowel Disease (IBD) zeigte sich durch multistämmige Probiotika eine Verbesserung des klinischen Verlaufs. Bei chronischen Enteropathien, die als Futtermittel- oder Antibiotika-responsiv definiert werden, zeigte sich eine weniger positive Beeinflussung.

Ziel der prospektiven, randomisierten und geblindeten Studie war es, die Auswirkung sowohl eines akuten Durchfallgeschehens als auch von Metronidazol auf das intestinale Mikrobiom zu evaluieren. Dabei wurde der Dysbiose Index (DI) als Methode gewählt. Hierbei handelt es sich

um eine PCR-basierte Analyse von 7 bakteriellen Vertretern (*Faecalibacterium* ssp., *Turicibacter* ssp., *Streptococcus* ssp., *Escherichia coli*, *Blautia* ssp., *Fusobacterium* ssp. und *Clostridium hiranonis*) und der Gesamtheit der Bakterien. Die Bestimmung des DI erfolgte aus dem Kot der Hunde. Der resultierende Zahlenwert ermöglicht es eine intestinale Dysbiose von einer Normobiose zu unterscheiden und Rückschlüsse auf den Grad und mögliche Ursachen einer intestinalen Dysbiose zu schließen.

Durch Studien der Vergangenheit zeigte sich, dass Hunde mit einer chronischen Enteropathie eine markante intestinale Dysbiose und eine deutlich reduzierte Konzentration des intestinalen Bakteriums *Clostridium hiranonis* (*C. hiranonis*) aufweisen können. *C. hiranonis* spielt eine entscheidende Rolle in der Metabolisierung von primären in sekundäre Gallensäuren. Ein akuter Insult wie AD führte in der aktuellen Studie bei den meisten Hunden zu geringgradigen Verschiebungen des DI. Die Konzentration von *C. hiranonis* lag bei dem Großteil der Hunde im Referenzbereich. Der geringgradig erhöhte DI bei AD ist durch eine moderate Erhöhung der Konzentrationen von *C. perfringens* und *Escherichia coli* (*E. coli*) erklärbar. Im Verlauf der Studie zeigte sich, dass diese milden Verschiebungen transient waren und sich die Konzentrationen von *C. perfringens* und *E. coli* ohne antibiotische Therapie zurück in den Referenzbereich entwickelten. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Konzentration von *C. perfringens* zwischen der Patientengruppe, die das Synbiotikum bekam und der, die Metronidazol erhielt. Der Einsatz des Synbiotikums hatte dahingehend eine positive Auswirkung, dass die Konzentration von *E. coli* im Vergleich zur Metronidazol-Gruppe signifikant abfiel.

Neben der Entwicklung chronischer Enteropathien kann die Verabreichung von Antibiotika zu einer deutlichen Verschiebung des DI führen. In der aktuellen Studie ergab sich durch die Anwendung von Metronidazol sowohl unter Therapie als auch 3 Wochen nach Absetzen der Behandlung eine signifikante Erhöhung des DI sowie eine signifikante Reduktion der Konzentration von *C. hiranonis*. Bei den Hunden der Synbiotikagruppe lagen sowohl der DI als auch die Konzentration von *C. hiranonis* bei dem Großteil der Hunde zu jedem Messzeitpunkt im Referenzbereich.

Ein Ziel der klinischen Studie war die Evaluation der klinischen Verbesserung im Rahmen eines Vergleichs der Behandlung mit Metronidazol und einem Synbiotikum. Am dritten Behandlungstag zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Canine Acute Diarrhea Severity Index (CADS-Index). Dieser erfasst die durchfallspezifischen Parameter Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz/Tag sowie die Aktivität, den Appetit sowie das Auftreten von Erbrechen/Tag. Am Tag 3 zeigten mehr Hunde der Synbiotikagruppe eine reduzierte Aktivität sowie weniger Appetit. Bei der Auswertung der Parameter Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz ergab sich an keinem Tag ein Unterschied zwischen beiden Gruppen. Die schnellere klinische Verbesserung am Tag 3 durch Metronidazol verliert unter Berücksichtigung der verursachten intestinalen Dysbiose an Bedeutung, zumal es keinen signifikanten Unterschied der durchfallspezifischen Parameter Kotkonsistenz und Kotabsatzfrequenz zwischen beiden Gruppen gab. Die Studiendaten können folglich dahingehend interpretiert werden, dass sie bisherige Untersuchungen bestätigen, in denen Probiotika oder Synbiotika einen äquivalenten Effekt auf die klinische Verbesserung bei AD aufwiesen.

Zusammenfassend lässt sich auf Basis der vorliegenden Arbeit darstellen, dass AD eine häufige akute gastrointestinale Erkrankung des Hundes ist, die nicht durch den Einsatz von Metronidazol zu profitieren scheint. Metronidazol kann zur Entwicklung einer intestinalen Dysbiose führen und

weist keinen signifikanten Vorteil hinsichtlich des klinischen Verlaufs auf. Synbiotika können hingegen bei AD eine alternative Therapieform zur Antibiotikabehandlung darstellen, da infolge deren Einsatzes eine äquivalente klinische Verbesserung erzielt und das intestinale Mikrobiom positiv beeinflussen werden kann.

6. Summary

Acute uncomplicated diarrhea (AD) is a common reason for veterinary consultations. Antibiotic agents, especially metronidazole, are frequently prescribed in this disease entity. Concerning the dogs' clinical improvement, previous studies have failed to show an advantage of treatment with metronidazole when compared to probiotics or probiotic-related preparations such as synbiotics. In addition to this aspect as well as the global increase of antibiotic resistance, different side effects are known to occur in consequence to the administration of antibiotic agents. Dogs may exhibit gastrointestinal and neurological signs and intestinal dysbiosis has been shown to develop following the administration of metronidazole. Nonetheless, the prescription of metronidazole for dogs with AD remains to be a frequent and routine measure in the clinical setting. The results of the presented clinical trial confirmed that synbiotics may represent an alternative treatment to metronidazole in AD. Both treatment types exhibited equivalent effects on the enrolled dogs' clinical improvement. Additionally, the use of metronidazole resulted in the development of significant intestinal dysbiosis.

Probiotics are defined as live strains of microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a healthy benefit on the host. Prebiotics are nondigestible food ingredients that beneficially affect the host by selectively stimulating growth and/or activity of one or a limited number of bacteria in the colon to improve host health. Synbiotics have probiotic and prebiotic properties. In Germany, probiotics are defined as additives to diets and are listed on a list of the Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. There are different subgroups of probiotics. Based on the taxonomy of microorganisms, there are mono- and multistrain probiotics. A distinction is made between probiotics of bacterial origin and non-bacterial origin and spore-forming and non-spore-forming probiotics. Autochthonous probiotics contain microorganisms that can be regularly isolated from the intestinal microbiome of dogs, which is not the case with allochthonous probiotics.

In addition to the evaluation of probiotics or probiotic-related preparations such as synbiotics in AD, these products have been used in various other acute and chronic gastrointestinal diseases in dogs. In dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS), the use of a multi-strain probiotic treatment was associated with an accelerated normalization of the intestinal microbiome. Dogs with aseptic AHDS showed a rapid decrease of netF-toxin-genes. A fast clinical recovery in two groups under symptomatic and synbiotic treatment without antibiotics was seen. Dogs with a parvovirus infection can have a benefit from the use of a probiotic. In endoparasite-associated gastrointestinal diseases such as giardiasis or hookworm infection, the administration of probiotics was less successful. In dogs with chronic inflammatory bowel disease (IBD), multi-strain probiotics showed an improvement in the clinical course. In chronic enteropathies, which are defined as responsive to diet or antibiotics, a less positive influence was shown.

One aim of the prospective, randomized, and blinded clinical trial was to evaluate the effect of acute diarrhea and the use of metronidazole on the intestinal microbiome. The Dysbiosis Index (DI) was used for this purpose. To calculate the DI, an individual PCR assay was performed in fecal samples for 7 bacterial taxa (*Faecalibacterium* spp., *Turicibacter* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Blautia* spp., *Fusobacterium* spp., and *Clostridium hiranonis*) and the total bacteria. The DI is a single numeric value and can be used to distinguish between normobiosis and intestinal dysbiosis or to estimate the level and causes of an intestinal dysbiosis.

Previous studies have shown that dogs with chronic enteropathies may display major intestinal dysbiosis as well as significantly reduced concentrations of *Clostridium hiranonis* (*C. hiranonis*). *C. hiranonis* has been reported to convey beneficial effects due to its conversion of primary to secondary bile acids. The results of the present study showed that AD does not lead to major alterations in the DI and the concentration of *C. hiranonis* was in the reference range in the majority of the dogs. The mild increase of the DI in AD may be related to minor alterations in the concentration of *C. perfringens* and *Escherichia coli* (*E. coli*). The evaluation of the DI over time revealed a transient alteration and the concentration of *C. perfringens* and *E. coli* returned to reference values without antibiotic treatment. There was no significant difference in abundance of *C. perfringens* between the metronidazole and synbiotic treatment groups. The synbiotic treatment exerted a positive effect, as the concentration of *E. coli* was significantly lower in comparison to the metronidazole group.

The use of antibiotics may be another cause for a significant increase of the DI. The present study showed that the administration of metronidazole resulted in a significant increase of the DI and a significant reduction in the concentration of *C. hiranonis* during treatment and 3 weeks following its discontinuation. Most dogs in the synbiotic treatment group showed a normal DI and the concentration of *C. hiranonis* remained within the reference interval over time.

A further aim of the present study was the comparison of the clinical improvement in dogs with AD receiving either metronidazole or synbiotic treatment. Between both groups, a significant difference regarding the Canine Acute Diarrhea Severity Index (CADS-Index) was observed on day 3. The CADS-Index includes the following parameters: activity, appetite, vomiting times/day, fecal consistency, and defecation frequency times/day. On day 3, a higher number of dogs in the synbiotic treatment group exhibited reduced appetite and activity. However, there was no significant difference between both groups on any day during the study period regarding the diarrhea-specific parameters fecal consistency and defecation frequency. Thus, in comparison to the synbiotic treatment, metronidazole had a negative effect on the core microbiome without affecting clinical outcome.

In summary, AD is a common acute gastrointestinal disease in dogs that does not seem to benefit from treatment with metronidazole, as metronidazole led to intestinal dysbiosis and failed to convey beneficial effects in terms of clinical outcome. Synbiotics may represent an alternative treatment option to antibiotic agents in the treatment of AD, due to the observation that the administration of these substances resulted in equivalent clinical improvement as well as a positive influence on the dogs' intestinal microbiome.

Literaturverzeichnis

1. Pugh, C.A., et al., *Incidence rates and risk factor analyses for owner reported vomiting and diarrhoea in Labrador Retrievers - findings from the Dogslife Cohort*. *Prev Vet Med*, 2017. **140**: p. 19-29.
2. Hubbard, K., et al., *Risk of vomiting and diarrhoea in dogs*. *Vet Rec*, 2007. **161**(22): p. 755-7.
3. Candellone, A., et al., *Acute Diarrhea in Dogs: Current Management and Potential Role of Dietary Polyphenols Supplementation*. *Antioxidants (Basel)*, 2020. **9**(8).
4. Tello, L. and R. Perez-Freytes, *Fluid and Electrolyte Therapy During Vomiting and Diarrhea*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2017. **47**(2): p. 505-519.
5. Saevik, B.K., E.M. Skancke, and C. Trangerud, *A longitudinal study on diarrhoea and vomiting in young dogs of four large breeds*. *Acta Vet Scand*, 2012. **54**: p. 8.
6. Shmalberg, J., et al., *A Randomized Double Blinded Placebo-Controlled Clinical Trial of a Probiotic or Metronidazole for Acute Canine Diarrhea*. *Front Vet Sci*, 2019. **6**: p. 163.
7. Werner, M., et al., *Effect of amoxicillin-clavulanic acid on clinical scores, intestinal microbiome, and amoxicillin-resistant Escherichia coli in dogs with uncomplicated acute diarrhea*. *J Vet Intern Med*, 2020. **34**(3): p. 1166-1176.
8. Langlois, D.K., A.M. Koenigshof, and R. Mani, *Metronidazole treatment of acute diarrhea in dogs: A randomized double blinded placebo-controlled clinical trial*. *J Vet Intern Med*, 2020. **34**(1): p. 98-104.
9. Pignataro, G., et al., *Comparison of the Therapeutic Effect of Treatment with Antibiotics or Nutraceuticals on Clinical Activity and the Fecal Microbiome of Dogs with Acute Diarrhea*. *Animals (Basel)*, 2021. **11**(6).
10. Stavisky, J., et al., *A case-control study of pathogen and lifestyle risk factors for diarrhoea in dogs*. *Prev Vet Med*, 2011. **99**(2-4): p. 185-92.
11. Gomez-Gallego, C., et al., *A canine-specific probiotic product in treating acute or intermittent diarrhea in dogs: A double-blind placebo-controlled efficacy study*. *Vet Microbiol*, 2016. **197**: p. 122-128.
12. Neumann, S., L. Steingraber, and L. Herold, *Investigation of procalcitonin and beta-defensin2 in the serum and feces of dogs with acute diarrhea*. *Vet Clin Pathol*, 2022. **50 Suppl 1**: p. 55-62.
13. Aslam, B., et al., *Antibiotic Resistance: One Health One World Outlook*. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021. **11**: p. 771510.
14. Scahill, K., et al., *Efficacy of antimicrobial and nutraceutical treatment for canine acute diarrhoea: A systematic review and meta-analysis for European Network for Optimization of Antimicrobial Therapy (ENOVAT) guidelines*. *Vet J*, 2023. **303**: p. 106054.
15. Singleton, D.A., et al., *Pharmaceutical Prescription in Canine Acute Diarrhoea: A Longitudinal Electronic Health Record Analysis of First Opinion Veterinary Practices*. *Front Vet Sci*, 2019. **6**: p. 218.
16. (BLV), V.-F.u.d.S.i.Z.m.d.G.S.T.u.T.G.u.K.d.B.f.L.u.V., *Umsichtiger Einsatz von Antibiotika bei Hunden und Katzen; Therapieleitfaden für Tierärztinnen und Tierärzte*. 2023.

17. Francillon, W.B., et al., *Clinician prescribing practices for managing canine idiopathic acute diarrhea are not evidence based.* J Am Vet Med Assoc, 2023: p. 1-9.
18. Leipzig-Rudolph, M., et al., *Intestinal lesions in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome associated with netF-positive Clostridium perfringens type A.* J Vet Diagn Invest, 2018. **30**(4): p. 495-503.
19. Sindern, N., et al., *Prevalence of Clostridium perfringens netE and netF toxin genes in the feces of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome.* J Vet Intern Med, 2019. **33**(1): p. 100-105.
20. Ziese, A.L., et al., *Effect of probiotic treatment on the clinical course, intestinal microbiome, and toxigenic Clostridium perfringens in dogs with acute hemorrhagic diarrhea.* PLoS One, 2018. **13**(9): p. e0204691.
21. Unterer, S., et al., *Treatment of aseptic dogs with hemorrhagic gastroenteritis with amoxicillin/clavulanic acid: a prospective blinded study.* J Vet Intern Med, 2011. **25**(5): p. 973-9.
22. Minamoto, Y., et al., *Prevalence of Clostridium perfringens, Clostridium perfringens enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea.* Vet Microbiol, 2014. **174**(3-4): p. 463-473.
23. Moon, B.Y., et al., *Antimicrobial Resistance in Escherichia coli Isolated from Healthy Dogs and Cats in South Korea, 2020-2022.* Antibiotics (Basel), 2023. **13**(1).
24. Pilla, R., et al., *Effects of metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs.* J Vet Intern Med, 2020. **34**(5): p. 1853-1866.
25. Tauro, A., et al., *Metronidazole-induced neurotoxicity in 26 dogs.* Aust Vet J, 2018. **96**(12): p. 495-501.
26. FAO/WHO, *Probiotics in food, Health an nutritional properties and guidelines for evaluation.* 2006: World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
27. Kwoji, I.D., et al., *Multi-Strain Probiotics: Synergy among Isolates Enhances Biological Activities.* Biology (Basel), 2021. **10**(4).
28. Zawistowska-Rojek, A. and S. Tyski, *Are Probiotic Really Safe for Humans?* Pol J Microbiol, 2018. **67**(3): p. 251-258.
29. D'Angelo, S., et al., *Effect of Saccharomyces boulardii in dog with chronic enteropathies: double-blinded, placebo-controlled study.* Vet Rec, 2018. **182**(9): p. 258.
30. Reagan, K.L., L.J. Wheat, and J.E. Sykes, *Effect of an oral probiotic nutraceutical containing Aspergillus-derived ingredients on a serum and urine galactomannan antigen assay in dogs.* Vet J, 2020. **265**: p. 105551.
31. Bastos, T.S., et al., *Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis reduce faecal protein catabolites concentration and odour in dogs.* BMC Vet Res, 2020. **16**(1): p. 116.
32. Khalid, A., et al., *Effect of Spore-Forming Probiotics on the Poultry Production: A Review.* Food Sci Anim Resour, 2022. **42**(6): p. 968-980.
33. Bajagai, Y.S., *Probiotics in animal nutrition - Production, impact and regulation*, ed. H.P. S. Vol. 179. 2016: Food and Agriculture Organisation of the United Nations.

34. Li, H.Y., et al., *Effects and Mechanisms of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics on Metabolic Diseases Targeting Gut Microbiota: A Narrative Review*. *Nutrients*, 2021. **13**(9).
35. Nguyen, T.T., et al., *Synbiotics: a New Route of Self-production and Applications to Human and Animal Health*. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2022.
36. Gibson, G.R., et al., *Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics*. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017. **14**(8): p. 491-502.
37. Roberfroid, M., et al., *Prebiotic effects: metabolic and health benefits*. *Br J Nutr*, 2010. **104 Suppl 2**: p. S1-63.
38. Vinderola, G., M.E. Sanders, and S. Salminen, *The Concept of Postbiotics*. *Foods*, 2022. **11**(8).
39. Salminen, S., et al., *Publisher Correction: The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics*. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021. **18**(9): p. 671.
40. Zolkiewicz, J., et al., *Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics*. *Nutrients*, 2020. **12**(8).
41. Suez, J., et al., *The pros, cons, and many unknowns of probiotics*. *Nat Med*, 2019. **25**(5): p. 716-729.
42. Wilkins, T. and J. Sequoia, *Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence*. *Am Fam Physician*, 2017. **96**(3): p. 170-178.
43. Guarino, A., et al., *Universal Recommendations for the Management of Acute Diarrhea in Nonmalnourished Children*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2018. **67**(5): p. 586-593.
44. Hwang, S.Y., *Neutrophil to lymphocyteratio as aprognostic biomarker in puppies with acute diarrhea* *J Vet Emerg Crit Care*, 2021. **32**: p. 83-89.
45. Ellis, C., A. Odunayo, and M.K. Tolbert, *The use of metronidazole in acute diarrhea in dogs: a narrative review*. *Top Companion Anim Med*, 2023. **56-57**: p. 100824.
46. Rose, L., et al., *Efficacy of a Probiotic-Prebiotic Supplement on Incidence of Diarrhea in a Dog Shelter: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial*. *J Vet Intern Med*, 2017. **31**(2): p. 377-382.
47. Herstad, H.K., et al., *Effects of a probiotic intervention in acute canine gastroenteritis--a controlled clinical trial*. *J Small Anim Pract*, 2010. **51**(1): p. 34-8.
48. Kelley, R.L., et al., *Clinical benefits of probiotic canine-derived Bifidobacterium animalis strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea*. *Vet Ther*, 2009. **10**(3): p. 121-30.
49. Nixon, S.L., L. Rose, and A.T. Muller, *Efficacy of an orally administered anti-diarrheal probiotic paste (Pro-Kolin Advanced) in dogs with acute diarrhea: A randomized, placebo-controlled, double-blinded clinical study*. *J Vet Intern Med*, 2019. **33**(3): p. 1286-1294.
50. Bybee, S.N., A.V. Scorza, and M.R. Lappin, *Effect of the probiotic Enterococcus faecium SF68 on presence of diarrhea in cats and dogs housed in an animal shelter*. *J Vet Intern Med*, 2011. **25**(4): p. 856-60.

51. Jörg M. Steiner, R.M.H., Jan S. Suchodolski, Nora Berghoff, Viktoria M. Schwierk *Gastroenterologie bei Hund und Katze*. 2011: Schlütersche Verlagsgesellschaft GmbH & Co. KG
52. Mazzaferro, E.M., *Update on Canine Parvoviral Enteritis*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2020. **50**(6): p. 1307-1325.
53. Arslan, H.H., *Therapeutic effects of probiotic bacteria in parvoviral enteritis in dogs*. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2012. **163** (2): p. 55-59.
54. Tello, L.H. and M.A. Pardo, *Fluid and Electrolyte Therapy During Vomiting and Diarrhea*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2022. **52**(3): p. 673-688.
55. Alves, J. and A. Santos, *Prevalence of Giardia spp. in young dogs using a combination of two diagnostic methods*. *Acta Parasitol*, 2016. **61**(2): p. 261-6.
56. Ciuca, L., et al., *Effectiveness of Fenbendazole and Metronidazole Against Giardia Infection in Dogs Monitored for 50-Days in Home-Conditions*. *Front Vet Sci*, 2021. **8**: p. 626424.
57. Mehlhorn, H., et al., *Synergistic effects of pyrantel and the febantel metabolite fenbendazole on adult Toxocara canis*. *Parasitol Res*, 2003. **90 Suppl 3**: p. S151-3.
58. Simpson, K.W., et al., *Influence of Enterococcus faecium SF68 probiotic on giardiasis in dogs*. *J Vet Intern Med*, 2009. **23**(3): p. 476-81.
59. Fenimore, A., L. Martin, and M.R. Lappin, *Evaluation of Metronidazole With and Without Enterococcus Faecium SF68 in Shelter Dogs With Diarrhea*. *Top Companion Anim Med*, 2017. **32**(3): p. 100-103.
60. Coelho, M.D., F.A. Coelho, and I.M. de Mancilha, *Probiotic therapy: a promising strategy for the control of canine hookworm*. *J Parasitol Res*, 2013. **2013**: p. 430413.
61. Whittemore, J.C., T.D. Moyers, and J.M. Price, *Randomized, controlled, crossover trial of prevention of antibiotic-induced gastrointestinal signs using a synbiotic mixture in healthy research dogs*. *J Vet Intern Med*, 2019. **33**(4): p. 1619-1626.
62. Lucchetti, B., et al., *Effects of a perioperative antibiotic and veterinary probiotic on fecal dysbiosis index in dogs*. *Can Vet J*, 2021. **62**(3): p. 240-246.
63. Whittemore, J.C., et al., *Effects of Synbiotics on the Fecal Microbiome and Metabolomic Profiles of Healthy Research Dogs Administered Antibiotics: A Randomized, Controlled Trial*. *Front Vet Sci*, 2021. **8**: p. 665713.
64. MUSTAFA SINAN AKTAS, M.K.B., YUNUSEMRE OZKANLAR, *Efficacy of Saccharomyces boulardii as a probiotic in dogs with Lincomycin induced diarrhoea*. *Bull Vet Inst Pulawy*, 2007. **51**: p. 365-369.
65. Dandrieux, J.R., *Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same?* *J Small Anim Pract*, 2016. **57**(11): p. 589-599.
66. Walker, H.K., et al., *Serum metabolomic profiles in dogs with chronic enteropathy*. *J Vet Intern Med*, 2022. **36**(5): p. 1752-1759.
67. Allenspach, K., C. Culverwell, and D. Chan, *Long-term outcome in dogs with chronic enteropathies: 203 cases*. *Vet Rec*, 2016. **178**(15): p. 368.
68. Hall, E.J., *Antibiotic-responsive diarrhea in small animals*. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2011. **41**(2): p. 273-86.
69. Allenspach, K., et al., *Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with steroid-refractory inflammatory bowel disease*. *J Vet Intern Med*, 2006. **20**(2): p. 239-44.

70. Allenspach, K., et al., *Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome*. J Vet Intern Med, 2007. **21**(4): p. 700-8.
71. Pilla, R. and J.S. Suchodolski, *The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease*. Front Vet Sci, 2019. **6**: p. 498.
72. Suchodolski, J.S., *Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats*. Vet J, 2016. **215**: p. 30-7.
73. Mandigers, P.J., et al., *A randomized, open-label, positively-controlled field trial of a hydrolyzed protein diet in dogs with chronic small bowel enteropathy*. J Vet Intern Med, 2010. **24**(6): p. 1350-7.
74. Simpson, K.W. and A.E. Jergens, *Pitfalls and progress in the diagnosis and management of canine inflammatory bowel disease*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2011. **41**(2): p. 381-98.
75. Schmitz, S., et al., *A prospective, randomized, blinded, placebo-controlled pilot study on the effect of Enterococcus faecium on clinical activity and intestinal gene expression in canine food-responsive chronic enteropathy*. J Vet Intern Med, 2015. **29**(2): p. 533-43.
76. Schmitz, S., et al., *Stimulation of duodenal biopsies and whole blood from dogs with food-responsive chronic enteropathy and healthy dogs with Toll-like receptor ligands and probiotic Enterococcus faecium*. Scand J Immunol, 2014. **80**(2): p. 85-94.
77. Sauter, S.N., et al., *Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet*. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2006. **90**(7-8): p. 269-77.
78. Pascher, M., et al., *Effects of a probiotic Lactobacillus acidophilus strain on feed tolerance in dogs with non-specific dietary sensitivity*. Arch Anim Nutr, 2008. **62**(2): p. 107-16.
79. Bottero, E., et al., *Clinical evaluation and microbiota analysis in 9 dogs with antibiotic-responsive enteropathy: A prospective comparison study*. J Vet Intern Med, 2022. **36**(4): p. 1220-1228.
80. Cerquetella, M., et al., *Proposal for rational antibacterial use in the diagnosis and treatment of dogs with chronic diarrhoea*. J Small Anim Pract, 2020. **61**(4): p. 211-215.
81. Westermarck, E., et al., *Tylosin-responsive chronic diarrhea in dogs*. J Vet Intern Med, 2005. **19**(2): p. 177-86.
82. Kleinschmidt, S., et al., *Characterization of mast cell numbers and subtypes in biopsies from the gastrointestinal tract of dogs with lymphocytic-plasmacytic or eosinophilic gastroenterocolitis*. Vet Immunol Immunopathol, 2007. **120**(3-4): p. 80-92.
83. Schreiner, N.M., et al., *Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies*. J Vet Intern Med, 2008. **22**(5): p. 1079-83.
84. Rossi, G., et al., *Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease*. PLoS One, 2014. **9**(4): p. e94699.

85. White, R., et al., *Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease*. Gut Microbes, 2017. **8**(5): p. 451-466.
86. D'Angelo, S., *Effect of Saccharomyces boulardii in dogs with chronic enteropathies: double-blinded, placebo-controlled study*. Vet Rec, 2018. **182** (9): p. 258-258.
87. Russ, K., *Effects of varying doses of a probiotic supplement fed to healthy dogs undergoing kenneling stress*. Int J Appl Res Vet Med, 2012. **10**, No. **3**: p. 205-2016.
88. Bastos, T.S., et al., *Effect of Yeast Saccharomyces cerevisiae as a Probiotic on Diet Digestibility, Fermentative Metabolites, and Composition and Functional Potential of the Fecal Microbiota of Dogs Submitted to an Abrupt Dietary Change*. Microorganisms, 2023. **11**(2).
89. Rachel Pilla, B.C.G., Joerg M. Steiner, Frederic P. Gaschen, Erin Olsen, Dirk Werling, Karin Allenspach, Silke Slavati Schmitz, Jan S. Suchodolski, *Administration of a Synbiotic Containing Enterococcus faecium Does Not Significantly Alter Fecal Microbiota Richness or Diversity in Dogs With and Without Food-Responsive Chronic Enteropathy*. Front Vet Sci, 2019. **6**.
90. German, A.J., L.J. Halladay, and P.J. Noble, *First-choice therapy for dogs presenting with diarrhoea in clinical practice*. Vet Rec, 2010. **167**(21): p. 810-4.
91. Alauzet, C., A. Lozniewski, and H. Marchandin, *Metronidazole resistance and nim genes in anaerobes: A review*. Anaerobe, 2019. **55**: p. 40-53.
92. Hernandez Ceruelos, A., et al., *Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update*. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019. **23**(1): p. 397-401.
93. Steagall, P.V., et al., *The 2023 World Small Animal Veterinary Association (WSAVA): List of essential medicines for cats and dogs*. J Small Anim Pract, 2023. **64**(12): p. 731-748.
94. Chaitman, J., et al., *Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole*. Front Vet Sci, 2020. **7**: p. 192.
95. Boekhoud, I.M., et al., *Plasmid-mediated metronidazole resistance in Clostridioides difficile*. Nat Commun, 2020. **11**(1): p. 598.
96. Weingarden, A.R., et al., *Changes in Colonic Bile Acid Composition following Fecal Microbiota Transplantation Are Sufficient to Control Clostridium difficile Germination and Growth*. PLoS One, 2016. **11**(1): p. e0147210.
97. Blake, A.B., et al., *Developmental stages in microbiota, bile acids, and clostridial species in healthy puppies*. J Vet Intern Med, 2020. **34**(6): p. 2345-2356.
98. Rioux, K.P., K.L. Madsen, and R.N. Fedorak, *The role of enteric microflora in inflammatory bowel disease: human and animal studies with probiotics and prebiotics*. Gastroenterol Clin North Am, 2005. **34**(3): p. 465-82, ix.
99. Bengmark, S., *Bioecologic control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented probiotics and synbiotics*. Gastroenterol Clin North Am, 2005. **34**(3): p. 413-36, viii.
100. Mortier, F., et al., *Acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs: 108 cases*. Vet Rec, 2015. **176**(24): p. 627.

101. AlShawaqfeh, M.K., et al., *A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy*. FEMS Microbiol Ecol, 2017. **93**(11).
102. Sung, C.H., et al., *Correlation between Targeted qPCR Assays and Untargeted DNA Shotgun Metagenomic Sequencing for Assessing the Fecal Microbiota in Dogs*. Animals (Basel), 2023. **13**(16).
103. Li, Q., et al., *Gut Dysbiosis and Its Associations with Gut Microbiota-Derived Metabolites in Dogs with Myxomatous Mitral Valve Disease*. mSystems, 2021. **6**(2).
104. Suchodolski, J.S., et al., *The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease*. PLoS One, 2012. **7**(12): p. e51907.
105. Werner, M., et al., *Prevalence of Clostridioides difficile in Canine Feces and Its Association with Intestinal Dysbiosis*. Animals (Basel), 2023. **13**(15).
106. Gronvold, A.M., et al., *Changes in fecal microbiota of healthy dogs administered amoxicillin*. FEMS Microbiol Ecol, 2010. **71**(2): p. 313-26.
107. Manchester, A.C., et al., *Long-term impact of tylosin on fecal microbiota and fecal bile acids of healthy dogs*. J Vet Intern Med, 2019. **33**(6): p. 2605-2617.
108. Igarashi, H., et al., *Effect of oral administration of metronidazole or prednisolone on fecal microbiota in dogs*. PLoS One, 2014. **9**(9): p. e107909.
109. Marques, C., et al., *Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study*. J Antimicrob Chemother, 2018. **73**(2): p. 377-384.
110. Jones, P.H., et al., *Surveillance of diarrhoea in small animal practice through the Small Animal Veterinary Surveillance Network (SAVSNET)*. Vet J, 2014. **201**(3): p. 412-8.
111. Singleton, D.A., et al., *Factors Associated with Prescription of Antimicrobial Drugs for Dogs and Cats, United Kingdom, 2014-2016*. Emerg Infect Dis, 2020. **26**(8): p. 1778-1791.
112. Lutz, B., et al., *Antimicrobial prescriptions and adherence to prudent use guidelines for selected canine diseases in Switzerland in 2016*. Vet Rec Open, 2020. **7**(1): p. e000370.
113. Suchodolski, J.S., *Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats*. J Anim Sci, 2011. **89**(5): p. 1520-30.
114. Lindner, M., D.I. Radke, and G. Elke, *[Bacterial gut microbiota-key player in sepsis]*. Med Klin Intensivmed Notfmed, 2023. **118**(2): p. 107-113.
115. Minamoto, Y., et al., *Fecal short-chain fatty acid concentrations and dysbiosis in dogs with chronic enteropathy*. J Vet Intern Med, 2019. **33**(4): p. 1608-1618.
116. Blake, A.B., et al., *Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease*. PLoS One, 2019. **14**(10): p. e0224454.
117. Marks, S.L. and E.J. Kather, *Bacterial-associated diarrhea in the dog: a critical appraisal*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2003. **33**(5): p. 1029-60.
118. Marks, S.L., et al., *Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control*. J Vet Intern Med, 2011. **25**(6): p. 1195-208.

119. Mansfield, C.S., et al., *Remission of histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs correlates with eradication of invasive intramucosal Escherichia coli*. J Vet Intern Med, 2009. **23**(5): p. 964-9.
120. Hostutler, R.A., et al., *Antibiotic-responsive histiocytic ulcerative colitis in 9 dogs*. J Vet Intern Med, 2004. **18**(4): p. 499-504.
121. Chon, J.W., et al., *Prevalence, toxin gene profile, antibiotic resistance, and molecular characterization of Clostridium perfringens from diarrheic and non-diarrheic dogs in Korea*. J Vet Sci, 2018. **19**(3): p. 368-374.
122. Schmitz, S.S., *Value of Probiotics in Canine and Feline Gastroenterology*. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 2021. **51**(1): p. 171-217.
123. Yang, Q. and Z. Wu, *Gut Probiotics and Health of Dogs and Cats: Benefits, Applications, and Underlying Mechanisms*. Microorganisms, 2023. **11**(10).
124. Perrucci, S., et al., *In vitro and ex vivo evaluation of the anti-Giardia duodenalis activity of the supernatant of Slab51 (SivoMixx)*. PLoS One, 2019. **14**(3): p. e0213385.
125. Grill, M.F. and R.K. Maganti, *Neurotoxic effects associated with antibiotic use: management considerations*. Br J Clin Pharmacol, 2011. **72**(3): p. 381-93.
126. Wetterwik, K.J., et al., *Clostridium difficile in faeces from healthy dogs and dogs with diarrhea*. Acta Vet Scand, 2013. **55**(1): p. 23.

Danksagung

Mein größter Dank geht gleichermaßen an Herrn Dr. Stefan Unterer, Frau Dr. Kathrin Busch-Hahn und Herrn Dr. Jan Suchodolski. Mit Begeisterung für die Gastroenterologie bei Hund und Katze arbeitet dieses Team aus Wissenschaftlern seit Jahren zusammen und schenkt der Tiermedizin regelmäßig neue, spannende und wichtige Erkenntnisse. Ich kann mich sehr glücklich schätzen, dass ich dieses Team aus Deutschland, der Schweiz und Texas über einige Zeit begleiten durfte. Ihr habt es ermöglicht, dass diese Doktorarbeit entstanden ist, ich bei großartigen Kongressen von den gewonnenen Daten erzählen und im Rahmen der klinischen Tätigkeit meine ersten Schritte als Tierärztin machen durfte.

Lieber Stefan, vielen Dank für deine unermüdliche Unterstützung und dein Vertrauen in die Doktorarbeit. Ein besonderer Dank gilt auch deiner Förderung hinsichtlich meines beruflichen Weges neben der Doktorarbeit – ich werde meine erste Stunde als frischgebackene Tierärztin neben dir in der Gastroenterologie-Sprechstunde vermutlich nie vergessen!

Liebe Kathy, vielen Dank für deine unzerstörbare Begeisterung für die Gastroenterologie. Ich denke deine Motivation war mitentscheidend, dass diese Doktorarbeit geschrieben wurde. Und danke für dein Vertrauen in mich als Tierärztin – es ist besonders, wie du Tierarzt-Anfängern vertraust und sie dadurch über sich hinauswachsen!

Lieber Jan, vielen Dank für deine großartige Hilfe von Texas aus zu uns nach München. Durch deine Unterstützung habe ich einen kleinen Einblick in die große Welt des intestinalen Mikrobioms bekommen. Ein besonderer Dank gilt deinem großen Support über die Doktorarbeit hinaus – ein einmaliges und unvergessliches Erlebnis war der Gutsea-Kongress in Costa Rica!

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Prof. Katrin Hartmann. Ich bedanke mich für die Unterstützung bei der inkludierten Studie und bei der Bereitstellung einer Umgebung, die die Anfertigung dieser Dissertation möglich machte.

Ein besonderer Dank gilt meiner Kollegin Andrea Reisinger. Wir haben die Studien unsere Doktorarbeiten zusammen organisiert, vor Präsentationen zusammen vor Aufregung geschwitzt und um den Verlust der Kotproben auf dem Weg nach Texas gebangt. Danke für dich als meine liebste Doktorandin-Kollegin und Freundin!

Ebenso möchte ich den MitarbeiterInnen der Medizinischen Kleintierklinik für die Hilfe bei der Patientenrekrutierung danken.

Dankbar bin ich auch all meinen Freunden, die immer wieder auf Zeit mit mir verzichten und meine Sorgen rund um die Doktorarbeit mit Rat unterstützt haben.

Außerdem danke meiner Familie für ihre Geduld. Ich danke euch, dass ihr fest daran geglaubt habt, dass ich nach all der Zeit die Doktorarbeit abgeben werde. Vielen Dank Mama, dass du die Merle während meiner Reisen zu den Kongressen liebevoll betreut hast. Ohne meine Familie wäre ich heute keine Tierärztin und schon gleich keine Dr. med. vet.!